

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE PLANEJAMENTO ALIMENTAR E NUTRIÇÃO

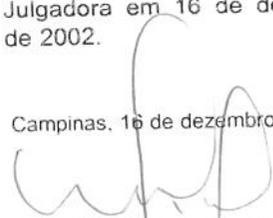
**DERIVADOS DE LEVEDURA DE DESTILARIA: OBTENÇÃO,
PROPRIEDADES FUNCIONAIS, NUTRICIONAIS E APLICAÇÃO EM
PRODUTO CÁRNEO EMULSIONADO**

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Eunice Akemi Yamada**, aprovada pela Comissão Julgadora em 16 de dezembro de 2002.

Eunice Akemi Yamada
Farmacêutico-Bioquímico

Campinas, 16 de dezembro de 2002.

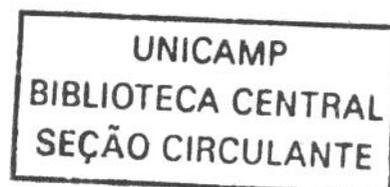


Prof. Dr. Valdemiro Carlos Sgarbieri
Presidente da Banca

Orientador: Prof. Dr. Valdemiro Carlos Sgarbieri

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Doutor em Alimentos e Nutrição

Campinas, 2002



UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	J UNICAMP
	Y14d
V	EX
TOMBO BC/	52185
PROC.	124103
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	13/02/03
Nº CPD	

CM00180091-2

BIBID. 283774

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

Y14d

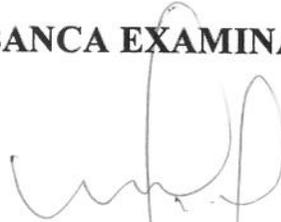
Yamada, Eunice Akemi

Derivados de levedura de destilaria: obtenção, propriedades funcionais, nutricionais e aplicação em produto cárneo emulsionado / Eunice Akemi Yamada.- Campinas, SP: [s.n.], 2002.

Orientador: Valdemiro Carlos Sgarbieri
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Levedos – Produtos. 2.Valor nutritivo. 3.Salsichas.
I.Sgarbieri, Valdemiro Carlos. II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

BANCA EXAMINADORA



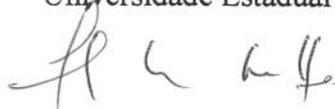
Prof. Dr. Valdemiro Carlos Sgarbieri – (Presidente)
Universidade Estadual de Campinas



Drª. Ana Lúcia da Silva Corrêa Lemos
Instituto de Tecnologia de Alimentos



Prof. Dr. Carlos Ferreira Grosso
Universidade Estadual de Campinas



Profª. Dra. Flávia Maria Netto
Universidade Estadual de Campinas

Dr. Flávio Luis Schmidt
Instituto de Tecnologia de Alimentos

Prof. Dr. Pedro Eduardo de Felício
Universidade Estadual de Campinas



Drª. Vera Lúcia Signoreli Baldini
Instituto de Tecnologia de Alimentos

200304745

Ao

Áureo e Daniel

Agradecimentos

Ao Professor Dr. Valdemiro Carlos Sgarbieri pela orientação segura e dedicada.

Ao Programa de pós-graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP.

Ao Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Carnes – CTC, do Instituto de Tecnologia de Alimentos por conceder-me o afastamento das suas atividades, possibilitando a dedicação integral ao desenvolvimento deste trabalho de tese.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro por meio do projeto nº 98/4173-5, coordenado pelo Prof. Dr. Valdemiro Carlos Sgarbieri.

À Cooperativa dos Produtores de Açúcar e Alcool (Copersucar) pelo apoio financeiro por meio do projeto de Inovação Tecnológica Ital/Fapesp/Copersucar.

Aos Centro de P& D de Química de Alimentos e Nutrição Aplicada - QUÍMICA, Centro de P & D de Hortifrutícolas –FRUTHOTEC e Centro de P & D de Carnes -CTC do ITAL onde foram desenvolvidas partes dos experimentos deste projeto.

Aos membros da Banca Examinadora pelas contribuições e sugestões a esta tese.

Aos pesquisadores Vera Lúcia S. Baldini e Flávio Luis Schmidt pela amizade e apoio.

À Izabela, Marjorie, Luzimara, Denise, Léo e Saula, integrantes do projeto levedura, pela amizade e companheirismo.

A Tereza, Ercília, Beth Gomes, Sandra, Renato, Sr. Artur, Carlos Arruda, Sebastião, Plínio, Sr. João, Giovani, Márcia Mayumi, Juliano, Kátia, Luciana e Maristela pela colaboração na execução dos experimentos.

A todos que de alguma forma contribuíram, direta ou indiretamente, para que este trabalho se efetivasse,

muito obrigada!

SUMÁRIO

ÍNDICE DE TABELAS	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS	xvii
RESUMO GERAL	xix
GENERAL SUMMARY	xxiii
CAPÍTULO 1	1
1.1.Introdução geral	2
1.2.Revisão Bibliográfica.....	5
1.2.1.Composição química da levedura	5
1.2.2.Valor nutricional da proteína da levedura	7
1.2.3.Limitações de uso da proteína de levedura.....	8
1.2.3.1.Presença de parede celular.....	8
1.2.3.2.Presença de ácidos nucleicos.....	9
1.2.4.Obtenção de derivados de levedura	11
1.2.4.1.Autolisado de levedura.....	12
1.2.4.2.Extrato de levedura.....	14
1.2.4.3.Extração e concentração da proteína de levedura.....	14
1.2.5.Propriedades funcionais tecnológicas	18
1. 2.5.1.Solubilidade.....	20
1.2.5.2.Capacidade de retenção de água (CRA).....	21
1.2.5.3.Adsorção de água.....	22
1.2.5.4.Viscosidade.....	22
1.2.5.5.Propriedades emulsificantes.....	23
1.2.6.Aplicação da proteína da levedura em produtos cárneos	25

Referências bibliográficas	27
CAPÍTULO 2	
PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, DE ÁCIDOS GRAXOS E DE MINERAIS DE DERIVADOS DE LEVEDURA (<i>Saccharomyces sp.</i>) PROVENIENTES DE DESTILARIA DE ÁLCOOL.....	37
2.1.Introdução	38
2.2.Material e métodos	41
2.2.1.Processo de lavagem da biomassa de levedura.....	41
2.2.2.Autólise da levedura íntegra e fracionamento do autolisado.....	43
2.2.3.Rompimento celular em moinho Dyno Mill.....	43
2.2.4.Concentrado protéico fosforilado (CPF) de levedura	45
2.2.5.Concentrado protéico tratado termicamente (CPT) de levedura.....	45
2.2.6.Metodologia analítica.....	49
2.3.Resultados e discussão	50
2.3.1.Produção dos derivados de levedura.....	50
2.3.2.Grau de fosforilação do concentrado protéico de levedura.....	55
2.3.2.Composição centesimal da levedura íntegra e de seus derivados.....	56
2.4.Conclusões	61
Referências bibliográficas.....	61
CAPÍTULO 3	
COMPOSIÇÃO EM AMINOÁCIDOS E VALOR NUTRITIVO DA PROTEÍNA DOS DERIVADOS DE LEVEDURA (<i>Saccharomyces sp.</i>)DE DESTILARIA DE ÁLCOOL	67
3.1.Introdução	68
3.2.Material e métodos	69
3.2.1.Procedência.....	69

3.2.2.Métodos de obtenção de derivados de levedura.....	69
3.2.3.Métodos analíticos.....	70
3.3.Resultados e discussão	72
3.3.1.Perfil de aminoácidos essenciais e escore químico.....	72
3.3.2.Digestibilidade verdadeira da proteína e PDCAAS.....	74
3.3.3.Consumo de dieta, variação de peso corporal, PER e NPR.....	74
3.4.Conclusões	78
Referências bibliográficas	78
CAPÍTULO 4	
PROPRIEDADES FUNCIONAIS TECNOLÓGICAS DE DERIVADOS DE	81
LEVEDURA (<i>Saccharomyces sp.</i>) DE DESTILARIA DE ÁLCOOL	81
4.1.Introdução	83
4.2.Material.....	83
4.3.Métodos.....	83
4.3.1.Viscosidade.....	84
4.3.2.Capacidade de retenção de água (CRA).....	84
4.3.3.Isotermas de adsorção de água.....	84
4.3.4.Solubilidade.....	85
4.3.5.Capacidade de emulsificação.....	87
4.3.6.Estabilidade de emulsão.....	87
4.3.7.Emulsões mistas de carne e derivados de levedura ou de soja.....	88
4.4.Resultados e discussão	88
4.4.1.Viscosidade.....	88
4.4.2.Capacidade de retenção de água.....	89
4.4.3.Isotermas de adsorção de água.....	90

4.4.4.Solubilidade.....	91
4.4.5.Capacidade de emulsificação e estabilidade de emulsão.....	93
4.4.6.Emulsões mistas de carne e derivados de levedura ou de soja.....	94
4.5.Conclusões	95
Referências bibliográficas	96
CAPÍTULO 5	
UTILIZAÇÃO DE AUTOLISADO, EXTRATO E CONCENTRADO	
PROTÉICO FOSFORILADO DE LEVEDURA (<i>Saccharomyces sp.</i>) DE	99
DESTILARIA DE ÁLCOOL	
5.1.Introdução	101
5.2.Material e métodos	102
5.2.1.Formulação das salsichas.....	102
5.2.2.Processamento das salsichas.....	105
5.2.3.Avaliação química e física das salsichas.....	106
5.2.4.Avaliação sensorial das salsichas.....	107
5.3.Resultados e discussão	114
5.3.1.Ensaio A – Substituição de carne por PTS, AUT e EXT de levedura.....	114
5.3.2.Ensaio B – Substituição de 1,5% de proteína de carne por PTS, de AUT, de EXT ou de concentrado protéico fosforilado (CPF) de levedura.....	117
5.2.3.Ensaio C – Substituição de proteína cárnea pelas proteínas de EXT ou de PTS.....	123
5.4.Conclusões	128
Referências bibliográficas	129
CAPÍTULO 6	131
CONCLUSÃO GERAL	

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1.1.	Composição centesimal aproximada de derivados de levedura de cerveja (base seca)	05
Tabela 1.2	Composição em aminoácidos essenciais de derivados de levedura de cervejaria	06

CAPÍTULO 2

Tabela 2.1	Recuperação de N na forma de concentrado protéico fosforilado com base no N total na suspensão de células rompidas e N solúvel no sobrenadante e RNA do produto final	53
Tabela 2.2	Composição centesimal (em base seca) da levedura íntegra (LI) e de seus derivados: autolisado (AUT), extrato (EXT) e concentrado protéico fosforilado (CPF)	57
Tabela 2.3	Composição mineral dos derivados de levedura	58
Tabela 2.4	Composição em ácidos graxos da levedura íntegra (LI), autolisado (AUT) e concentrado protéico fosforilado (CPF)	60

CAPÍTULO 3

Tabela 3.1	Adequação de aminoácidos essenciais, com base no perfil recomendado pela FAO/WHO	73
Tabela 3.2	Digestibilidade verdadeira (Dv) e PDCAAS da proteína das células de levedura íntegra (LI) e dos derivados de levedura (AUT, EXT, CPF)	74
Tabela 3.3	Consumo de dietas, ingestão de proteína e variação de peso em ratos submetidos aos tratamentos com caseína (padrão) e derivados de levedura, em 8 ratos por tratamento, com duração de 21 dias	75

CAPÍTULO 4

Tabela 4.1	Viscosidade ($\text{cp} \times 10^{-2}$) dos derivados de levedura e de soja	89
------------	--	----

Tabela 4.2	Capacidade de retenção de água (g de água/g de proteína) dos derivados de levedura, autolisado (AUT), concentrado protéico fosforilado (CPF) e de soja, proteína texturizada (PTS) e isolado protéico (IPS), em 3 valores de pH	89
Tabela 4.3	Solubilidade de derivados de levedura em água a 25°C e em 4 valores de pH	92
Tabela 4.4	Capacidade de emulsificação e estabilidade de emulsão do concentrado protéico de levedura fosforilado (CPF) e isolado protéico de soja (IPS)	94
Tabela 4.5	Capacidade emulsificante da proteína de derivados de levedura e da soja em substituição à proteína da carne, expressa em mL óleo/g proteína	95
CAPÍTULO 5		
Tabela 5.1	Formulação das salsichas com proteína texturizada de soja, autolisado e extrato de levedura (Ensaio A).....	103
Tabela 5.2	Formulação das salsichas com substituição de 1,5% da proteína cárnica por proteína de extrato, autolisado, concentrado protéico fosforilado de levedura e de proteína texturizada de soja (Ensaio B).....	104
Tabela 5.3	Formulação das salsichas com substituição da proteína da carne por proteína de extrato de levedura e de proteína texturizada de soja (Ensaio C).....	105
Tabela 5.4	Composição centesimal de salsichas preparadas com proteína texturizada de soja e derivados de levedura	114
Tabela 5.5	Avaliação das propriedades físico-mecânicas em salsichas preparadas com proteína texturizada de soja ou derivados de levedura	115
Tabela 5.6	Resultados do teste de aceitação pelo consumidor, de salsichas produzidas com proteína texturizada de soja, autolisado ou extrato de	116

	levedura	
Tabela 5.7	Composição química das salsichas com extrato, autolisado, concentrado protéico fosforilado de levedura e proteína texturizada de soja, em substituição a 1,5% de proteína da carne	118
Tabela 5.8	Avaliação das propriedades físico-mecânicas em salsichas contendo extrato, autolisado, concentrado protéico fosforilado de levedura e proteína texturizada de soja, em substituição a 1,5% de proteína da carne	119
Tabela 5.9	Resultados do teste de aceitação das salsichas adicionadas de extrato, autolisado, concentrado de levedura e proteína texturizada de soja, em substituição a 1,5% de proteína da carne	121
Tabela 5.10	Resultado da ordenação – preferência global e preferência da cor interna de salsicha em que 1,5% da proteína da carne foi substituída pela dos derivados de levedura e de soja	122
Tabela 5.11	Composição química das salsichas com extrato de levedura e proteína texturizada de soja	124
Tabela 5.12	Avaliação das propriedades físico-mecânicas das salsichas com extrato de levedura e proteína texturizada de soja.	125
Tabela 5.13	Resultados do teste de aceitação da salsicha com proteína texturizada de soja e extrato de levedura	126
Tabela 5.14	Resultado da ordenação – preferência global e preferência da cor interna de salsicha.....	128

ÍNDICE DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

Figura 1.1	Fluxograma geral do trabalho	04
------------	------------------------------------	----

CAPÍTULO 1

Figura 1.2	Reação de fosforilação	18
------------	------------------------------	----

CAPÍTULO 2

Figura 2.1	Fluxograma do preparo (lavagem) da biomassa	42
------------	---	----

Figura 2.2	Fluxograma do processo de autólise, fracionamento e desidratação das frações de levedura, solúvel (EXT) e insolúvel (PC)	44
------------	--	----

Figura 2.3	Fluxograma do processo para avaliação do rompimento celular.....	46
------------	--	----

Figura 2.4	Fluxograma de obtenção de concentrado protéico fosforilado de levedura (CPF)	47
------------	--	----

Figura 2.5	Fluxograma de obtenção de concentrado protéico de levedura tratado termicamente (CPT).....	48
------------	--	----

Figura 2.6	Ilustração dos derivados de levedura obtidos	51
------------	--	----

Figura 2.7	Representação gráfica dos resultados do teste de rompimento celular com o moinho Dyno Mill	53
------------	--	----

CAPÍTULO 3

Figura 3.1	Curvas de ganho de peso para ratos alimentados por 21 dias com dietas contendo caseína, levedura íntegra ou derivados de levedura como única fonte de proteína (10%)	77
------------	--	----

CAPÍTULO 4

Figura 4.1	Fluxograma para obtenção da curva de solubilidade da proteína extraída de levedura em diferentes valores de pH e na presença de 3% de TMFS.....	86
------------	---	----

Figura 4.2	Isotermas de adsorção de água a 25°C para LI, AUT e EXT de levedura.....	91
------------	--	----

Figura 4.3	Curva de solubilidade da proteína extraída de levedura em diferentes valores de pH, na presença de 3% (p/p) de trimetafosfato de sódio (TMFS)	93
------------	---	----

CAPÍTULO 5

Figura 5.1	Fluxograma geral do processamento de salsichas	108
Figura 5.2	Ilustração da etapa de cominuição (<i>cutter</i>) (a) e etapa de embutimento (b) da salsicha	109
Figura 5.3	Ilustração da salsicha antes (a) e após cozimento (b) da salsicha.....	111
Figura 5.4	Representação gráfica da frequência da intenção de compra de salsichas formuladas com proteína texturizada de soja ou derivado de levedura	117
Figura 5.5	Característica da equipe de consumidores do ensaio de substituição de 1,5% de proteína de carne da salsicha por proteína de PTS, AUT, EXT e CPF	120
Figura 5.6	Representação gráfica da frequência da intenção de compra de salsicha formuladas com proteína texturizada de soja ou derivado de levedura	123
Figura 5.7	Características da equipe de consumidores do ensaio de substituição de proteína cárnea da salsicha por proteína de EXT e PTS	126
Figura 5.8	Representação gráfica da porcentagem de respostas à intenção de compra de salsicha formulada com proteína texturizada de soja e extrato de levedura em diferentes níveis de substituição de proteína da carne por proteína de EXT ou PTS	127

RESUMO GERAL

O Brasil é o maior produtor mundial de álcool de cana-de-açúcar, com uma produção de 12 bilhões de litros de álcool anidro e hidratado na safra de 1999/00, e que usa levedura na transformação do açúcar em álcool. Normalmente, parte da levedura é retirada (cerca de 20%) em cada novo ciclo, num processo industrialmente conhecido como sangria, podendo gerar 240.000ton/anuais. Essa biomassa úmida é conhecida como leite de levedura que na sua maior parte é utilizada como fonte protéica para ração animal. Dessa maneira, justifica-se plenamente o estudo visando o seu aproveitamento como proteína alimentar humana.

O presente trabalho teve como objetivos obter derivados de *Saccharomyces sp.* procedente da indústria alcooleira e avaliar as propriedades funcionais e nutritivas, assim como a utilização destes em produto cárneo emulsionado.

Para tanto, na primeira etapa as leveduras íntegras do gênero *Saccharomyces sp* (biomassa) provenientes de destilaria de álcool foram submetidas aos processos de rompimento por autólise com adição de agentes plasmolizantes (autolisado-AUT e extrato isento de parede celular-EXT) e mecânico (concentrado protéico fosforilado-CPF). As composições centesimal, mineral e perfil de ácidos graxos foram determinadas. Os teores de proteína encontrados foram de 40,4; 48,6 e 62,6% e fibra alimentar total de 33,2; 3,3 e 6,0% para AUT, EXT e CPF, respectivamente.

Na segunda etapa, o valor nutricional das proteínas de levedura foi avaliado por meio de ensaios biológicos com ratos. Pelos índices avaliados (PDCAAS, PER, NPR, promoção do crescimento), encontrou-se que a proteína dos derivados da levedura (AUT, EXT, CPF) é de bom valor nutritivo, muito próximo ao da caseína, com exceção da levedura íntegra (LI) seca que apresentou índices mais baixos, enquanto o CPF promoveu maior ganho de peso dos ratos. A avaliação da composição em aminoácidos essenciais, nos produtos de levedura estudados, mostrou ligeira deficiência em leucina no extrato (EAE=87,4) e levedura íntegra (EAE=91,7) e em aminoácidos sulfurados totais no concentrado protéico fosforilado (EAE=93,2), enquanto o autolisado forneceu escore de aminoácidos essenciais superior à referência da FAO/WHO.

Na terceira etapa do trabalho, fez-se a avaliação de algumas propriedades funcionais visando a utilização dos derivados obtidos como ingredientes de produtos alimentícios. Constatou-se que o processo de autólise proporcionou derivados de levedura com alta solubilidade, sendo maior no EXT, seguido do AUT independentemente do pH (3 a 7), enquanto o CPF e o concentrado protéico tratado termicamente (CPT) apresentaram solubilidade em pH de 5 a 7 comparáveis ao isolado protéico (IPS) e à proteína texturizada (PTS) de soja. As isotermas de adsorção mostraram higroscopicidade da levedura íntegra (LI) menor que do AUT e do EXT, sugerindo a necessidade de utilização de embalagens com baixa permeabilidade ao vapor de água para o AUT e EXT. A capacidade de retenção de água do AUT não diferiu significativamente da PTS, já o CPF não diferiu do IPS nos pHs 5 e 6, apesar de ter apresentado menor valor no pH 7. O CPF de levedura e o IPS formaram emulsões nas condições da metodologia utilizada, enquanto o AUT, EXT, CPT de levedura e a PTS não formaram emulsões. Quando o CPT substituiu 20 e 40% da proteína de carne (acém), obteve-se a mais elevada capacidade emulsificante entre todos os derivados de levedura ou de soja testados. A capacidade de estabilizar a emulsão não foi diferente para o CPF de levedura e o IPS. Os valores de viscosidade apresentados pelo EXT foram menores nas concentrações e temperaturas entre todos os derivados. Na concentração de 6%, o IPS apresentou os mais altos valores de viscosidade entre os produtos estudados, seguido da PTS, os concentrados protéicos de levedura, AUT e por último o EXT. Na concentração de 15%, a PTS apresentou viscosidade bastante elevada seguida do CPF e CPT.

Na última etapa, avaliou-se a possibilidade de utilização dos derivados de levedura em produto cárneo emulsionado. Os ensaios realizados em salsicha demonstraram que as salsichas produzidas com 4% de adição (p/p) de PTS ou de AUT foram tecnologicamente semelhantes ou superiores às produzidas com 4% de EXT; 8% de EXT resultou em quebra da emulsão cárnea. A semelhança entre salsichas com 4% de PTS e AUT revelou-se também em relação aos atributos sensoriais (aroma, sabor e textura), enquanto a salsicha com 4% de EXT revelou-se de menor aceitação do que a salsicha contendo a mesma proporção de AUT. As salsichas com substituição de 1,5% de proteína da carne por proteína de PTS e CPF apresentaram maior estabilidade de emulsão, seguida pela salsicha com AUT e com a menor estabilidade para a salsicha com EXT. O AUT e EXT, substituindo 1,5% da proteína da carne, conferiram à salsicha sabor e aroma que não

diferiram estatisticamente. A salsicha com até 0,75% de proteína de EXT (equivalente a 1,5% de extrato de levedura) apresentou características químicas, físicas e organolépticas iguais (porcentagem de suco exsudado na embalagem, perda de peso no cozimento, aceitação) ou melhor (cor subjetiva) que a salsicha com 1,5% de proteína de PTS.

A avaliação global da pesquisa permite concluir que o processo de obtenção afetou a composição e as propriedades funcionais de cada derivado de maneira diferente, sugerindo diferentes possibilidades de uso. Pelos índices avaliados (PDCAAS, PER, NPR e promoção de crescimento), a proteína dos derivados obtidos (AUT, EXT e CPF) é de bom valor nutritivo, muito próximo ao da caseína, com exceção da levedura íntegra (LI) que apresentou índices mais baixos. Quanto ao aspecto tecnológico da utilização dos derivados de levedura em produto cárneo emulsionado, o AUT e o CPF podem substituir parte da proteína cárnea com a manutenção da qualidade do produto. Já o EXT, pelas propriedades apresentadas, aponta uma melhor utilização como flavorizante em produtos cárneos.

GENERAL SUMMARY

Brazil has the major world-wide production of alcohol from sugar cane, with a production of 12 billion liters of anhydrous and hydrated alcohol in 1999/00 and use yeast in the transformation of sugar and alcohol. Normally, part of the yeast is withdrawn (about 20%) in each new cycle, generating 240.000 ton annually and this biomass is used basically in animal feeding. In this way, the study to make use of this biomass as human protein source is completely justified.

The general objective of this investigation was to obtain autolysate (AUT) and extract (EXT) in pilot plant and phosphorylated yeast protein concentrate (CPF) in laboratory scale from yeast and evaluate the functional, nutritional properties, and the addition to finely comminuted sausage.

The yeast cells utilized were *Saccharomyces sp* originated from alcohol distillery as a byproduct. The present work was divided in four phases. The first phase consisted in obtaining the yeast products which were characterized through proximate percent analysis, mineral and fatty acids profiles. The protein content found was 40.4, 48.6 and 62.6% for AUT, EXT and CPF, respectively; total fibre of 33.2; 3.3 and 6.0% for AUT, EXT and CPF, respectively. The different products obtained by the various processes presented differences in the mineral profile, showing an increased phosphorus and sodium content comparing to the whole yeast (LI).

In the second phase, the rat assay indicated through the evaluated indexes (PDCAAS, PER, NPR, growth promotion), the yeast derivatives showed good nutritive value, close to casein, except for the whole dried yeast which showed lower indexes. Among the tested yeast products, CPF promoted superior growth of the rats, followed by EXT, AUT and LI. The amino acids profile in the EXT presented slight deficiency in leucine (EAE=87.4) and LI (EAE=91.7) and in total sulfur amino acids in CPF (EAE=93.2), whereas the AUT presented essential amino acid score superior to the others referred to FAO/WHO.

In the third phase, the utilization of yeast derived products as additives was aimed and, some functional properties were evaluated. The autolysis provided yeast products with high solubility, independently of pH (3 to 7), higher in the extract (EXT) followed by autolysate

(AUT). The phosphorylated yeast protein concentrate (CPF) and thermally treated protein concentrate (CPT) presented solubility in the pH ranging from 5 to 7, as soy protein isolate (IPS) and texturized soy protein (PTS). The adsorption isotherm showed lower hygroscopicity for LI than AUT and EXT, suggesting that low water vapor permeability package is necessary to protect AUT and EXT. In relation to water retention capacity, no significant differences ($p>0.05$) were observed between AUT and PTS and between CPF at pH 5 and 6 and IPS, although CPF had shown low water retention capacity at pH 7. The CPF and IPS formed emulsions at the utilized methodology conditions, whereas AUT, EXT, CPT and PTS did not. When CPT replaced 20 and 40% of chuck roll protein, the observed emulsion capacity of the mixture was the highest among the yeast or soy products tested. The emulsion stabilizing capacity was similar for CPF and IPS. Viscosity value for yeast extract was the lowest among the tested products for the used concentrations and temperatures. At 6% concentration, IPS presented a higher value, followed by PTS, CPF, CPT, AUT and EXT. At 15%, PTS presented a rather high viscosity, followed by CPF and CPT.

Finally, the utilization of yeast derived products in finely comminuted meat product were evaluated against soy derivative. The 4% (w/w) PTS or AUT added to sausages were technologically similar or superior to 4% EXT, 8% of EXT resulted in broken emulsion. A similarity between 4% PTS and AUT addition to sausage was observed in flavour, odour and texture. The 4% EXT sausage presented lower sensorial quality and lower consumer acceptance than 4% AUT sausage. The 1.5% meat protein replacement by PTS and CPF protein sausage presented higher emulsion stability, followed by AUT and EXT added sausage. The sausage flavour and odour showed no difference when 1.5% meat protein was replaced by AUT and EXT protein sausage. The 0.75% EXT protein sausage (equivalent do 1.5% EXT) presented similar chemical, physical and sensorial characteristics (percentage of exudate in the vacuum package, acceptance) or better characteristics (emulsion stability, colour) than 1.5% PTS (equivalent to 2.97% PTS) replacement.

The overall conclusions of this study are that the process for obtention of yeast products influenced the composition and the functional properties of each yeast product in a different way, suggesting various applications. Through the evaluated indexes (PDCAAS, PER, NPR, growth promotion), the yeast derivatives showed good nutritive value, close to

casein, except for the whole dried yeast which showed lower indexes. In relation to technological aspect of yeast products utilization in comminuted meat products, AUT and CPF can replace part of the meat protein maintaining the product quality. On the other hand, according to showed properties, the EXT is pointed as flavoring in meat products.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. INTRODUÇÃO GERAL

A proteína de microrganismos unicelulares é uma fonte não-convencional que pode aumentar o fornecimento de proteínas e reduzir o alto custo das fontes convencionais. Entre as vantagens do uso de proteínas de microrganismos unicelulares pode-se citar que o microrganismo pode crescer rapidamente, usa uma variedade de substratos, tem um alto rendimento, pode ser manipulado geneticamente para aumentar o rendimento e a composição e, finalmente, não necessita de grandes áreas para a sua produção.

As proteínas de células microbianas, particularmente de leveduras, podem suplementar significativamente as proteínas de fontes convencionais. Entretanto, um número de problemas associados com a proteína microbiana deve ser solucionado para torná-la fonte de proteína aceitável, segura e barata para consumo humano.

O uso da levedura *in natura* como fonte protéica não é indicado, uma vez que esta apresenta baixa digestibilidade devido à presença de parede celular, ocorrendo uma redução de seu valor nutritivo (MOURA, 1986). A digestibilidade da proteína de levedura é dependente da parede celular, que ao ser parcialmente destruída resulta em um aumento da digestibilidade (HALÁSZ et al., 1988).

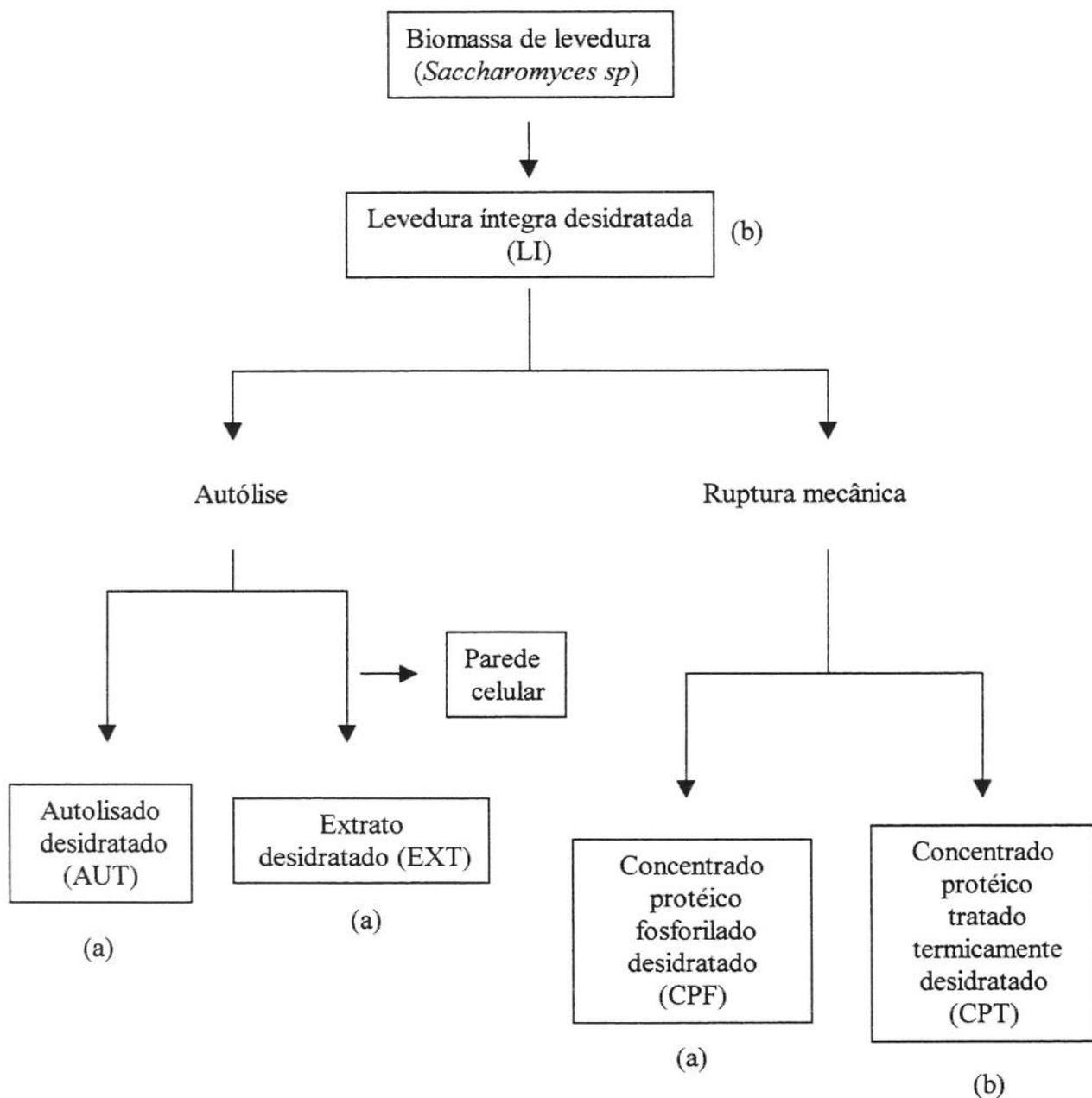
A utilização de microrganismos unicelulares como fonte protéica para alimentação humana é limitada pelo alto conteúdo de ácidos nucleicos, principalmente o ácido ribonucleico (RNA), cuja quantidade pode atingir 8 a 25g /100g proteína (HUANG & KINSELLA, 1986a). Antes da levedura ser utilizada como uma maior fonte de proteína para consumo humano, o conteúdo de ácido nucleico deve ser reduzido, de maneira que a ingestão diária de ácido nucleico de levedura não exceda 2g em base seca. Elevadas quantidades causam uricemia e a ingestão continuada pode resultar em gota (WASLIEN et al., 1970).

A levedura, subproduto da produção de álcool por via fermentativa, é normalmente descartada ou usada somente como ração animal. A fim de fazer melhor uso destas leveduras e diminuir a poluição ambiental, têm sido conduzidos estudos para extração e recuperação de proteínas de leveduras (SALGADO & SARRUGE, 1976 ; BENASSI et al., 1990; FILHO et al., 1996).

O Brasil é o maior produtor mundial de álcool de cana-de-açúcar, com uma produção de 12 milhões de m³ de álcool anidro e hidratado na safra de 1999/00 (IEE, 2002), e que utiliza levedura na transformação do açúcar em álcool (FURCO, 1996). Normalmente, parte da levedura é retirada (cerca de 20%) em cada novo ciclo, num processo industrialmente conhecido como sangria, podendo gerar 240.000ton/anuais e essa biomassa úmida é conhecida como leite de levedura que, na sua grande maioria, é utilizada como fonte protéica para ração animal. O estudo das proteínas extraídas de levedura, tanto no aspecto nutricional quanto no conhecimento das suas propriedades funcionais e utilização para alimentação humana, é de grande importância, uma vez que possibilita o aproveitamento da levedura excedente das destilarias de álcool.

O presente trabalho teve como objetivos obter derivados de *Saccharomyces sp.* procedente da indústria alcooleira, avaliar suas propriedades funcionais e nutritivas, assim como estudar a utilização das proteínas obtidas, em produto cárneo emulsionado.

Para atingir os objetivos propostos, seguiu-se o fluxograma geral apresentado na Figura 1.1..



(a) Avaliações de propriedades funcionais, nutricionais e utilização em produto cárneo emulsionado

(b) Avaliação de algumas propriedades funcionais ou nutricionais

Figura 1.1. Fluxograma geral do trabalho

1.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2.1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA LEVEDURA

A biomassa de levedura é composta de 35 a 65% de proteína, sendo considerada uma boa fonte protéica não-convencional, com perspectivas de ampliação de seu uso na indústria de alimentos.

Na Tabela 1.1, encontra-se a composição centesimal aproximada da levedura íntegra (LI), autolisado (AUT), extrato (EXT) e do concentrado protéico de levedura de cervejaria (base seca)

Tabela 1.1 Composição centesimal aproximada de derivados de levedura de cerveja (base seca)

Componentes (%)	LI^a	AUT^a	EXT^a	Conc.Prot.^b
Proteína (Nx5,8)	48,74	46,45	61,54	65,74
Lipídios totais	3,33	3,30	1,89	5,60
Cinzas	8,55	8,83	12,50	6,51
RNA	5,70	7,90	6,90	15,53
Fibra total	24,40	25,03	2,70	-
Fibra solúvel	22,52	24,76	2,70	-
Fibra insolúvel	1,88	0,27	n.d.	-
Não-determinado	10,60	10,82	19,20	-

^a SGARBIERI et al. (1999)

^b PACHECO (1996), obtido por precipitação no ponto isoelétrico

n.d.=não-detectado

O conteúdo de ácidos nucleicos é elevado tanto na biomassa como na proteína concentrada. A proteína de levedura concentrada, sem o uso de reagentes químicos ou tratamento enzimático, apresenta-se complexada com o ácido ribonucleico (RNA) que se precipita junto à proteína, perfazendo em torno de 15% da composição do concentrado, em base seca.

Os carboidratos representam 20 a 35% da matéria seca das células, sendo a maior proporção de polissacarídeos localizados na parede celular (15 a 20% de glicanas e mananas) e em menor parte carboidratos de reserva energética (glicogênio e trealose). Num estudo realizado por SARWAR et al. (1985) com seis linhagens de leveduras, o conteúdo de fibra

alimentar variou na faixa de 15,42 a 17,79%, onde a quantidade de fibra insolúvel foi baixa, 2,47 a 5,49%, e fibra solúvel de 11,19 a 12,97%.

Embora o teor de minerais varie numa ampla faixa, o conteúdo de cinzas das células de levedura é alto, cerca de 10% da matéria seca, onde os principais componentes são fósforo, potássio, magnésio e cálcio. SARWAR et al. (1985) sugerem pelos resultados obtidos com leveduras crescidas em vários substratos, que o metabolismo do P, K, Fe, Zn e Na é bem regulado e que não existe contaminação com estes minerais durante o crescimento e conseqüente processamento.

Em relação às vitaminas, as leveduras são essencialmente ricas em vitaminas do complexo B, existindo uma pequena diferença no conteúdo vitamínico de células crescidas em sacarose e etanol (SCHAY & WEGNER, 1985).

Na Tabela 1.2, encontra-se a composição em aminoácidos essenciais da levedura íntegra, do autolisado, do extrato e do concentrado protéico de levedura de cervejaria e o padrão de referência da FAO/WHO (1989)

Tabela 1.2. Composição em aminoácidos essenciais de derivados de levedura de cervejaria

Aminoácidos (g/100g prot.)	Levedura íntegra ^a	Extrato ^a	Autolisado ^a	Conc. prot. ^b	Padrão FAO/WHO ^c
Isoleucina	5,64	5,69	4,87	5,09	2,8
Leucina	8,84	8,07	7,80	8,62	6,6
Lisina	7,13	8,58	9,54	8,78	5,8
Metionina + cistina	2,84	2,56	2,11	2,30	2,5
Fenilalanina + tirosina	9,98	6,91	8,53	8,79	6,3
Treonina	6,16	5,19	5,84	4,07	3,4
Triptofano	1,45	1,31	1,55	1,39	1,1
Valina	6,20	6,76	5,87	5,91	3,5
Histidina	2,06	3,01	3,15	2,77	1,9

^a VILELA et al. (2000)

^b CABALLERO-CÓRDOBA & SGARBIERI (2000) tratado com perclorato de sódio

^c FAO/WHO (1989) para crianças de 2 a 5 anos de idade

A biomassa de levedura é uma boa fonte de proteína, tanto quantitativa como qualitativamente. O perfil aminoacídico é semelhante para as diferentes preparações de

levedura e atende basicamente o padrão de referência da FAO, apresentando uma deficiência marginal apenas em metionina, mas teores adequados de triptofano e treonina e alto teor de lisina.

MARTINI et al. (1979) relataram altos teores de treonina e lisina e deficiência em metionina e cistina, aparentemente característicos das células intactas de oito espécies de leveduras analisadas (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Saccharomyces uvarum*, *Schwanniomyces castelli*, *Saccharomyces ludwigii*, *Pichia membranaefaciens*, *Lipomyces starkeyi*).

1.2.2. VALOR NUTRICIONAL DA PROTEÍNA DE LEVEDURA

O conteúdo de nutrientes da célula de levedura depende principalmente do estado metabólico do organismo e a qualidade da proteína é determinada pelo balanço de aminoácidos essenciais, adicionalmente à digestibilidade e biodisponibilidade da proteína (HALÁSZ & LÁSZTITY, 1991).

O uso da levedura *in natura* como fonte protéica para animais monogástricos não é indicado porque irá apresentar baixa digestibilidade devido à presença de parede celular, ocorrendo uma redução de seu valor nutritivo (MOURA, 1986). Desta forma, a destruição parcial desta parede celular resulta em um aumento da digestibilidade (HALÁSZ et al., 1988).

Os extratos de levedura autolisada são frequentemente adicionados a alimentos processados como um meio de aumentar a proteína alimentar e o conteúdo de vitamina e/ou refinar seu perfil de sabor e aroma (OTERO et al., 1996).

CABALLERO-CÓRDOBA & SGARBIERI (2000) relataram escore aminoacídico de 98,1% para a proteína da biomassa de levedura de cervejaria, baseado na lisina disponível e comparado com o padrão da FAO/WHO. VILELA et al. (2000) encontraram valores protéicos para as várias preparações de levedura de cervejaria na faixa de 75-90% da caseína, dependendo do índice de avaliação considerado.

1.2.3. LIMITAÇÕES DE USO DA PROTEÍNA DE LEVEDURA

As proteínas de fontes microbianas, especialmente de leveduras, poderiam suplementar significativamente o aumento da demanda de proteína alimentar. Dois fatores principais restringem o consumo da biomassa de levedura diretamente como fonte de proteína na dieta de humanos e primatas superiores, quais sejam: a presença de parede celular e o conteúdo em ácidos nucléicos.

1.2.3.1. Presença de parede celular

Para utilizar o conteúdo protéico de células microbianas é necessário processar o material celular bruto e tornar as proteínas digeríveis para não-ruminantes e humanos. A absorção de proteínas pelo sistema digestivo é dificultada pela integridade da parede celular. Tem sido mostrado que a digestibilidade de leveduras e microalgas pode ser grandemente aumentada pela secagem a altas temperaturas sob certas condições. Entretanto, o tratamento térmico necessário para aumentar a digestibilidade das células pode também afetar a proteína e outros componentes celulares valiosos (HEDENSKOG & MOGREN, 1973).

As paredes das células são resistentes às enzimas digestivas tornando os componentes intracelulares parcialmente indisponíveis. Para solucionar esta limitação pela parede celular, vários métodos químicos, físicos e enzimáticos têm sido propostos (HUGHES et al., 1971; KIHLEBERG, 1972; CUNNINGHAM et al., 1975; KINSELLA & SHETTY, 1978; CHAE et al., 2001). A autólise tem sido utilizada para modificar a parede celular de leveduras pela ação de enzimas endógenas (KOLLAR et al., 1992). A autólise ativa várias enzimas, provocando extensa hidrólise de proteína, indesejável quando o objetivo é o isolamento de proteína (OTERO et al., 1996). Por meio de uma combinação de tratamentos mecânico e químico, OKEZIE & KOSIKOWSKI (1981) obtiveram o rompimento de células de levedura *Candida tropicalis* com um rendimento de 71% de extração de proteína celular.

O método de ruptura mecânica tem sido muito utilizado, principalmente quando se deseja obter produtos com boas propriedades funcionais, permitindo uma recuperação eficiente da proteína mais próxima ao seu estado nativo, pois evita o uso de tratamentos drásticos de temperatura, pH e introdução de reagentes químicos. A desintegração mecânica pode ser

conduzida por vários meios, como em homogeneizador convencional, desintegrador de alta pressão, exposição ao ultra-som e desintegrador tipo moinho de bolas (ENGLER, 1979).

Dentre os trabalhos com proteínas de organismos unicelulares que utilizaram o rompimento celular, ARRIOLA et al. (1989) conseguiram 97% de ruptura das paredes de células de levedura empregando um desintegrador de laboratório com esferas de vidro com diâmetro de 0,3 a 0,5mm, por um tempo de 27 minutos e pH 9,0. OTERO et al. (1996) utilizaram um homogeneizador de dois estágios ajustando o pH a 9,5 antes da homogeneização, atingindo um teor de sólidos e proteína no sobrenadante semelhante ao obtido por Sucher com 3 a 5 etapas. HUANG & KINSELLA (1986a) utilizando o moinho Dyno Mill e uma suspensão com 5% de sólidos secos e fluxo de 6L/hora, obtiveram uma ruptura superior a 95% com uma única passagem pelo equipamento.

1.2.3.2. Presença de ácidos nucléicos

A utilização de microrganismos unicelulares como fonte protéica para alimentação humana é limitada pelo alto conteúdo de ácidos nucléicos, principalmente o ácido ribonucléico (RNA), cuja quantidade pode atingir 8 a 25g/100g de proteína (HUANG & KINSELLA, 1986a). Antes da levedura ser utilizada como uma maior fonte de proteína para consumo humano, o conteúdo de ácidos nucléicos deve ser reduzido, de maneira que a ingestão diária de ácidos nucléicos de levedura não exceda 2g em base seca. Altas quantidades causam uricemia e a ingestão continuada de levedura pode resultar em gota (WASLIEN et al., 1970).

KAMEL & KRAMER (1978), ao estudarem o consumo de alimento suplementado com proteína de organismo unicelular, observaram que 30g de concentrado protéico de levedura (contendo 8,6g/100g base seca de ácido nucléico), fortificando alimento por 3 semanas, aumentaram os níveis de ácido úrico no soro para 8mg/100mL e na urina até 1210mg/24h. Duas semanas após o término da ingestão de levedura, os dois valores caíram próximos ao normal (valores normais= 6,60mg/100mL no soro e 875mg/24h na urina).

A biomassa de levedura com alto teor de proteína e composição aminoacídica compatível com as necessidades humanas, com apenas pequena limitação em aminoácidos sulfurados, tem sido objeto de estudos visando à obtenção de concentrados protéicos com baixos teores de ácidos nucléicos. Os métodos para remoção do ácido ribonucléico de células são

numerosos, mas geralmente envolvem tratamentos rigorosos, caros e/ou compostos químicos tóxicos.

Processos envolvendo hidrólise e extração do RNA com enzimas, a utilização de sais caotrópicos e modificações químicas foram estudados visando esses concentrados e que além dos baixos teores de RNA, apresentassem também propriedades funcionais importantes para a sua aplicação.

Evidências sugerem dentre os RNA que o RNAr (ribossomal) é o mais estável e está localizado no centro da estrutura tridimensional do complexo nucleoprotéico, formando um núcleo densamente rodeado por proteínas ribossômicas. A natureza altamente hidrofóbica destas proteínas indica um grande potencial de interações hidrofóbicas entre elas, criando uma região apolar no centro. A formação de pontes de hidrogênio e eletrostáticas nesta região de baixo potencial dielétrico pode, conseqüentemente, apresentar alta energia, estabilizando desta forma o complexo. Acredita-se que a desestabilização das interações hidrofóbicas pode causar, concomitantemente, quebra das ligações de hidrogênio e de forças iônicas, pelo fato de alterarem seu meio dielétrico (SHETTY & KINSELLA, 1982; DAMODARAN & KINSELLA, 1984).

O processo de extração com perclorato de sódio foi mais eficiente na redução de ácidos nucléicos do que com trimetafosfato de sódio; no entanto, o primeiro ocasionou perda de propriedades funcionais das proteínas, exceto as propriedades da espuma (PACHECO, 1996).

O conteúdo de RNA foi reduzido a 1,0-2,0% na proteína de levedura preparada com álcali forte (NEWELL et al., 1975), para 1,8-2,5% pelo método de succinilação (SHETTY & KINSELLA, 1979), para 1,8-2,2% pelo método reversível de citraconilação-decitraconilação e para 2,5-3,0% pelo método com NaClO₄ (DAMODARAN & KINSELLA, 1983).

Para a utilização de ribonucleases endógenas é necessário fazer inicialmente uma ativação das enzimas. A inativação pode ser atingida alterando a localização celular da ribonuclease, alterando a conformação da enzima ou pela destruição de seus inibidores. Os inibidores podem ser destruídos pelo emprego de temperaturas elevadas, sendo que um choque

térmico sub-ótimo combinado com ânions carboxílicos, como o formiato e o acetato, aceleram as reações de hidrólise nas células e aumentam a permeabilidade da parede das células.

Embora os processos de hidrólise e extração alcalina sejam métodos simples e eficientes na redução dos ácidos nucléicos, provocam a perda de proteínas (30%), destruição de aminoácidos, desnaturação da proteína e tornam a lisina indisponível, podendo inclusive levar à formação de compostos indesejáveis como lisinoalanina (KINSELLA, 1987).

BENASSI et al. (1990) utilizaram as enzimas ribonucleases endógenas das células para reduzir o teor de ácidos nucléicos das mesmas e atingiram uma redução de 28% no teor de RNA, porém houve também a redução do conteúdo de vitaminas do complexo B e de minerais em cerca de 70%. OTERO et al. (1996) relataram um processo para fracionamento completo de levedura com a obtenção de glicomananas, parede celular, extrato e um concentrado protéico, após ativação das nucleases endógenas para redução do teor de RNA.

CASTRO et al. (1971) reduziram o conteúdo de ácido nucléico de células de levedura de 7,5 a 9,0% para 1,5 a 2,0%, sem perda significativa de proteína, utilizando método enzimático com ribonuclease A pancreática bovina. Os autores comentaram que o método é economicamente impraticável para produção em larga escala, devido ao alto custo da enzima.

Uma redução de 45 a 97% de RNA foi atingida por GIERHART & POTTER (1978) com vários tipos de tratamentos, sendo que utilizando ribonuclease pancreática bovina obtiveram os melhores resultados.

1.2.4. OBTENÇÃO DE DERIVADOS DE LEVEDURA

Em princípio, a biomassa de levedura pode ser usada de diferentes formas. A forma mais simples é a utilização da célula íntegra, por exemplo, a levedura inativada e seca. Outra possibilidade é a destruição parcial da parede celular e remoção dos componentes adversos às propriedades do produto final. Também, é possível realizar a extração de componentes como as proteínas após a ruptura da célula, separação e concentração.

Os principais derivados de levedura são os autolisados (produzidos por autodigestão das células) e extrato de levedura, enzimas (invertase, lactase e melibiase), concentrados e isolados protéicos. Outros derivados incluem produtos de interesse farmacêutico, alimentar e cosmético como glicana (substituto de gordura em alimentos), fator respiratório para pele, com propriedades cicatrizantes por estimular o consumo de oxigênio e promover a epitelização dos tecidos (McCORMICK, 1987; DZIEZAK, 1987; REED & NAGODAWITHANA, 1991)

1.2.4.1. Autolisado de levedura

Essencialmente a autólise é caracterizada pela perda da função de membrana e organização celular, degradação das macromoléculas da célula e liberação dos produtos de quebra no ambiente extracelular (HERNAWAN & FLEET, 1995).

O autolisado de células viáveis é obtido mantendo-se a suspensão de levedura com aproximadamente 15% de sólidos a 45-50°C por 24-36 horas a pH em torno de 5,5. Neste processo agem principalmente a β (1,3) glucanase e proteases. A β (1,6) glucanase e mananase participam da solubilização da matriz da parede celular. Sob condições normais, as proteinases vacuolares, como a proteinase A, proteinase B, carboxipeptidase Y, carboxipeptidase S e aminopeptidases mantêm o *pool* de aminoácidos nos vacúolos. Em condições autolíticas, atacam indiscriminadamente as proteínas presentes no citoplasma (SHETTY & KINSELLA, 1980; OUTRRUP & BOYYCE, 1990; REED & NAGODAWITHANA, 1991; JONES, 1991; KOLLAR et al., 1992).

Um autolisado é o conteúdo total da levedura após autólise. Por isso, os autolisados têm “sabor” menos intenso que um extrato de mesmo peso, pelo efeito diluição. O produto é apresentado na forma de pasta concentrada ou seca sem separação das partículas.

O processo autolítico pode ser acelerado por meio da variação na temperatura e utilização de ativadores de autólise como plasmolizantes, acerto de pH e até mesmo a adição de enzimas externas. O cloreto de sódio é um composto que pode acelerar o processo de autólise já que funciona como plasmolizante, contribuindo para a decomposição da parede celular, o que facilita a liberação de enzimas intracelulares como a RNase promovendo, assim, uma redução no teor de ácidos nucléicos, o que torna o material mais aceitável ao

organismo humano (LINDBLOM & MOGREN, 1974; BABAYAN et al., 1981; NAUMENKO & GORDIENKO, 1985). O possível inconveniente do uso do cloreto de sódio no processo é o fato do material final possuir uma quantidade muito elevada de sal (NAUMENKO & GORDIENKO, 1985, BEHELOVÁ et al., 1991; LEE, 1996).

NAUMENKO & GORDIENKO (1985) testaram vários solventes para a redução do tempo de autólise e observaram que o clorofórmio e o toluol proporcionaram um menor tempo, mas que haveria maior vantagem no uso do etanol, uma vez que, apesar de ser menos efetivo na redução do tempo, obteve-se a formação de um produto com melhor qualidade, sem a contaminação de solventes prejudiciais à saúde.

LINDBLOM & MOGREN (1974), testando a redução enzimática do RNA em células de levedura desintegradas, propuseram que a função do choque térmico é iniciar a autólise. Durante a incubação, o RNA é degradado pelas RNases e os nucleotídeos saem de dentro das células. Estes autores testaram diversas temperaturas e chegaram à conclusão de que o melhor resultado é obtido entre 50 e 60°C, onde se constata uma forte redução do teor de ácidos nucléicos e o melhor rendimento em extração de nitrogênio.

BELEM et al. (1997) constataram que para extração de nucleotídeos do autolisado de *Kluyveromyces marxianus*, os resultados mais efetivos foram obtidos na faixa de pH entre 6,5 e 7,5. Avaliando a interação entre pH e temperatura, observou-se que a melhor está em pH 6,5 a uma temperatura de 50°C.

KOLLAR et al. (1992) desenvolveram um método para fracionamento completo da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, onde efetuaram a desintegração das células por autólise a 50°C induzida com NaCl e etanol, além de um material anteriormente autolisado chamado pré-autolisado. Após a autólise, procederam à secagem em *spray dryer*. Os produtos obtidos foram um extrato e uma parede celular com redução de aproximadamente 28% no teor de RNA.

O pré-autolisado é constituído do material obtido da ruptura mecânica e autólise, o que ocasiona a liberação das enzimas endógenas da célula para auxiliar na ruptura de novas células. Para o uso deste autolisado torna-se necessário uma temperatura entre 40 e 55°C, o

que promove a atividade das enzimas intracelulares (KOLLAR et al., 1992, MOHAMED et al., 1995).

No processo de obtenção de autolisado, utilizam-se as enzimas da própria célula, porém, existe a possibilidade de induzir a autólise com a adição de enzimas exógenas para a redução do tempo, aumentar o teor de 5'guanossina monofosfato e o rendimento da autólise (KNORR et al., 1979; CHAE et al., 2001). KNORR et al. (1979) utilizaram duas enzimas, zimolase e a lisozima para extração de proteínas de levedura e conseguiram a redução do tempo de autólise de 35 horas para uma hora.

VASALLO et al. (2001) obtiveram a autólise de levedura com uma solubilização de cerca de 85% da biomassa total num processo com uma etapa prévia de homogeneização a ~52 MPa (N=2) com pH ajustado a 9,5.

1.2.4.2.Extrato de levedura

O extrato de levedura é uma pasta ou pó nutritivo e palatável preparado por autólise de levedura. A autodigestão das células de levedura, principalmente por meio da atividade proteolítica das enzimas da levedura, permite recuperar os sólidos protéicos solúveis. Estes sólidos solúveis são posteriormente concentrados até formar uma pasta ou secos em *spray dryer*.

SUPHANTHARIKA et al. (1999) e HOBSON & ANDERSON (1996) produziram extratos de levedura com um novo e interessante sabor, misturando outras fontes protéicas à levedura. Já SOMBUTYANUCHIT et al. (2001) obtiveram extrato de levedura de cervejaria com alto teor de 5'-GMP (0,93% p/p), utilizando fosfodiesterase e controlando as condições de autólise.

1.2.4.3.Extração e concentração da proteína de levedura

A linha de produção de concentrados protéicos exige como primeira etapa, a ruptura das paredes celulares, que pode ser feita por processo enzimático como na autólise ou por processo mecânico. A ruptura mecânica apresenta vantagens por ser mais rápida, possibilitar a obtenção de proteínas com um mínimo de degradação e resultar em melhores propriedades funcionais do produto final (concentrado protéico).

A modificação química tem sido explorada como um meio de melhorar as propriedades físicas e nutricionais, assim como um método para remover substâncias indesejáveis de proteínas alimentares. Vários estudos foram conduzidos para obter isolados protéicos de células microbianas com teores reduzidos de ácidos nucléicos e boas propriedades funcionais por meio de modificações químicas.

Visando à obtenção de concentrados protéicos com teores reduzidos de RNA, tem-se utilizado sais da série caotrópica como perclorato de sódio, tiocianato e tricloroacetato. Os sais, adicionados a uma solução aquosa do complexo RNA-proteína, afetam primeiramente as ligações de hidrogênio da água, que dão origem a uma cascata de eventos levando à completa dissociação do complexo (DAMODARAN & KINSELLA, 1983). O princípio do método baseia-se em que as interações hidrofóbicas são as de ocorrência principal no complexo, formando uma região de baixo potencial dielétrico, que reforça as interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio e de Van der Waals, criando uma espécie de concha isenta de água no interior do complexo, onde se localiza o RNA. A introdução de sais ocasiona a desestruturação das ligações de hidrogênio da água, resultando em alteração da estabilidade termodinâmica da água circundante da molécula de proteína, levando ao enfraquecimento das interações hidrofóbicas, permitindo a penetração de água no interior da molécula e desestabilizando o complexo (KINSELLA, 1987).

As proteínas de levedura foram modificadas quimicamente usando reagentes como o anidrido maléico e citracônico, por succinilação, acetilação, alquilação e fosforilação (VANANUVAT & KINSELLA, 1978; KINSELLA & SHETTY, 1978; SHETTY & KINSELLA, 1982; GUZMAN-JUAREZ, 1983; HUANG & KINSELLA, 1987). Uma vez que as interações eletrostáticas são importantes na estabilização do complexo nucleoprotéico nos ribossomos da levedura, a adição de cargas negativas à proteína da levedura por modificação química pode perturbar as interações não-covalentes entre o ácido nucléico e a proteína, desestabilizar o complexo nucleoprotéico e, então, facilitar a separação do ácido nucléico da proteína (HUANG & KINSELLA, 1986a).

A succinilação, embora seja muito eficiente para reduzir o RNA, ocasiona redução no valor nutritivo da proteína pelo fato da reação ser irreversível e o reagente ficar ligado ao aminoácido lisina da proteína, diminuindo a sua biodisponibilidade. A succinilação de

proteína faz com que as ligações lisil não sejam hidrolisadas por proteases presentes nas glândulas digestivas (MATOBA & DOI, 1979). McELWAIN et al. (1975) encontraram os valores de digestibilidade medida como porcentagem de lisina liberada da proteína por pepsina e pancreatina de 32,7%, 18,6% e 3,3% em proteína de levedura não succinilada, ovo integral e proteína de levedura succinilada respectivamente.

Tanto o anidrido citracônico como o maléico são reagentes que, após reagirem com a proteína podem ser removidos sob condições ácidas. Entre estes, a citraconilação é mais eficiente na redução dos ácidos nucléicos (50%), no entanto é uma reação complicada, de alto custo, ocasionando perdas em algumas propriedades funcionais, quando a proteína é decitraconilada (KINSELLA, 1987).

A modificação química pela fosforilação é mais aceitável que outros métodos químicos. As fosfoproteínas são abundantes na natureza e muitas como a caseína, ovoalbumina e a fosfovitina da gema do ovo são parte natural da dieta humana. As proteínas fosforiladas geralmente têm melhores propriedades funcionais que as proteínas não-modificadas (HUANG & KINSELLA, 1986a).

O mecanismo básico envolvido na fosforilação de proteína é o aumento na carga negativa na proteína, que por sua vez, introduz uma forte repulsão eletrostática dentro do complexo nucleoprotéico, dissociando a proteína do ácido nucléico. Uma vez que os ácidos nucléicos dissociados têm um pH isoeletrico em torno de 1,5-2,0, os ácidos nucléicos permanecem solúveis durante a precipitação da proteína a pH 4,2. Isto facilita a recuperação de proteínas de levedura com baixos teores de ácido nucléicos (DAMODARAN & KINSELLA, 1984; MATHEIS, 1991).

A fosforilação das proteínas tem sido conduzida utilizando uma variedade de reagentes químicos como o oxiclreto de fósforo, pentóxido de fósforo dissolvido em ácido fosfórico, ácido fosfórico com tricloroacetona com agente acoplante, fosfodiclorreto monofenil, difosfoimidazol e trimetafosfato de sódio (TMFS) (MATHEIS & WHITAKER, 1984). Para a fosforilação de proteínas de levedura, os mais comuns são o oxiclreto de fósforo e o trimetafosfato de sódio, sendo que, embora este último reagente não apresente eficiência

igual ao oxiclureto em reduzir o RNA, é um composto que apresenta menor custo e não é tóxico.

O maior benefício do uso do reagente trimetafosfato de sódio em relação ao oxiclureto de fósforo, é que ele é um aditivo alimentar amplamente utilizado na indústria de alimentos, com aprovação da FDA (Food and Drugs Administration). De acordo com a literatura, os polifosfatos cíclicos como o trimetafosfato de sódio, possuem menos efeitos tóxicos e fisiológicos que outros polifosfatos de cadeia linear. Eles são amplamente utilizados para modificação de amidos, como agentes precipitantes auxiliando na coagulação, separação e purificação de proteínas animal e vegetal, tais como a proteína do leite, extrato de fígado, soro de sangue ou de restos industriais de bebidas (ELLINGER, 1972).

O TMFS foi utilizado para fosforilação de 30% dos resíduos de serina da proteína da soja, em solução aquosa de pH 11,5 a 35°C, durante o período de três horas, onde a proteína de soja modificada apresentou as propriedades funcionais melhoradas. O maior mérito deste processo é a proteção temporária dos grupos ϵ -amino da lisina, conservando sua biodisponibilidade nutricional (SUNG et al., 1983).

O TMFS reage preferencialmente com os grupos hidroxilas dos resíduos da serina e da treonina e o radical ϵ -amino da lisina. Quando a proteína é precipitada no ponto isoelétrico, a lisina torna-se disponível (reação reversível), ficando somente os resíduos de serina ligados ao grupo fosfato. Desta forma, o TMFS protege temporariamente a lisina, evitando sua participação em reações químicas desfavoráveis durante o processo de fosforilação. A fosforilação é conduzida em pH alcalino e em condições de temperatura controlada. O mecanismo da reação, proposto por SUNG et al. (1983) está ilustrado na Figura 1.2.

No caso da lisina, há formação do resíduo N-trifosfolisina, sendo a reação reversível em pH ligeiramente ácido ($\text{pH} < 5$), sem a formação do pirofosfato. Obtém-se, desse modo, uma proteína com maior número de cargas negativas e menor conteúdo de ácido ribonucléico.

A fosforilação de cerca de 30% dos grupos ϵ -NH₂ da lisina da proteína de levedura facilitou a separação de RNA da proteína. Pela fosforilação, mais que 85% do RNA foram removidos. A fosforilação não modifica a composição aminoacídica da proteína de levedura.

A fosforilação da lisina pode ser revertida sob condições ácidas sugerindo que a lisina é biologicamente disponível (HUANG & KINSELLA, 1986a).

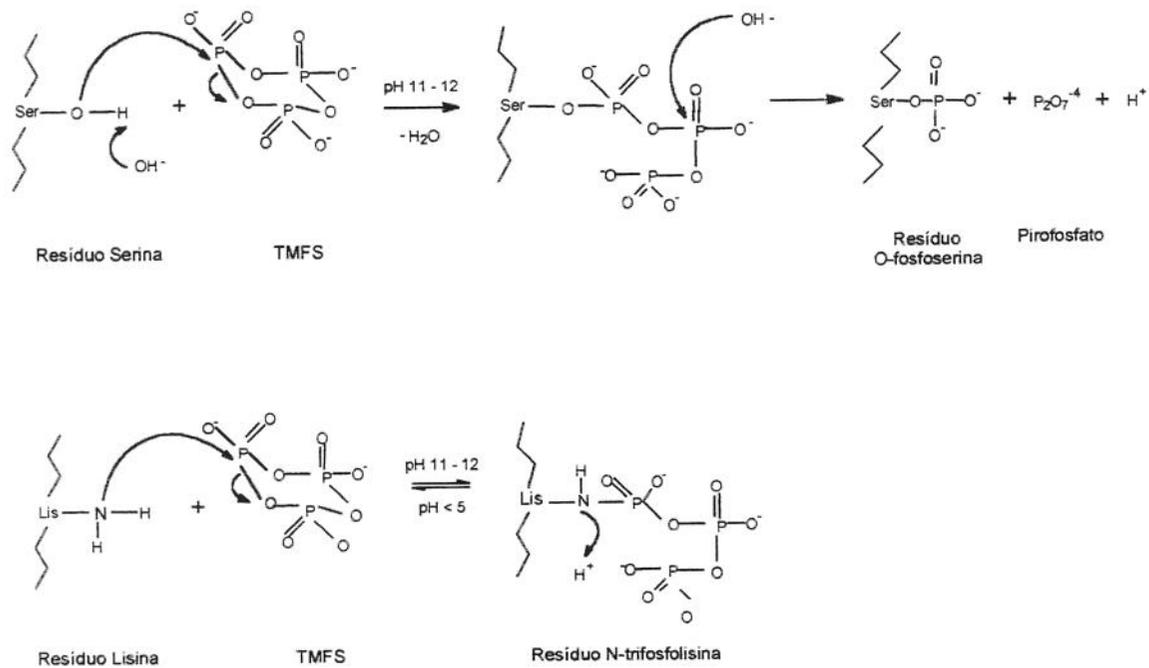


Figura 1.2 Reação de fosforilação

A fosforilação aumenta o rendimento de extração da proteína, não altera seu valor nutritivo e melhora algumas propriedades funcionais, embora não seja o método mais eficiente em reduzir o ácido ribonucléico. Entre as propriedades funcionais melhoradas de proteína de levedura fosforilada incluem a solubilidade em água, capacidade de retenção de água, viscosidade, atividade emulsificante e formação de espuma (HUANG, 1985 citado por FSTA, 1986; HUANG & KINSELLA, 1987). A digestibilidade *in vitro* não foi afetada pela fosforilação (HUANG & KINSELLA, 1987).

Em experimento realizado por GIEC et al. (1989), a reação com TMFS foi conduzida em pH 9,0-12,5 e temperatura de 25 a 45°C. A fosforilação de 50% ocasionou a redução dos ácidos nucléicos à metade e resultou em isolados protéicos com propriedades funcionais melhoradas e uma ligeira diminuição da digestibilidade enzimática *in vitro*.

1.2.5. PROPRIEDADES FUNCIONAIS TECNOLÓGICAS

O termo “propriedade funcional tecnológica” aplicado a ingredientes alimentícios pode ser definido como toda propriedade não-nutricional que influi na produção e qualidade de um determinado alimento. A maior parte das propriedades funcionais influi no caráter sensorial (principalmente a textura), mas também podem ter um importante papel no comportamento físico dos alimentos, bem como dos ingredientes usados nestes alimentos durante sua preparação, transformação e armazenamento (CHEFTEL et al., 1989).

As proteínas podem ser adicionadas como ingrediente funcional ao alimento para ligar água ou gordura, formar géis ou espuma, emulsificar e alterar o sabor, aparência e dar textura. O tipo de proteína e sua estrutura determinarão suas propriedades (GIESE, 1994).

SCHACHTEL (1981a) observou que os processos de preparação da proteína de *Candida utilis* afetaram a funcionalidade, não meramente por alterar a solubilidade da proteína, mas modificando a disponibilidade dos vários componentes da preparação para atingir seu papel funcional.

OTERO et al. (2000) estudaram o comportamento térmico e propriedades hidrofílicas de proteínas de levedura que foram incubadas a 50°C com a finalidade de dissociar os complexos RNA-proteína.

NEVOL'NICHENKO et al. (1990) citado por FSTA (1991) relataram que o concentrado protéico de *Saccharomyces* apresentou maior capacidade de inchamento em água e gordura que o concentrado protéico de soja, mas com as propriedades de solubilidade, emulsificação e retenção de água menores. A solubilidade do produto e dos componentes protéicos foram melhoradas pela adição de 0,1 - 0,5% de fosfato grau alimentício e uma protease neutra.

O tratamento da proteína de levedura com perclorato de sódio foi eficiente na redução do conteúdo de RNA, mas foi prejudicial para as propriedades hidrofílicas da proteína. O tratamento com trimetafosfato de sódio melhorou as propriedades hidrofílicas, principalmente a capacidade de retenção de água da proteína. Diferentemente do concentrado precipitado no pH isoeletrico e tratado com perclorato, o concentrado tratado com trimetafosfato de sódio formou gel em concentrações relativamente baixas (PACHECO & SGARBIERI, 1998).

1.2.5.1.Solubilidade

A solubilidade pode ser definida como a quantidade de proteína que fica em solução ou dispersão coloidal sob condições específicas e não se sedimenta sob força centrífuga moderada. A solubilidade é um pré-requisito para a maioria das propriedades funcionais e sua determinação sob uma variedade de condições do meio ambiente (pH e força iônica) fornece valiosas informações sobre seu potencial de aplicações (PATEL & FRY, 1987).

Uma importante propriedade funcional de isolados protéicos é sua solubilidade em diversos valores de pH e também serve como um indicador de desnaturação protéica. O perfil de solubilidade pode também sugerir possíveis usos, especialmente em bebidas (VANANUVAT & KINSELLA, 1975).

As alterações físico-químicas do meio podem modificar a solubilidade de uma proteína, porque podem provocar mudanças em sua estrutura quaternária, terciária ou secundária, que é conhecida como desnaturação protéica. Dentre as alterações do meio pode-se citar o calor, o tipo de solvente e o pH. À medida em que a temperatura aumenta e as condições do pH se afastam do pI (pH isoeletrico), tem-se um aumento da solubilidade (FARFÁN, 1994).

A solubilidade das proteínas de levedura, principalmente em valores de pH mais comuns nos alimentos, é muitas vezes inferior ao de outras proteínas como a soja. Contudo, de acordo com o processo de extração, precipitação e secagem, pode-se alterar esta propriedade (HALÁSZ & LÁSZTITY, 1991).

PACHECO & SGARBIERI (1998) relataram uma curva de solubilidade que varia consideravelmente em função do pH para concentrado protéico de levedura preparado por precipitação isoeletrica, extração com perclorato de sódio e com trimetafosfato de sódio. A solubilidade foi maior para a proteína extraída com trimetafosfato de sódio em todos os valores de pH, exceto para o pH 4,0. A proteína extraída por precipitação isoeletrica foi a menos solúvel.

A fosforilação pelo oxiclureto de fósforo, de 30% dos grupos ϵ -amino da lisina de proteínas de levedura, melhorou ligeiramente a sua solubilidade entre o pH 5,5 e 7,0 e aumentou muito sua capacidade de ligar água (HUANG & KINSELLA, 1986b).

O método de precipitação da proteína extraída da levedura *Saccharomyces fragilis* por aquecimento a 80°C, em pH 6,0, reduziu a solubilidade da proteína em aproximadamente 50%, quando comparada à precipitação em pH 4,0 na temperatura ambiente. O aquecimento pode romper as pontes de hidrogênio, afetar as interações hidrofóbicas e oxidar as ligações dissulfídicas, causando alterações na conformação e propriedades da proteína, tornando-a menos solúvel do que a forma nativa (VANANUVAT & KINSELLA, 1975).

OTERO et al., (1996) observaram que tanto o concentrado protéico de levedura como a proteína da parede celular formaram boa emulsão desde condições fortemente ácidas a básicas, indicando excelente solubilidade na faixa inteira de pH. A alta solubilidade permitiu a adoção de conformação compacta para formar filmes superficiais rígidos e estabilizar as partículas de gordura.

1.2.5.2.Capacidade de retenção de água (CRA)

As propriedades que relacionam a interação das proteínas com a água são extremamente importantes. A absorção de água de um componente do alimento determina não somente a aceitabilidade do produto final em termos de textura e suculência, mas também a sua margem de lucro. De acordo com KINSELLA (1976), a capacidade de retenção de água é de grande utilidade na fabricação de produtos cárneos, onde impedem a perda de água no processo de cozimento, em produtos de panificação e em alimentos viscosos como sopas.

A capacidade de ligar água varia com o tipo de proteína, concentração, pH, presença de sais, carboidratos, lipídios e pode ser influenciada por condições prévias de processamento, como por exemplo, aquecimento e tratamento com álcali. Muitas vezes a desnaturação parcial melhora a capacidade de retenção de água, principalmente em proteínas com estrutura muito compacta, onde o desdobramento parcial da estrutura leva à superfície ligações peptídicas e grupos polares que estavam ocultos (CHEFTEL et al., 1989; GIESE, 1994)

A absorção de água de concentrados e isolados protéicos de levedura varia entre 3,0 e 4,0mL/g de amostra. Estes valores são comparáveis ou inferiores à capacidade de absorção de água da proteína de soja não aquecida (KINSELLA, 1976; HALÁSZ & LÁSZTITY, 1991). Já OTERO et al. (1996) relataram valores de capacidade de retenção de água de

concentrado protéico e da proteína da parede celular da levedura superiores ao do isolado protéico de soja.

HUANG & KINSELLA (1986b) observaram que para a faixa de pH estudada (5,0 a 8,0) a capacidade de retenção de água da levedura fosforilada aumentava à medida que se intensificava o processo de fosforilação.

O efeito do processo de preparação nas propriedades funcionais de *Candida utilis* refletiu na capacidade de retenção de água dos preparados. A maior CRA foi observada no preparado de células rompidas em homogeneizador, incubadas por 90 minutos a 52,5°C e precipitadas no ponto isoelétrico. As técnicas para reduzir o RNA não afetaram a CRA. Observaram-se vários fatores envolvidos com esse índice como o pH, grau de proteínas desnaturadas e o tamanho e forma das partículas em função das diferentes preparações (SCHACHTEL, 1981b).

1.2.5.3. Adsorção de água

Indica a capacidade de um material de adsorver água espontaneamente quando exposto a uma atmosfera de umidade relativa constante. Em princípio é um fenômeno superficial. A isoterma de adsorção obtém-se ao colocar o material seco em várias atmosferas de umidade relativa crescente e medindo-se o peso ganho devido à água incorporada. Esta propriedade é de grande importância para os derivados, uma vez que estão envolvidos os processos de secagem e armazenamento.

1.2.5.4. Viscosidade

Viscosidade é uma importante propriedade funcional de proteínas de alimentos. Ela confere estabilidade física a emulsões e outras partículas suspensas em alimentos e contribui diretamente para a sensação do alimento na boca. Alterações nas proteínas, como polimerização, agregação e hidrólise devido ao processamento, afetam a viscosidade dos produtos alimentícios. As concentrações e propriedades físico-químicas inerentes, como peso molecular, hidrofobicidade e conformação de cada proteína, afetam a viscosidade da solução da proteína. As concentrações e propriedades físico-químicas de outros solutos iônicos e não-iônicos também exercem importante influência na viscosidade das soluções

protéicas por contribuírem diretamente na viscosidade e também pela interação e modificação das propriedades físico-químicas das proteínas (SCHENZ & MORR, 1996).

1.2.5.5. Propriedades emulsificantes

Pode-se definir emulsão como uma mistura de dois líquidos imiscíveis, sendo que um é disperso na forma de glóbulos no outro líquido. Existem basicamente dois tipos de emulsão: a) de óleo em água (O/A) como por exemplo salsichas, leite, maionese e b) de água em óleo (A/O) como por exemplo manteiga e margarina (SGARBIERI, 1998).

Para se comparar as propriedades emulsificantes das proteínas pode-se utilizar a análise da capacidade de emulsificação, dada pela relação entre o volume de óleo que se pode emulsionar (mL) e a massa de amostra ou de proteína (g) até que se obtenha uma inversão de fases. A inversão de fases pode ser observada pela queda da viscosidade, mudança de cor (normalmente utilizando-se um corante lipossolúvel) ou pelo aumento de resistência elétrica.

São muitos os fatores que influem nas características das emulsões e nos resultados dos ensaios: tipo e desenho do equipamento, intensidade do aporte energético, velocidade de adição do óleo, volume da fase lipídica, temperatura, pH, força iônica, presença de açúcares, presença de surfactantes de baixo peso molecular, exposição ao oxigênio, características do óleo (ponto de fusão), concentração em proteína solúvel e propriedades emulsificantes da proteína. Estes fatores explicam a dificuldade na comparação de dados obtidos pelos pesquisadores devido à não-padronização das condições de determinação (KINSELLA, 1976).

As proteínas podem ser utilizadas como agentes emulsificantes, contribuindo na formação de emulsões óleo/água e na sua estabilização. A principal característica do agente emulsificante é possuir numa mesma molécula partes hidrofílicas e hidrofóbicas, o que permite a formação de uma camada contínua entre as duas fases, separando-as e impedindo que elas se aglomerem (SGARBIERI, 1996).

Deste modo, as proteínas ficam adsorvidas na interface óleo/água e diminuem a tensão superficial entre as duas fases, permitindo a formação de emulsão com nível mais baixo de energia. A capacidade da proteína formar e estabilizar uma emulsão é crítica para várias

aplicações alimentares como carnes moídas, massas para bolo, cremes para café, maioneses, molhos para saladas e sobremesas congeladas (KINSELLA, 1976)

As propriedades emulsificantes de cinco diferentes preparados de *Candida utilis* foram avaliadas nos valores de pH 5,5 e 6,5. Todas as preparações apresentaram elevada capacidade emulsificante, sendo superiores ao caseinato de sódio. A adição de 3% de NaCl causou uma ligeira redução tanto na capacidade emulsificante como na estabilidade da emulsão dos cinco preparados (SCHACHTEL, 1981b).

Preparações (Torutein-LF e Torutein-94) da levedura tórula (*Candida utilis*) apresentaram capacidade de emulsificação ligeiramente inferior à gema de ovo, quando utilizadas na concentração de 1%. No entanto, em concentrações superiores, a capacidade emulsificante do preparado de levedura foi equivalente à da gema, sendo que a mistura dos componentes (gema e levedura) na mesma proporção resultou em capacidade emulsificante superior aos componentes isolados (SCHNELL & AKIN, 1979).

Concentrados protéicos de *Candida utilis* (68% de proteína) e *Candida tropicalis* (71% de proteína), obtidos por combinação de tratamento mecânico e químico, foram comparados ao concentrado protéico de soja quanto às suas propriedades emulsificantes. A capacidade emulsificante do concentrado protéico de *Candida utilis* (30,0mL de óleo/g proteína) foi quase três vezes maior que o concentrado de *Candida tropicalis* (11,0mL de óleo/g proteína) nas mesmas condições de teste. Todas as amostras revelaram baixa estabilidade de emulsão, sendo que os concentrados protéicos de levedura foram ligeiramente mais estáveis que o concentrado protéico de soja (OKEZIE & KOSIKOWSKI, 1981).

OTERO et al. (1996) observaram um elevado poder na capacidade emulsificante do isolado protéico e da parede celular de levedura, quando comparados com o isolado protéico de soja em diversos valores de pH.

Proteínas de leveduras fosforiladas com oxiclóreto de fósforo mostraram um aumento na capacidade emulsificante, especialmente entre os valores de pH 6 e 7, que reflete o aumento da solubilidade e viscosidade da proteína modificada, sendo, no entanto, inferior à proteína de levedura succinilada (HUANG & KINSELLA, 1987).

A técnica mais comum de se preparar uma emulsão é através da agitação de uma mistura de água, agente emulsificante (proteína) e óleo comestível. Em alguns casos, outros componentes como sal, açúcar, fosfatos e cálcio podem ser adicionados ao sistema. Termodinamicamente todas as emulsões são instáveis e ocorre separação das fases em diferentes tempos. Quanto mais tempo ela permanece inalterada é considerada mais estável.

AOKI & NAGAMORI (1980) citado por FSTA (1982) encontraram que a estabilidade de emulsão e capacidade de emulsificação de proteínas isoladas de três tipos de *Candida utilis*, preparadas por extração alcalina foi superior ao da proteína de soja, especialmente na região levemente ácida.

1.2.6. APLICAÇÃO DA PROTEÍNA DE LEVEDURA EM PRODUTOS CÁRNEOS

A utilização da proteína de levedura em alimentos formulados como agente funcional tem sido bastante estudada. As propriedades funcionais dos alimentos não dependem somente das proteínas, mas também de outros componentes que entrem em sua composição. Normalmente, a medida de uma propriedade funcional em uma proteína purificada ou isolado protéico não representa a mesma contribuição desta proteína para a propriedade funcional em questão, quando medida no próprio alimento (SGARBIERI, 1996).

Vários fatores como polissacarídeos, lipídios, tipo e disposição de aminoácidos, que compõem as proteínas, podem afetar as propriedades funcionais dos concentrados protéicos de levedura. As modificações ocorridas na estrutura da proteína e o grau de desnaturação, ocasionados principalmente pelos métodos de extração, são fatores que causam alterações de suas propriedades físico-químicas e conseqüentemente de sua funcionalidade. Daí a importância do estudo das propriedades funcionais de proteínas extraídas em um sistema complexo como a produção de um produto cárneo.

As proteínas isoladas são freqüentemente disponíveis de várias fontes, sendo que uma das maiores aplicações para estas proteínas é em carnes processadas. O efeito da adição destas proteínas não-cárneas aos embutidos cárneos na aceitabilidade de produto cozido tem sido reportado em literatura e nela não se relacionam as características da carne cozida às propriedades das proteínas utilizadas (TORGERSEN & TOLEDO, 1977).

Proteínas derivadas da soja, milho e trigo têm sido utilizadas em produtos cárneos cominuídos tradicionais (30% gordura) como substitutos da carne. Entre estas proteínas, as proteínas da soja (farinha, concentrados e isolados) são os mais comumente usados em produtos cárneos pelas suas propriedades funcionais e custo relativamente baixo quando comparado com a carne magra. O uso de proteínas não-cárneas nos produtos cárneos nos Estados Unidos da América está limitado a 3,5% para farinhas e concentrados e a 2,0% para isolados (CHIN et al., 1999). No Brasil, permite-se a adição de proteínas não-cárneas de 4,0% (máximo), como proteína agregada nos produtos cárneos como mortadela e salsicha (BRASIL, 2000).

A substituição de 25% da carne em um produto por uma levedura com sabor suave, especialmente produzida, aumentou a capacidade de emulsificação da carne, e o produto com levedura foi comparado favoravelmente com o de outros suplementos (SCHNELL & AKIN, 1979).

Preparações protéicas de leveduras de cerveja em embutidos semi-secos típicos da Sérvia, apresentaram cores mais claras que o controle, mesmo após estocagem, tendo sido a mais clara a obtida com mistura de 20 partes de proteína de soja/ 80 partes de levedura de cerveja (GRUJIC et al., 1990). Já MEZEINE-DUDONISZ-W, (1988) citado por FSTA (1988), usando leveduras e seus derivados como suplemento protéico em vários produtos cárneos (embutidos frescos e secos, embutido de figado), melhoraram a qualidade sensorial dos produtos e sua capacidade de retenção de água e gordura e ainda nenhum odor estranho foi observado.

JIMÉNEZ et al. (1998) definiram uma tecnologia de obtenção de extrato de levedura e na utilização em mortadela nos níveis de 0,5% e 1,0% e encontraram uma melhor qualidade em teste sensorial por ordenação para os produtos contendo o extrato. No teste hedônico, onde 5= gostei muito, 4= gostei um pouco, 3=não gostei nem desgostei, 2= desgostei um pouco e 1= desgostei muito, as mortadelas foram qualificadas como gostei um pouco.

TORGERSEN & TOLEDO (1977) concluíram que, para as quatro proteínas estudadas (concentrado protéico de soro, proteína de amendoim, pó colorido de levedura desenvolvida em álcool etílico, proteína de *chicken preen gland*), as proteínas mais desejáveis para uso

como um aditivo em carnes cominuídas eram aquelas que possuíam boa força de gel quando aquecidas em uma suspensão aquosa a 5% e resfriada; aquelas que tinham alta capacidade de absorção de água a 90°C; e aquelas que mostravam aumento de solubilidade com o aumento da temperatura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOKI, H.; NAGAMORI, N. Emulsifying properties of single-cell proteins. **Journal of Japanese Society of Food Science and Technology**, v.27, n.11, p.550-558, 1980.

Apud: FSTA 82-11-G0808.

ARRIOLA, M.C.; ZEPEDA, M.; ROLZ, C. A protein concentrate from distillery and its application to suplement corn tortillas. **Archivos Latinoamericano de Nutricion**, Guatemala, v.39, n.4, p.565-575, 1989.

BABAYAN, T.; BEZEUKOV, M.G.; LOTOV, V.K.; BELIKOV, V.M.; BELAVTSEVA, E.M.; TITOVA, E.F. Induced autolysis of *Saccharomyces cerevisiae*: Morphological effects, rheological effects and dynamics of accumulation of extracellular hydrolysis products. **Current Microbiology**, New York, v.5, p. 163-168, 1981.

BEHELOVÁ, B.; BLAHOVÁ, M.; SILLINGER, V.; MACHEK, F. Comparison of various ways of extraction of nucleic acids and of preparation of yeast extract from *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida utilis*. **Acta Biotechnologica**, Ogy, v.11, n.6, p. 547-552, 1991.

BELEM, M.A.F.; GIBBS, B.F.; LEE, B.H. Enzymatic production of ribonucleotides from autolysate of *Kluyveromyces fragilis* grown on whey. **Journal of Food Science**, Chicago, v.62, n.4, p.851-857, 1997.

BENASSI, V. T.; CAMARGO, C. R. O.; CIACCO, C.F. Caracterização química e redução do conteúdo de ácidos nucléicos das células de levedura (*Saccharomyces spp.*) provenientes da produção de álcool de cana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.10, n.2, p.249-260, 1990.

- BRASIL. Leis, decretos, etc. Instrução Normativa n.4, de 31 de março de 2000. Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Lingüiça e de Salsicha. **Diário Oficial da União**, Brasília, 05.04.2000, Seção 1, p.6-10
- CABALLERO-CÓRDOBA, G.M.; SGARBIERI, V.C. Nutritional and toxicological evaluation of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) biomass and a yeast protein concentrate. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.80, n.3, p. 341-351, 2000.
- CASTRO, A.C.; SINSKEY, A.J.; TANNENBAUM, S.R. Reduction of nucleic acid content in *Candida* yeast cells by bovine pancreatic ribonuclease A treatment. **Applied Microbiology**, Washington, v. 22, n. 3, p.422-427, 1971.
- CHAE, H.J.; JOO, H.; IN, M. Utilization of brewer's yeast cells for the production of food-grade yeast extract. Part 1: Effects of different enzymatic treatments on solid and protein recovery and flavor characteristics. **Bioresource Technology**, Oxford, v.76, n.3, p.253-258, 2001.
- CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.L.; LORIENT, D. **Proteínas alimentarias: bioquímica – propiedades funcionales – valor nutricional – modificaciones químicas**. Zaragoza: Ed. Acribia, 1989, 346p.
- CHIN, K.B.; KEETON, J.T.; LONGNECKER, M.T.; LAMKEY, J.W. Utilization of soy protein isolate and konjac blends in a low-fat bologna (model system). **Meat Science**, Oxford, v. 53,p. 45-57, 1999.
- CUNNINGHAM, S.D.; CATER, C.M.; MATTIL, K.F.; VANDERZANT, C. Rupture and protein extraction of petroleum-grown yeast. **Journal of Food Science**, Chicago v. 40, n.4, p.732-735, 1975.
- DAMODARAN, S.; KINSELLA, J. E. The use of chaotropic salts for separation of ribonucleic acids and proteins from yeast nucleoproteins. **Biotechnology & Bioengineering**, New York, v. 25, n.3, p.761-770 , 1983.

- DAMODARAN, S.; KINSELLA, J. E. Dissociation of yeast nucleoprotein complexes by chemical phosphorylation. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.32, n.5, p.1030-1032, 1984.
- DZIEZAK, J.D. (ed). Yeasts and yeast derivatives: applications. **Food Technology**, Chicago, v.41, n.2 , p.122-125, 1987.
- ELLINGER, R.H. Phosphates in food processing. In: FURIA, T.E. **CRC Handbook of food additives**. 2 ed. Cleveland: CRC Press, P. 617-780, 1972.
- ENGLER, C.R. New method of measuring cell-wall rupture. **Biotechnology & Bioengineering**, New York, v. XXI, n.10, p.1861-1869, 1979.
- FAO/WHO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Protein quality evaluation**. Rome, 1989. 27p. (Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation, Food and Nutrition Paper, n.51)
- FARFÁN, J.A. **Química de proteínas aplicada à ciência e tecnologia de alimentos**. Ed. Unicamp, Campinas, 1994, 134p.
- FILHO, D.L.; GHIRALDINI, J. A.; ROSSELL, C. E. V. Estudos de otimização da recuperação de biomassa de levedura em destilarias. In: **"Workshop" Produção de biomassa de levedura: utilização em alimentação humana e animal**. Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 1996.
- FURCO, A. M. Produção de biomassa de levedura em destilarias de álcool. In: **"Workshop" Produção de biomassa de levedura: utilização em alimentação humana e animal**. Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 1996.
- GIEC, A.; STASINSKA, B.; SKUPIN, J. A protein isolate for food by phosphorylation of yeast homogenate. **Food Chemistry**, Washington, v.31, n.4, p.279-288, 1989.
- GIESE, J. Proteins as ingredients: types, functions, applications. **Food Technology**, Chicago, v. 58, n.10, p.50-60, 1994.

- GIERHART, D. L.; POTTER, N.N. Effects of ribonucleic acid removal methods on composition and functional properties of *Candida utilis*. **Journal of Food Science**, Chicago, v.43, n.6, p.1705-1713, 1978.
- GRUJIC, R.; PETROVIC, L.; MULALIC, N. Effects of addition of soy protein or brewers' yeast protein on colour changes of semi-dry sausages. **Tehnologija-Mesa**; v. 31, n.6, p.208-212,1990. Apud FSTA 91-09-S0123, 1990.
- GUZMAN-JUAREZ, M. In: HUDSON, B.J.F. **Development in food proteins 2**. Applied Science Publishers, London, Cap.7, p.263-291, 1983, 339p.
- HALÁSZ, A.; BARÁTH, Á.; MÁTRAI, B. Yeast as a human protein source. **Acta Alimentaria**, Budapest, v.17, n.4, p.375, 1988.
- HALÁSZ, A.; LÁSZTITY, R. **Use of yeast biomass in food production**. Boca Raton: CRC Press, 1991, 312p.
- HEDENSKOG, G.; MOGREN, H. Some methods for processing of single-cell protein. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, vol. XV, n.1, p.129-142, 1973.
- HERNAWAN, T.; FLEET, G. Chemical and cytological changes during the autolysis of yeasts. **Journal of Industrial Microbiology**, Basingstoke, v.14, n.6, June, p. 440-450, 1995.
- HOBSON, J.C.; ANDERSON, D.A.G. Method of preparing yeast extract containing hydrolyzed non-yeast protein with yeast autolytic enzymes. **Biotechnology Advances**, New York, Patent n. 5427921, v.14, n.3, p. 351, 1996.
- HUANG, Y. T. Chemical phosphorylation of yeast protein: chemistry and functional properties. **Dissertation Abstracts International -B**, v.46, n.1, p.13-14, 1985. Order n. DA8504479, 355p. Apud: FSTA 86-10-A0038.
- HUANG, Y. T.; KINSELLA, J. E. Phosphorylation of yeast protein: reduction of ribonucleic acid and isolation of yeast protein concentrate. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v.28, n.11, p.1690-1698, 1986a.

- HUANG, Y. T.; KINSELLA, J. E. Functional properties of phosphorylated yeast protein: solubility, water-holding capacity and viscosity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.34, n.4, p.670-674, 1986b.
- HUANG, Y.T.; KINSELLA, J.E. Effects of phosphorylation on emulsifying and foaming properties and digestibility of yeast protein. **Journal of Food Science**, Chicago, v.52, n.6, p.1684-1688, 1987.
- HUGHES, D.E.; WINPENNY, J.W.T.; LLOYD, D. The desintegration of microorganisms. In: NORRIS, J.R.; RIBBONS, D.W. **Methods in Microbiology**. London: Academic Press, 1971, v.5B, 695p.
- IEE – INSTITUTO DE ELETROTÉCNICA E ENERGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Cana-de-açúcar no Brasil. [online]. [extraído em : 26.08.02]. URL: <http://infoener.iee.usp.br/scripts/biomassa/br_cana.asp>.
- JIMÉNEZ, R.; ACOSTA, M.; DIÁZ, C. Obtencion y utilizacion de autolizado de levadura. **Alimentaria**, Madrid, v.36, n.289, Enero-Febrero, p. 99-103, 1998.
- JONES, E.W. Three proteolytic systems in the yeast *S. cerevisiae*. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.266, n.13, p.7963-7966, 1991.
- KAMEL, B.S.; KRAMER, A. Effect of consuming foof supplemented with single cell protein on urine and serum uric acid levels. **Journal of Food Quality**, Westport, v.2, n.2, p.113-121, 1978.
- KIHLBERG, R. The microbe as a source of food. In: CLIFTON,C.E.; RAFFEL, S.; STARR, M.P. (eds). **Annual Review of Microbiology**, Annual Reviews Inc. Palo Alto, v.26, n.4, p.426-465, 1972.
- KINSELLA, J. E. Functional properties in foods; a survey. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 7, n. 3, p. 219-280, 1976.
- KINSELLA, J. E. Functional proteins from yeast nucleoprotein for uses. Methods for isolation. In: KNORR, D. **Food Biochemistry**. New York, Marcel Dekker, 1987. p. 363-

391, cap. 14.

KINSELLA, J. E.; SHETTY, K.J. Yeast protein recovery, nutritional and functional properties. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, New York, v.107, n.5, p.797-825, 1978.

KNORR, D.; SHETTY, K.J.; HOOD, L.F.; KINSELLA, J.E. An enzymatic method for yeast autolysis. **Journal of Food Science**, Chicago, v.44, n.5, p.1362-1365, 1979.

KOLLAR, R.; STURDIK, E.; SAJBIDOR, J. Complete fractionation of *Saccharomyces cerevisiae* biomass. **Food Biotechnology**, New York, v.6, n.3, p.225-237, 1992.

LEE, H. O. **Fundamentals of food biotechnology**. New York, V.C.H.Publishers, 1996, 431p.

LINDBLOM, M.; MOGREN, H. Enzymatic RNA reduction in disintegrated cells of *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v.16, n.8, p.1123-1133, 1974.

McCORMICK, R. Unconventional protein sources diversity development choices. **Prepared Foods**, Chicago, p.135-136, 1987.

McELWAIN, M. D.; RICHARDSON, T.; AMUNDSON, C.H. Some functional properties of succinylated single cell protein concentrate. **Journal of Milk Food Technology**, Amex, v.38, n.9, p.521-526, 1975.

MARTINI, A. E. V.; MILLER, M.W.; MARTINI, A. Amino acid composition of whole cells of different yeasts. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v.27, n.5, p.982-984, 1979.

MATHEIS, G. Phosphorylation of food proteins with phosphorus oxychloride – Improvements of functional and nutritional properties: A review. **Food Chemistry**, Washington, v.39, n.1, p.13-26, 1991.

- MATHEIS, G.; WHITAKER, J.R. Chemical phosphorylation of food proteins: An overview and a prospectus. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.32, n.4, p.699-705, 1984.
- MATOBA, T.; DOI, E. In vitro digestibility of succinylated protein by pepsin and pancreatic proteases. **Journal of Food Science**, Chicago, v.44, n.2, p.537-539, 1979.
- MEZEINE-DUDONISZ-W.. "Functional properties of yeast derivatives and their application in the meat industry". **Szeszipar-**; n.1, 4-8, 1988. Apud FSTA 90-04-S0004, 1988.
- MOHAMED, S.; LAJIS, S.M.M.; HAMID, N.A. Effects of protein from different sources on the characteristics of sponge cakes, rice cakes (apam), doughnuts and frying batters. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.68, n.3, p.271-277, 1995.
- MOURA, E.C.V. Fontes protéicas não convencionais: perspectivas do seu emprego na alimentação. In: NOBREGA, F.J. **Desnutrição intrauterina e pós-natal**. 2 ed. Panamed Editorial, São Paulo, p.43-63, 1986.
- NAUMENKO, N.I.; GORDIENKO, S.V. Study of autolysis of the yeast. *Saccharomyces cerevisiae* grown on ethanol. **Applied Biochemistry and Microbiology**, New York, v.21, n.6, p.577-580, 1985.
- NEVOL'NICHENKO, A. F.; PRITUL'SKAYA, N. V.; KRAVCHENKO, M.F.; PAVLYUCHENKO, Y.U.P. Functional properties of food protein concentrate from *Saccharomyces* yeast. **Tovarovedine**, 23, 39-41, 1990. Apud:FSTA 91-06-G0012.
- NEWELL, J. A.; ROBBINS, A. E ; SEELEY, R.D. U. S. Patent nº 3,867,555, 1975
- OKEZIE, B.O.; KOSIKOWSKI, F.V. Extractability and functionality of protein from yeast cells grown on cassava hydrolysate. **Food Chemistry**, Barking, v.7, n.1, p.7-18, 1981.
- OTERO, M.A.; VASALLO, M. del C.; VERDECIA, O.; FERNANDEZ, V.; BETANCOURT, D. A process for the complete fractionation of baker's yeast. **Journal of Chemistry Technology and Biotechnology**, Osney Mead, v.67, n.1, p.67-71, 1996.

- OTERO, M.A.; WAGNER, J.R.; VASALLO, M.C.; GARCIA, L.; AÑÓN, M.C. Thermal behavior and hydration properties of yeast proteins from *Saccharomyces cerevisiae* and *Kluyveromyces fragilis*. **Food Chemistry**, Washington, v.69, n.2, p. 161-165, 2000.
- OUTRRUP, H.; BOYYCE, C.O. **Microbial proteinases and biotechnology**. In: FOGARTY, W.M.; KELLY, C.T. (eds). Elsevier Applied Science, London, p.227-254, 1990.
- PACHECO, M.T.B. **Propriedades funcionais, nutricionais e toxicológicas de concentrados protéicos de levedura (*Saccharomyces sp*), obtidos por diferentes processos de extração**. Campinas, SP, 1996. Tese (Doutorado em Ciência da Nutrição). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Unicamp.
- PACHECO, M.T.B.; SGARBIERI, V. C. Hydrophilic and rheological properties of brewer's yeast protein concentrates. **Journal Food Science**, Chicago, v.63, n.2, p.1-6, 1998.
- PATEL, P.D.; FRY, J.C. The search for standardised methods for assessing protein functionality. In: HUDSON, B.J. **Developments in food protein – 4**. London, Elsevier Applied Science, 1987, 341p.
- REED, G.; NAGODAWITHANA, T.W. **Yeast Technology**, 2nd ed., Van Nostrand Reinhold, New York, p.369-445, 1991.
- SALGADO, J.M.; SARRUGE, J. R. Efeito da lavagem sobre a qualidade do concentrado protéico obtido em destilaria de álcool. **Revista Brasileira de Tecnologia**, São Paulo, v.7, p.339-344, 1976.
- SARWAR, G.; SHAH, B.G.; MONGEAU, R.; HOPNER, K. Nucleic acid, fiber and nutrient composition of inactive dried food yeast products. **Journal of Food Science**, Chicago, v.50, n.2, p.353-357, 1985.
- SCHACHTEL, A.P. Assessment of the changes in *Candida utilis* proteins produced by preparative processes. **Journal Food Science**, Chicago, v.46, n.6, p.1822-1825, 1981a.

- SCHACHTEL, A. P. Effects of preparative process on the composition and functional properties of protein preparations from *Candida utilis*. **Journal of Food Science**, Chicago, v.46, n.2, p.377-382, 1981b.
- SCHAY, L.K.; WEGNER, G.H. Improved fermentation process for producing *Torula* yeast. **Food Technology**, Chicago, v. 39, n.1, p. 61-65, 1985.
- SCHENZ, T.W.; MORR, C.V. Viscosity. In: **Methods of testing protein functionality** . G.M. Hall Blackie Academic & Professional, 1996, 265p.
- SCHNELL, P.G.; AKIN, C. Functional properties of yeast grown on ethyl alcohol. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Champaign, January, v.56, n.1, p. 82A-85A, 1979.
- SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo, Varela, 1996. 517p.
- SGARBIERI, V.C. Propriedades funcionais de proteínas em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.32, n.1, p.105-136, 1998.
- SGARBIERI, V.C.; ALVIM, I.D.; VILELA, E.S.D.; BALDINI, V.L.S.; BRAGAGNOLO, N. Produção piloto de derivados de levedura (*Saccharomyces sp.*) para uso como ingrediente na formulação de alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.2, n.1,2, p.119-125, 1999.
- SHETTY, J.K. ; KINSELLA, J. E. Preparation of yeast protein isolate with low nucleic acid by succinylation. **Journal of Food Science**, Chicago, v.44, n.3, p.633-638, 1979
- SHETTY, J.K.; KINSELLA, J.E. Lysinoalanine formation in yeast isolated by alkaline methods. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.28, n.4, p.799-800, 1980.
- SHETTY, J.K.; KINSELLA, J.E. Isolation of yeast protein with reduced nucleic acid level using reversible acylating reagents: Some properties of the isolated protein. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.30, n.6, p.1166-1171, 1982.

- SOMBUTYANUCHIT, P.; SUPHANTHARIKA, M.; VERDUYIN, C. Preparation of 5'-GMP-rich yeast extracts from spent brewer's yeast. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford,. v.17, n.2, p. 163-168, Mar. 2001.
- SUNG, H.; CHEN, H.; LIU,T.; SU, J. Improvement of the functionalities of soy protein isolate through chemical phosphorylation. **Journal of Food Science**, Chicago, v.48, n.3, p.716-721, 1983.
- SUPHANTHARIKA, M.; VARAVINIT, S.; SHOBSNGOB, S. Production of yeast extract containing hydrolysed non-yeast protein. **Foods Food Ingredients Journal Jpn.**, Osaka, n. 181, p. 70-75, 1999.
- TORGERSEN, H.; TOLEDO, R.T. Physical properties of protein preparations related to their functional characteristics in comminuted meat systems. **Journal of Food Science**, Chicago, v.42, n.6, p.1615-1620, 1977.
- VANANUVAT, P.; KINSELLA, J.E. Some functional properties of protein isolates from Yeast, *Saccharomyces fragilis*. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.23, n.4, 1975.
- VANANUVAT, P.; KINSELLA, J.E. Preparation of succinylated yeast protein: composition and solubility. **Biotechnology & Bioengineering**, New York, v.20, n.9, p.1329-1344, 1978.
- VASALLO, M.C.; OTERO, M.A.; GARCÍA, L.; DOPICO, J.R.; LÓPEZ, J.C. Effect of homogenization as pretreatment for the improvement of autolysis efficiency of *Kluyveromyces fragilis*. **Food Science and Technology International**, London, v.7, n.5, p.445-450, 2001.
- 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*). **Revista de Nutrição**, Campinas, v.13, n.3, p.185-192, set./dez., 2000.
- WASLIEN, C.I.; CALLOWAY, D.; MARGEN, S.; COSTA, F. Uric acid levels in men fed algae and yeast as protein sources.**Journal Food Science**,Chicago, v.35, n.3, p294, 1970

CAPÍTULO 2

**PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, DE ÁCIDOS GRAXOS
E DE MINERAIS DE DERIVADOS DE LEVEDURA (*Saccharomyces*
sp.) PROVENIENTES DE DESTILARIA DE ÁLCOOL**

RESUMO

O objetivo deste estudo foi desenvolver uma metodologia para obtenção em escala piloto de autolisado (AUT) e de extrato (EXT) e, em escala laboratorial, de um concentrado protéico fosforilado (CPF) de levedura (*Saccharomyces sp.*) de fermentação etanólica. Tanto a levedura íntegra como o autolisado e extrato foram desidratados em *spray dryer*, enquanto o concentrado protéico foi liofilizado. O rendimento do processo foi, em média, de 45,3kg de extrato e de 94,5kg de autolisado seco, enquanto o rendimento de concentrado protéico fosforilado foi de 19,8kg de sólidos a partir de 100kg de levedura seca. Os teores de proteína encontrados foram de 40,4; 48,6 e 62,6% para AUT, EXT e CPF; fibra alimentar total de 33,2; 3,3 e 6,0% também para AUT, EXT e CPF, respectivamente. As diferenças nos processos de obtenção dos derivados proporcionaram diferenças na composição mineral, apresentando uma elevação dos teores de fósforo e sódio nos derivados em relação à levedura íntegra.

2.1. INTRODUÇÃO

A levedura é reconhecida como excelente fonte de proteínas, vitaminas do complexo B, minerais essenciais e fibra dietética (REED & NAGODAWITHANA, 1991).

O Brasil é o maior produtor mundial de álcool de cana-de-açúcar, com uma produção de 12 milhões de m³ de álcool anidro e hidratado na safra de 1999/00 (IEE, 2002), e que usa levedura na transformação do açúcar em álcool. Este processo pode gerar 240.000ton./ano de levedura (FURCO, 1996) como subproduto, que é normalmente descartado ou usado somente em ração animal. A sangria do leite de levedura é a prática mais comum realizada pelas usinas e consiste em desviar parte do leite centrifugado do processo de fabricação alcoólica. Sangrias da ordem de 20 a 80kg/m³ de álcool produzido não acarretam prejuízos no rendimento fermentativo. A prática operacional tem indicado valores entre 20 e 30 kg/m³ de álcool produzido (LAHR FILHO et al., 1996).

A fim de fazer melhor uso destas leveduras e diminuir a poluição ambiental gerada pela indústria alcooleira nacional, têm sido conduzidos estudos para extração e recuperação de proteínas de leveduras (SALGADO & SARRUGE, 1976 ; LAHR FILHO et al., 1996 ;

BENASSI et al., 1990). Saliente-se a importância dos estudos direcionados para o aproveitamento dos componentes de levedura como fonte de alimentos para consumo humano, uma vez que hoje é utilizada somente como complemento em alimentação animal.

Em princípio, a biomassa de levedura pode ser usada de diferentes formas. Porém, a forma mais simples é a utilização da célula íntegra. A destruição parcial da parede celular permite ainda remoção dos componentes adversos às propriedades do produto final, além da extração seletiva e concentração de componentes, tais como as proteínas.

Vários métodos químicos, físicos e enzimáticos têm sido propostos para o rompimento e/ou remoção da parede celular (HUGHES et al., 1971; KIHLEBERG, 1972; CUNNINGHAM et al., 1975; KINSELLA & SHETTY, 1978; CHAE et al., 2001).

A autólise de levedura é considerada um processo irreversível, resultando na morte da célula. Durante o decorrer da autólise a atividade das enzimas respiratórias diminui, enquanto a atividade das hidrolases aumenta. Tem-se, então, uma hidrólise gradual do material citoplasmático e os produtos decompostos são liberados no espaço extracelular. (BABAYAN et al., 1981).

A autólise da levedura pode ser induzida por fatores como temperatura, adição de plasmolizantes, atrito mecânico e outros que facilitem o rompimento da membrana citoplasmática e ativem as enzimas intracelulares (BABAYAN et al., 1981). A temperatura auxilia no processo de autólise, desde que se trabalhe na faixa de melhor atividade das enzimas hidrolíticas intracelulares que irão auxiliar o rompimento da parede celular. Esta temperatura está em torno de 40-55°C (LEE, 1996). Os agentes plasmolizantes, etanol e cloreto de sódio entre outros, auxiliam no processo de autólise, desde que não alterem a atividade das enzimas intracelulares. O uso de álcool etílico como plasmolizante permite um rendimento de autólise consideravelmente alto, sendo que o maior rendimento obtido foi quando se utilizou a concentração de 5% (p/p), em relação ao total de biomassa mais água e 1% de cloreto de sódio (p/p). Além de usar álcool etílico e cloreto de sódio, KOLLAR et al. (1992) utilizaram como ativador da autólise uma suspensão de material pré-autolisado na concentração de 15% (v/v), o que também aumentou o rendimento de autólise,

supostamente pelas enzimas intracelulares do pré-autolisado que já estavam liberadas e auxiliaram no rompimento de novas células.

A linha de produção de concentrados protéicos exige, como primeira etapa, a ruptura das paredes celulares, que pode ser feita por processo enzimático como na autólise, ou por processo mecânico. A ruptura mecânica apresenta vantagens por ser mais rápida, possibilitar a obtenção de proteínas com um mínimo de degradação e resultar em melhores propriedades funcionais do produto final (concentrado protéico). A desintegração mecânica pode ser conduzida por vários meios como em homogeneizador convencional, desintegrador de alta pressão, exposição ao ultra-som e desintegrador tipo moinho de bolas (ENGLER, 1979).

Autolisados e extratos de levedura têm sido tradicionalmente usados na indústria alimentícia como saborizantes de sopas, molhos, produtos de panificação e produtos cárneos (DZIEZAK, 1987a; HALÁSZ & LÁSZTITY, 1991).

Embora a utilização de proteína obtida de levedura seja muito promissora, existem alguns fatores que limitam o seu uso em alimentos para consumo humano. De acordo com SARWAR et al. (1985), 12-16% do nitrogênio total da levedura é procedente de ácidos nucléicos. Sabendo que a ingestão máxima recomendada de ácido nucléico, para o organismo humano, é da ordem de 2g/dia, é importante avaliar uma forma de se reduzir a sua ingestão (SARWAR et al., 1985). Além de possuir um elevado teor de ácidos nucléicos, as células íntegras da levedura possuem uma digestibilidade baixa devido à sua espessa parede celular, sendo este mais um fator limitante de seu uso na alimentação de monogástricos (WASLIEN et al., 1970, SHETTY & KINSELLA, 1982).

OTERO et al. (1996) relataram a obtenção de concentrado protéico com baixos teores de RNA (3,0%) após incubação por 1 hora a 50°C, o que permitiu a ação de nucleases nativas sobre os ácidos nucléicos da levedura, principalmente RNA, reduzindo assim o conteúdo deste no produto final.

Desta forma é imprescindível adotar procedimentos durante os processamentos visando à redução de ácidos nucléicos. CHEN et al. (1991) propuseram a fosforilação química da proteína de levedura (*Saccharomyces uvarum*) precipitando-a no pH isoeletrico (4,2) e reduzindo o teor de RNA de 22% para 5%. Em outro experimento realizado, os isolados

protéicos obtidos desta maneira apresentaram propriedades funcionais melhores (GIEC et al., 1989).

Por conseguinte, o aproveitamento da levedura *Saccharomyces sp.* produzida como biomassa bruta nas indústrias alcooleiras, para fins alimentícios, necessita de imediato aprimoramento tecnológico visando ao seu processamento e à obtenção de derivados praticáveis em escala industrial.

O objetivo deste estudo foi desenvolver uma metodologia para obtenção de autolisado (AUT) e de extrato (EXT) em escala de planta piloto e em escala laboratorial de concentrado protéico fosforilado (CPF) a partir de levedura (*Saccharomyces sp.*) de destilaria de álcool e avaliar a sua composição.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Processo de lavagem da biomassa de levedura

A biomassa de levedura (*Saccharomyces sp.*), coletada sem sofrer o processo de termólise, foi recebida da usina São José Zillo Lorenzetti (Macatuba-SP), em suspensão de aproximadamente 20% de células. Esta suspensão foi diluída (1:1) com água da rede de abastecimento municipal e centrifugada em centrífuga contínua, de pratos ALFA LAVAL, tipo BRPX 20739S60 (3500xg, fluxo de 150kg/h e descarga a cada 5 minutos), obtendo-se um sedimento de biomassa e um sobrenadante (água de saída). Esta água foi recirculada na centrífuga, obtendo-se uma suspensão concentrada de células que foi juntada à biomassa, sendo a água (sobrenadante) descartada.

A biomassa foi desidratada em *spray dryer* Niro Atomizer CB3 104D com a câmara a $180^{\circ}\pm 5^{\circ}\text{C}$ na entrada e saída a $80^{\circ}\pm 5^{\circ}\text{C}$. A seqüência completa das operações para obtenção da levedura íntegra desidratada é ilustrada na Figura 2.1.

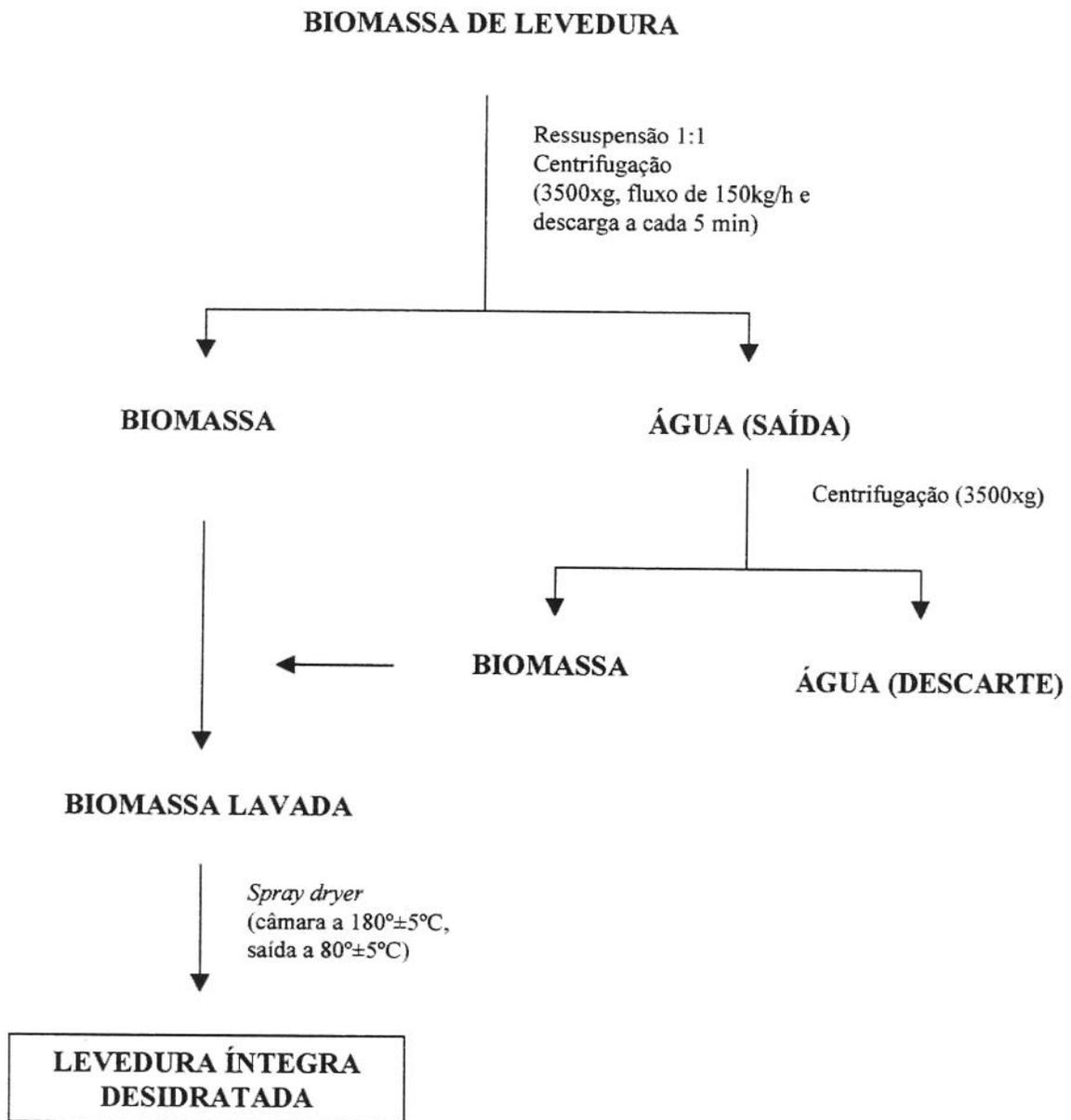


Figura 2.1. Fluxograma do preparo (lavagem e coleta) da biomassa

2.2.2. Autólise da levedura íntegra e fracionamento do autolisado

A levedura íntegra lavada desidratada foi ressuspensa em água (10% p/p) e depois adicionada de alguns agentes autolisantes e plasmolizantes, a saber: 15% de um pré-autolisado, 7% de etanol e 2% de NaCl. A mistura ajustada ao pH 5,5 foi levada para fermentador de 250L (New Brunswick – IF250), onde foi mantida à temperatura de 55°C por 24 horas, sob agitação mecânica. A autólise foi interrompida por aquecimento a 85°C por 15 minutos. O autolisado após secagem em *spray dryer* se transformou no autolisado desidratado (AUT). Parte do autolisado foi submetido a um fracionamento por centrifugação (centrífuga de pratos – 3500xg, fluxo de 150kg/h e descarga a cada 5 minutos), para obtenção da fração insolúvel (parede celular bruta) e da fração solúvel (extrato de levedura). A seqüência das várias operações está ilustrada na Figura 2.2.

A fração insolúvel (parede celular), obtida pela centrifugação do autolisado, foi ressuspensa em água (10% p/p) e em seguida desidratada em *spray dryer* Niro Atomizer CB3 104D para obtenção da parede celular bruta desidratada.

A fração solúvel (extrato) foi concentrada por aquecimento até 60°C (sob vácuo) até 20-25% de sólidos (p/p), adicionada de 25% de maltodextrina em relação ao total de sólidos e em seguida desidratada em *spray dryer* Niro Atomizer CB3 104D com a câmara a 180±5°C e saída a 80±5°C, para obtenção do extrato (EXT) de levedura desidratado.

2.2.3. Rompimento celular em moinho Dyno Mill

Para promover o rompimento celular foi utilizado um moinho de esferas de vidro (Dyno Mill tipo KDL-PILOT). O rompimento da parede celular se dá pelo atrito, mais o impacto das esferas de vidro com as paredes celulares. Neste procedimento, utilizaram-se velocidade do moinho de 2.400rpm, esferas de 0,6 – 0,9mm de diâmetro, ocupando 70% do volume da câmara do moinho, suspensão de células a 10%, ajustando-se pH 9,5 com hidróxido de sódio e fluxo de 4,8L/hora. A temperatura da suspensão de levedura foi mantida (até 25°C) com o auxílio de líquido refrigerante (água/etilenoglicol), circulando pela camisa dupla ao redor da câmara do moinho.

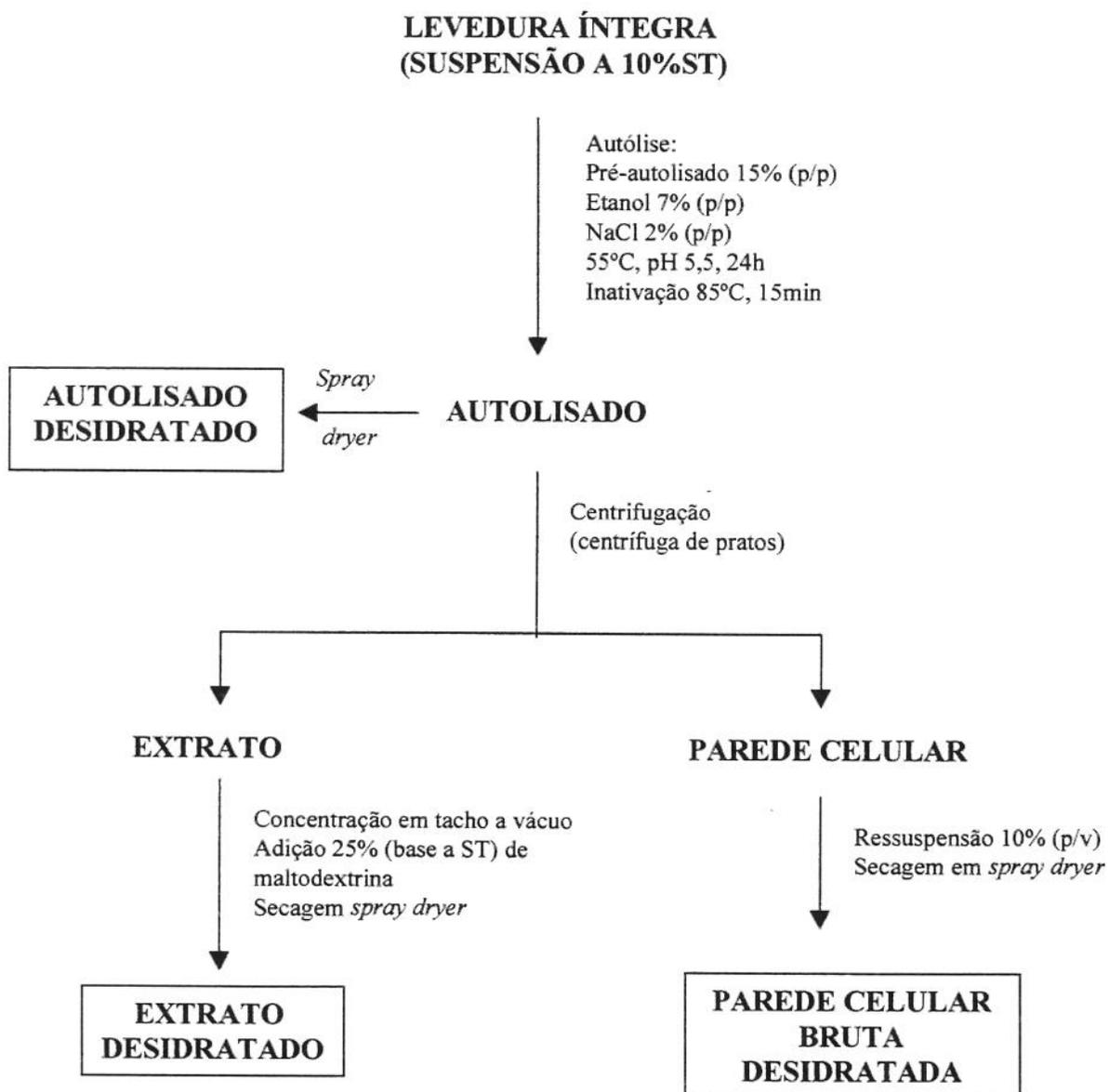


Figura 2.2. Fluxograma do processo de autólise, fracionamento e desidratação das frações de levedura, solúvel (EXT) e insolúvel (PC)

O processo de ruptura foi avaliado pela quantidade de proteína solúvel extravasada das células rompidas através da dosagem de nitrogênio total na suspensão (10%) inicial de levedura íntegra e no sobrenadante da suspensão de células rompidas e centrifugada após cada circulação. Foi determinado o teor de proteína total após a precipitação com ácido tricloroacético a 10% (Figura 2.3).

2.2.4. Concentrado protéico fosforilado (CPF) de levedura (produção em escala de laboratório)

Para a obtenção do concentrado protéico fosforilado, a suspensão de células rompidas foi centrifugada (5300xg por 15 minutos) e a fração solúvel foi elevada ao pH 11,0 com NaOH, e em seguida, tratada com trimetafosfato de sódio anidro ($\text{Na}_3\text{P}_3\text{O}_9$) Solutia, grau alimentar (4% p/p) durante 3 horas a 35°C. A proteína fosforilada foi precipitada em pH 3,2 , sendo separada por centrifugação. O precipitado obtido, depois de lavado, foi ressuspensão, neutralizado a pH 7,0 com solução de NaOH e liofilizado. A seqüência de operações para obtenção do concentrado protéico fosforilado de levedura é mostrada na Figura 2.4.

2.2.5. Concentrado protéico tratado termicamente (CPT) de levedura (produção em escala de laboratório)

Visando à obtenção de concentrado protéico com baixo teor de RNA, procedeu-se a uma incubação da fração solúvel da levedura a 50°C. Esta etapa foi realizada para permitir a ação de nucleases nativas sobre os ácidos nucléicos da levedura, principalmente RNA, e reduzir assim o conteúdo no produto final.

Para a obtenção deste concentrado protéico, após o rompimento celular em moinho DynoMill, com separação da fração solúvel por centrifugação, esta foi submetida a um tratamento térmico de 50°C por 20 minutos, inativação a 75°C, 10 minutos, resfriamento através de serpentina em gelo e a proteína precipitada por abaixamento do pH (pH 3,8). As etapas da obtenção deste derivado estão apresentadas no fluxograma da Figura 2.5.

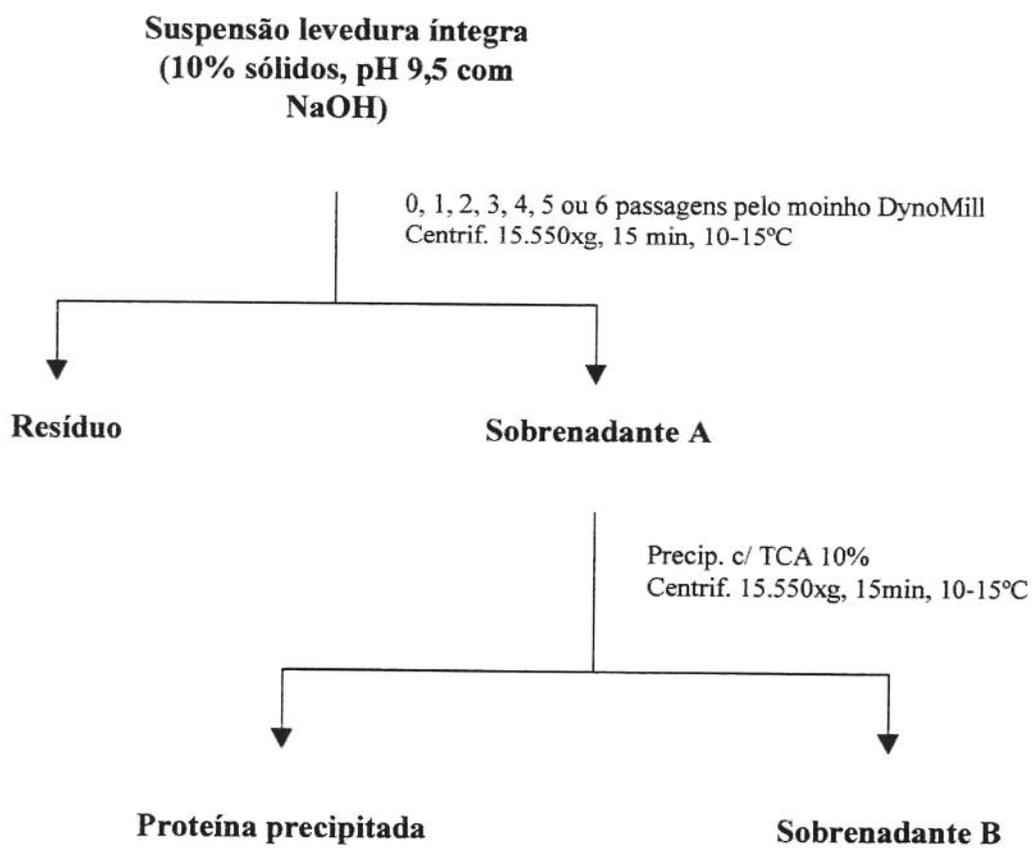


Figura 2.3. Fluxograma do processo para avaliação do rompimento celular

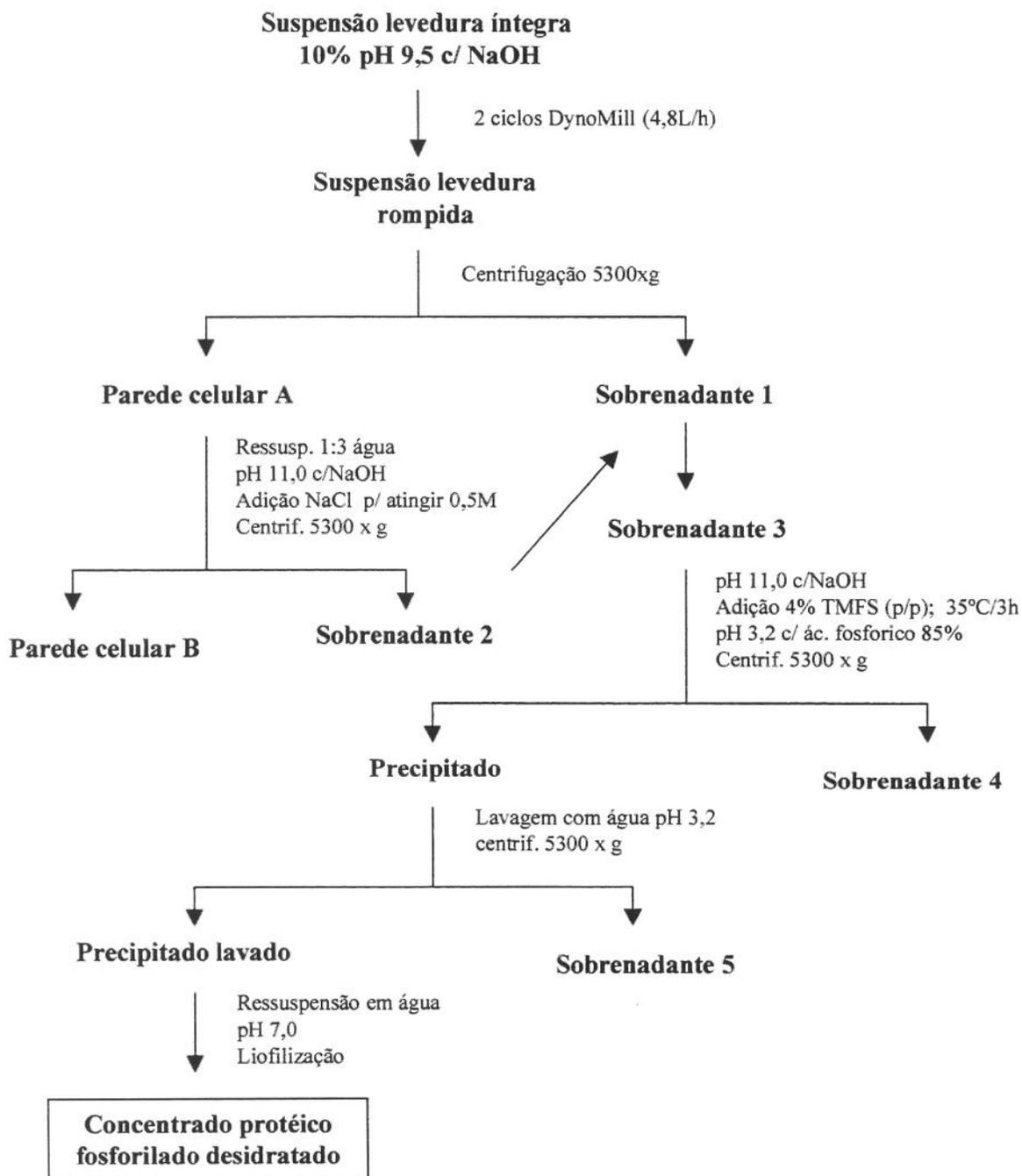


Figura 2.4. Fluxograma de obtenção de concentrado protéico fosforilado de levedura (CPF)

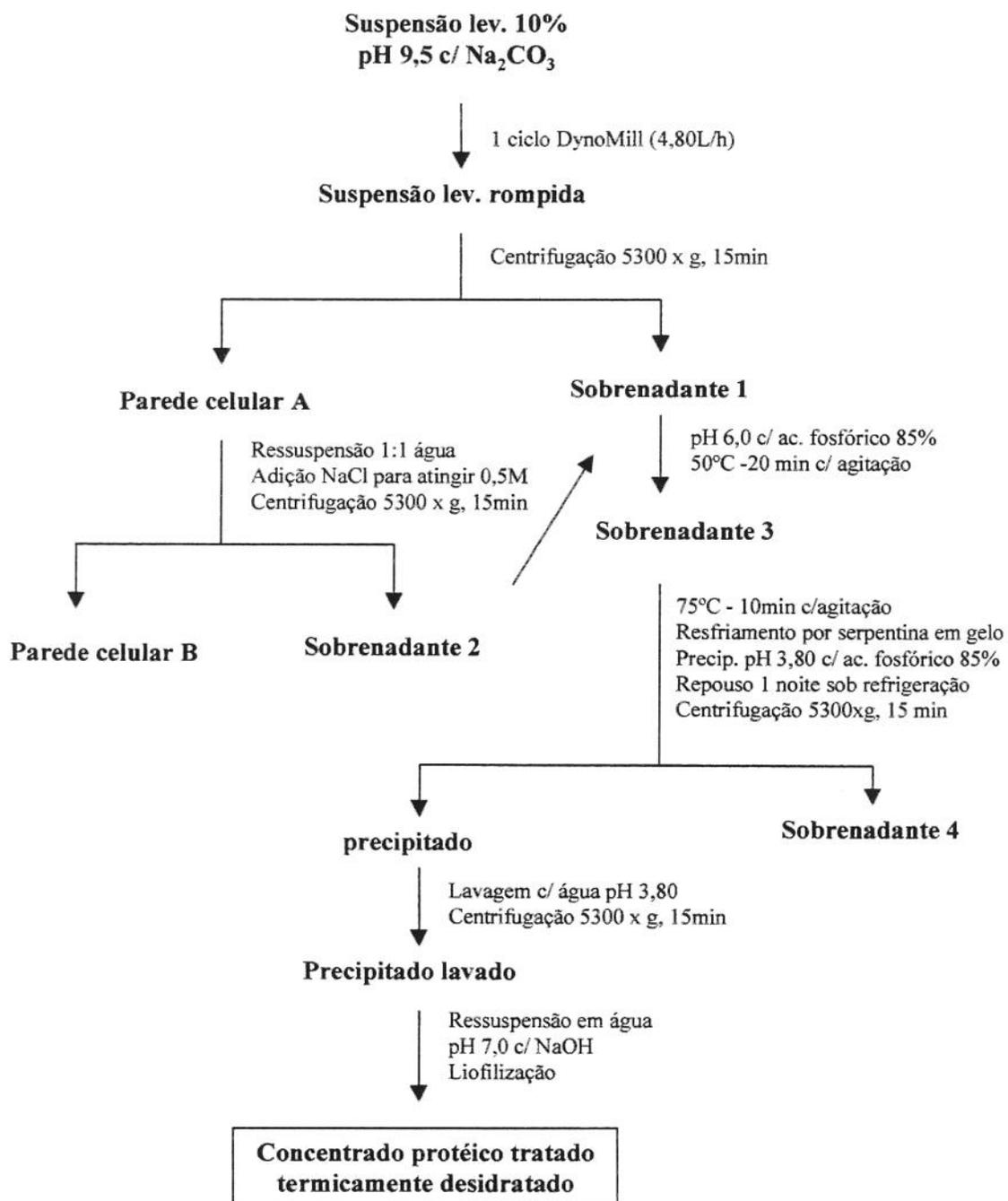


Figura 2.5. Fluxograma de obtenção de concentrado protéico de levedura tratado termicamente(CPT)

2.2.6. Metodologia analítica

2.2.6.1. Composição centesimal.

Proteína total, umidade e cinzas foram determinadas de acordo com os procedimentos da AOAC (2000). Lipídios totais foram extraídos pelo procedimento de BLIGH & DYER (1959) e determinado gravimetricamente. Fibras solúveis e insolúveis foram quantificadas pelo método 985.29 da AOAC (2000) e PROSCKY et al. (1984).

2.2.6.2. Composição mineral.

A composição mineral foi determinada segundo as metodologias adaptadas de SLAVIN et al. (1975) e IMO INDUSTRIES INC (1990).

2.2.6.3. Perfil de ácidos graxos.

O perfil de ácidos graxos na fração lipídica, extraída por hidrólise (AOAC, 2000), foi determinado por cromatografia gasosa, após interesterificação ácida com metanol, de acordo com o método de FIRESTONE (1998). Segundo a Portaria n.27 de 13 de janeiro de 1998, da Secretaria da Vigilância Sanitária, do Ministério da Saúde (BRASIL, 1998a), os ácidos graxos “Trans” foram computados no cálculo de gorduras saturadas.

2.2.6.4. Determinação de RNA.

O teor de ácido ribonucléico (RNA) foi determinado colorimetricamente com o reagente orcinol, seguindo o método de HERBERT et al. (1971).

2.2.6.5. Determinação do grau de fosforilação.

À medida que o resíduo serina na proteína é fosforilado, forma-se simultaneamente quantidade equimolar de pirofosfato (SUNG et al., 1983). Portanto, a taxa de fosforilação pode ser expressa estequiometricamente pela quantidade de pirofosfato formado e o total de resíduos de serina presentes na alíquota da amostra utilizada na mistura de reação.

A determinação do grau de fosforilação baseia-se na dosagem de pirofosfato formado durante a reação, conforme a metodologia de FLASCHKA et al. (1969). Consiste em

precipitar a proteína fosforilada do sobrenadante com ácido tricloroacético (TCA 10%) e, a seguir, promover uma complexação do pirofosfato solúvel remanescente, com acetato de zinco. Como a reação pirofosfato-zinco é estequiométrica, a quantidade de pirofosfato é calculada através da titulação do zinco com etilenodiaminotetracetato (EDTA).

$$GF = \frac{\text{miligramas Zn}}{\text{conteúdo de serina na amostra (mg)}} \times 100$$

onde GF= grau de fosforilação

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1. Produção dos derivados de levedura

Diferentemente do processo descrito por SGARBIERI et al. (1999) para a levedura de cervejaria, com a levedura de destilaria não há necessidade da etapa de desamargamento nem de clarificação do extrato bruto antes da concentração e secagem em *spray dryer*. A adição de maltodextrina (25% com base nos sólidos totais) foi realizada para melhorar as características de secagem, uma vez que o extrato é um material bastante higroscópico. Os produtos finais obtidos estão dispostos na Figura 2.6.

A Figura 2.7 ilustra os resultados de solubilização do nitrogênio da levedura íntegra com até seis passagens da levedura pelo moinho. Até três passagens pelo moinho, ocorreu um acréscimo na recuperação do nitrogênio total da levedura íntegra no extrato, assim como o teor de nitrogênio recuperável com precipitação pelo ácido tricloroacético. A partir da quarta passagem, essa recuperação permaneceu em torno de 44%. Também o teor de nitrogênio protéico permaneceu em torno de 27% a partir da quarta passagem pelo moinho.

A Tabela 2.1 mostra a recuperação em nitrogênio (N) extraído e precipitado como concentrado seco dos 26 lotes experimentais para produção de concentrado protéico fosforilado. Com base no N total na suspensão de células rompidas e no N solúvel no sobrenadante, os rendimentos variaram de 29 a 44% (média = 33,2%) e de 42 a 66% (média = 57%), respectivamente. Verifica-se também que a concentração do RNA, no concentrado final,



Figura 2.6. Ilustração da levedura íntegra (LI), extrato (EXT), autolisado (AUT) e concentrado protéico fosforilado (CPF) de levedura obtidos

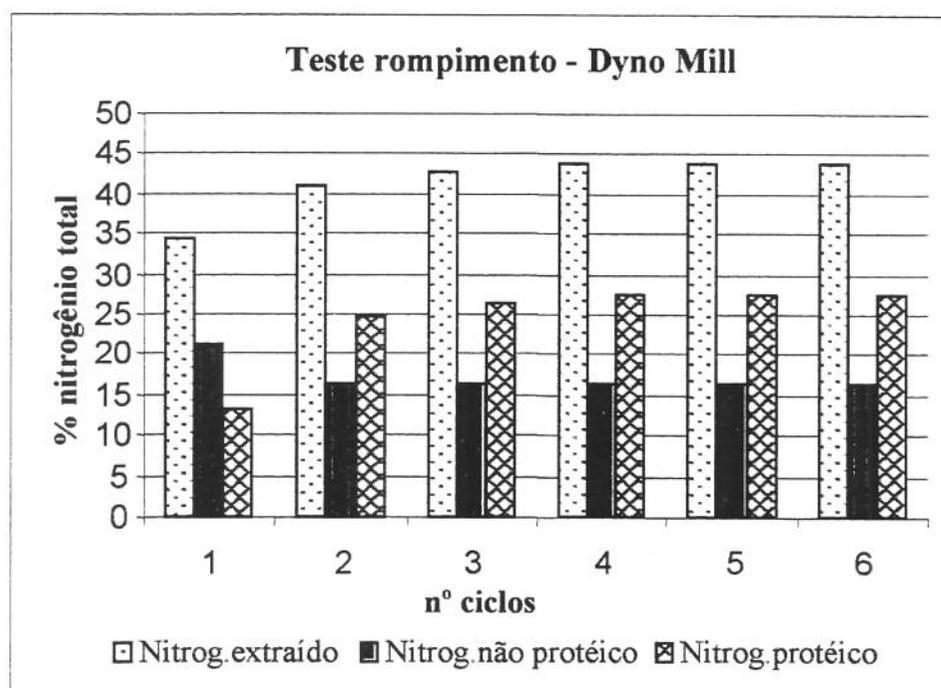


Figura 2.7. Representação gráfica dos resultados do teste de rompimento celular com o moinho DynoMill

variou de 6,1 a 15,2 (média = 11,3%), sendo que o menor teor obtido foi com precipitação em pH 3,8 , mais elevado que nos outros lotes (pH = 3,2).

No concentrado protéico fosforilado foram obtidos valores relativamente altos de RNA. Apesar de se ter atingido um grau de fosforilação da proteína elevado (93%), que de acordo com CHEN et al. (1991) reduz os teores de RNA, a precipitação da proteína foi realizada em pH bastante ácido (pH3,2) onde se obtém uma maior precipitação do RNA.

Posteriormente, os concentrados protéicos fosforilados desses lotes experimentais foram reunidos em um único lote para que se pudesse seguir com os estudos programados.

Num teste de precipitação do sobrenadante 4 (Figura 2.4), verificou-se que apenas 10% do N presente nesse sobrenadante era precipitável com TCA, isto é, 90% dos compostos nitrogenados presentes no sobrenadante eram de baixo peso molecular.

Tabela 2.1: Recuperação de N na forma de concentrado protéico fosforilado com base no N total na suspensão de levedura rompida e N solúvel no sobrenadante e RNA do produto final.

Lote	Recuperação de N (% susp. inicial)	Recuperação de N (%sobrenadante)	RNA (g/100g de concentrado)
A	31,2	56,5	9,3
B	32,3	59,4	11,4
C	29,3	49,6	11,3
D	38,3	65,9	13,3
E	38,4	58,5	-
F	32,9	-	-
G	-	43,8	-
H	30,9	-	15,2
I	27,5	50,3	-
J (precip. pH 3,80)	23,6	50,8	6,1
K	24,4	42,3	12,4
L	28,7	52,8	-
M	31,0	56,2	-
N	35,4	-	-
O	38,7	63,5	-
P	39,4	64,7	-
Q	35,0	60,6	-
R	37,3	61,0	-
S	36,0	65,2	-
T	31,0	51,9	-
U	44,0	64,7	-
V	31,6	57,7	-
X	35,2	61,9	-
W	36,5	-	-
Y	32,8	59,9	-
Z	29,8	56,6	-

Com a finalidade de verificar a possibilidade de utilização e/ou indicação de descarte, o sobrenadante 4 do processo de obtenção de concentrado protéico fosforilado (Figura 2.4) foi liofilizado e apresentou um teor muito elevado de cinzas (71,33%) devido ao sal e trimetafosfato de sódio adicionados, na etapa de lavagem da parede celular e fosforilação, sugerindo uma possível utilização na alimentação animal.

O rendimento na produção dos diversos derivados (em base seca) foi como segue: autolisado 94,5kg/100kg de levedura íntegra, com 39,6% de proteína; extrato de levedura 45,3 kg/100kg de autolisado seco, com 50,7% de proteína; parede celular bruta 48,3kg/100kg de autolisado, com 18,8% de proteína; concentrado protéico fosforilado 19,8kg/100kg de levedura seca (LI) com 62,6% de proteína e concentrado tratado termicamente 12,4kg/100kg de LI, com 68,1% de proteína.

O baixo rendimento na produção de concentrados de proteína de levedura foi devido, em parte, à complexidade do processo e às condições de laboratório não ideais (não-otimizadas) disponíveis para sua obtenção.

No processo de obtenção do concentrado protéico tratado termicamente (escala de laboratório), o rendimento em nitrogênio calculado em relação à suspensão inicial de leveduras íntegras e em relação ao sobrenadante (fração solúvel) foi de 22,2% e 46,0% respectivamente, e o produto final seco continha 3,50g de RNA/100g de amostra).

2.3.2. Grau de fosforilação do concentrado protéico de levedura

O grau de fosforilação de 93% obtido pode ser considerado elevado. SUNG et al. (1983) fosforilaram 55% dos resíduos de serina ao tratar aminoácidos livres em pH 12 e 30°C por 4 horas. PACHECO (1996) promoveu a fosforilação de 35% da proteína de levedura de cervejaria, conduzindo a fosforilação na suspensão de levedura rompida, mas ainda com a parede celular, adicionando 3% de TMFS e a determinação do teor de serina foi realizada na levedura não submetida a pHs alcalinos, condições diferentes das utilizadas neste estudo. Assim como PACHECO (1996), GIEC et al. (1989) fosforilaram 50% da proteína de *Torulla utilis* ainda na suspensão rompida em condições bastante diferentes da fosforilação em nosso estudo. O alto grau de fosforilação obtido (93%) pode ser devido ao fato do sobrenadante ter permanecido em pH bastante elevado, durante o rompimento celular (pH

9,5) até a fosforilação (pH 11,0), existindo a possibilidade de ter ocorrido reações paralelas da serina, como a de β -eliminação, assim como o teor de serina ter sido reduzido durante o período de hidrólise ácida da determinação desse aminoácido. Portanto, com um menor teor de serina, o cálculo do grau de fosforilação resultou nesse alto grau de fosforilação. Além disso, foi utilizado um teor mais elevado de TMFS e com adição no sobrenadante, sem a influência da parede celular.

2.3.3. Composição centesimal da levedura íntegra (LI) e de seus derivados

Como era de se esperar, a composição da levedura íntegra (LI) e do autolisado (AUT) é muito semelhante, uma vez que na transformação da levedura em autolisado não há fracionamento do material celular, apenas transformações químicas e enzimáticas. As transformações devidas às reações da autólise conferem melhor solubilidade ao material, melhor digestibilidade da proteína, e particularmente, um melhor sabor. Os componentes em maior quantidade, tanto nas células íntegras como no autolisado, são as proteínas (~40%) e as fibras (31-33%), com predominância das fibras solúveis.

De um modo geral, a composição apresentada na Tabela 2.2 é semelhante à composição relatada na literatura (KIHLBERG, 1972; DZIEZAK, 1987a,b; SGARBIERI et al., 1999), sendo que a levedura íntegra, autolisado e extrato mostraram teores de proteína levemente inferiores para a levedura de destilaria de álcool que para levedura de cervejaria (SGARBIERI et al., 1999). Da mesma forma, os teores de proteína dos concentrados protéicos obtidos para levedura de destilaria foram inferiores aos de levedura de cervejaria (CABALLERO-CÓRDOBA & SGARBIERI, 2000). Na composição do extrato, destaca-se a elevada concentração de proteína (48,6%) e de cinzas (11,7%). A elevada concentração de cinzas se deve, principalmente, à adição de cloreto de sódio, no processo de autólise e posterior concentração do extrato.

Tabela 2.2 Composição centesimal (em base seca) da levedura íntegra (LI) e de seus derivados: autolisado (AUT), extrato (EXT) e concentrado protéico fosforilado (CPF).

Componente (%)	LI	AUT	EXT	CPF
Proteína (N x 5,8)*	39,6±0,2 ^c	40,4±0,2 ^c	48,6± 0,6 ^b	62,6±0,8 ^a
Lipídios totais*	0,5±0,1 ^c	1,2±0,1 ^b	0,4±0,1 ^c	8,5±0,2 ^a
Cinzas*	4,6±0,3 ^d	6,2±0,1 ^c	11,7±0,1 ^b	13,2±0,0 ^a
Fibra alimentar total**	31,4	33,2	3,3	6,0
Insolúvel**	1,09	0,98	n.d.	n.r.
Solúvel**	30,3	32,2	3,3	n.r.
Ácido ribonucléico**	9,0	5,6	8,3	10,4
Outros***	14,9	13,4	27,7	0,0

nd= não-detectado

n.r. =não-realizado

*Resultados são média de 3 determinações analíticas ± desvio-padrão. Médias com letras sobrescritas iguais numa mesma linha não diferem significativamente ($p>0,05$)

**Resultados são média de 2 determinações analíticas

***outros= 100 – (proteína+fibra total+cinzas+lipídios totais+ácido ribonucléico)

O teor de RNA apresenta-se também relativamente elevado, no extrato e no concentrado protéico fosforilado. No extrato, os componentes não-determinados são representados particularmente pela maltodextrina, acrescentada ao extrato na proporção de 25% (p/p) dos sólidos totais, com vistas a facilitar a secagem e a conservação do mesmo. Os teores de lipídios totais encontrados foram inferiores aos encontrados por SGARBIERI et al. (1999) em levedura de cervejaria. Segundo HALÁSZ & LÁSZTITY (1991), à medida que a levedura sofre sucessivas fermentações, o teor de lipídios totais decresce, da mesma maneira também se ocorrer a exaustão de glicose no meio.

Na Tabela 2.3, são apresentadas as composições dos principais elementos minerais da levedura íntegra (LI), autolisado (AUT), extrato (EXT) e concentrado protéico fosforilado (CPF). Fósforo, potássio, magnésio e cálcio são os principais componentes das cinzas. Pode-se observar que todos os derivados apresentaram fósforo em excesso, sendo o concentrado protéico com o maior teor, devido à adição de trimetafosfato de sódio (TMFS) para a fosforilação da proteína. MATHEIS & WHITAKER (1984) relataram TMFS fortemente adsorvido às proteínas, fato já conhecido para ortofosfatos, sendo necessária a

diálise contra KCl 0,1M e contra água para remover o TMFS livre. Os teores de sódio e fósforo apresentaram-se elevados no CPF devido à adição de NaCl e TMFS e que não foram totalmente retirados, apesar da lavagem efetuada durante a obtenção.

Tabela 2.3. Composição mineral dos derivados de levedura.

Elementos	Resultados (mg/100g)*				Recomendação diária (adultos)** (mg)
	LI	AUT	EXT	CPF	
Sódio	6,3±0,3	711,3±15,2	1352,0±10	3308±40	2400
Cálcio	147,7±1,4	189,9±6,6	246,3±3,4	13,3±0,3	800
Magnésio	143,5±0,3	142,8±5,0	273,3±3,0	8,2±0,4	300
Fósforo	1516,0±20,0	1308,0±37	2330,0±64	5248±101	800
Potássio	2035,0±5,0	1987,0±50	3237,0±27	68±3	-
Ferro	38,0±0,7	36,8±1,3	14,6±1,1	12,3±0,3	14
Manganês	1,35±0,01	1,38±0,02	1,58±0,02	0,13±0,0	5
Zinco	12,7±0,1	15,7±0,7	20,8±0,6	2,0±0,1	15
Cobre	4,94±0,03	4,5±0,1	3,0±0,2	3,6±0,1	3

*Média de 3 determinações analíticas ± desvio-padrão

**Requerimento diário, para adultos conforme BRASIL (1998b) e BRASIL (2001)

A relação cálcio/fósforo (ideal 2:1) não se apresenta adequada nos derivados de levedura obtidos.

Os teores de ferro na levedura íntegra e autolisado apresentaram-se elevados, enquanto no extrato e no concentrado protéico, que não têm a fração parede celular, os teores são menores, indicando a ligação desse mineral com a fração parede celular.

Os derivados de levedura estudados apresentaram composição mineral diferente entre si, devido aos processos de obtenção. No autolisado adicionou-se o cloreto de sódio; para o extrato, separou-se a parede celular do autolisado, reduzindo alguns elementos (ferro e cobre) e elevando outros como o sódio, cálcio, magnésio, fósforo, potássio e zinco. No concentrado protéico que também não contém a parede celular, foram adicionados NaCl e

TMFS, o teor de cálcio, magnésio, potássio, ferro, manganês e zinco foi reduzido e elevado o teor de sódio e fósforo em relação à levedura íntegra.

Na Tabela 2.4, estão apresentados os resultados da composição em ácidos graxos da levedura íntegra (LI), autolisado (AUT) e concentrado protéico fosforilado (CPF). Essa determinação não foi realizada no extrato (EXT) devido ao baixo teor de lipídios totais (0,4%).

Embora quantitativamente os lipídios não sejam componentes importantes da levedura (Tabela 2.2), eles poderão tornar-se importantes na definição das características organolépticas, pela transformação em componentes voláteis que poderão contribuir para a melhoria ou deterioração do sabor e do aroma.

A composição em ácidos graxos das células de levedura pode variar em função do estado fisiológico e de exaustão das células (HALÁSZ & LÁSZTITY, 1991). Em células jovens, metabolicamente ativas, predominam fosfolipídios e ácidos graxos poliinsaturados; em células adultas e exauridas, como é o material usado neste estudo, os ácidos graxos poliinsaturados dão lugar aos monoinsaturados e saturados.

Os dados da Tabela 2.4 mostram para os três materiais estudados, uma predominância de ácidos graxos saturados, seguido dos monoinsaturados e, por último, dos poliinsaturados. Dentre os saturados, predominam os ácidos palmítico e esteárico; dentre os monoinsaturados, o palmitoléico e o oléico e dentre os poliinsaturados, o ácido linoléico com cerca de 30% do total na LI e 12% no AUT e CPF. Para o CPF entre os poliinsaturados encontra-se também o ácido docoheaxaenóico (DHA - C22:6 ω 3), porém em menor concentração que em peixes marinhos relatado por VISENTAINER et al. (2000).

É interessante observar a presença de vários ácidos graxos insaturados de cadeias ímpares (C11:0; C15:0; C17:0), que ocorrem somente em quantidades vestigiais nos animais terrestres, mas ocorrem em quantidade significativa em muitos organismos marinhos (LEHNINGER, 1976).

Tabela 2.4. Composição em ácidos graxos da levedura íntegra (LI), autolisado (AUT) e concentrado protéico fosforilado (CPF)

Ácido graxo (% do total)	LI	AUT	CPF
Caprílico (C8:0)	2,01	1,60	-
Cáprico (C:10:0)	0,73	1,19	0,6
Hundecanóico (C11:0)	0,33	0,40	0,2
Láurico (C12:0)	2,03	2,49	2,0
Tridecanóico (C13:0)	n.d.	n.d.	-
Mirístico (C14:0)	0,97	0,80	0,6
Pentadecanóico (C15:0)	0,33	0,31	0,2
Palmítico (C16:0)	24,60	25,70	30,8
N.I.	-	-	0,6
Palmitoléico (C16:1 ω 7)	5,77	17,10	14,4
Margárico (C17:0)	-	-	0,3
Cis-10 heptadecenóico	-	-	0,2
Esteárico (C18:0)	9,03	16,20	14,8
Eláidico (C18:1 ω 9T)	1,57	n.d.	0,2
Oléico (C18:1 ω 9)	22,47	18,70	14,6
Trans linoléico (18:2 ω 6T)	-	-	0,2
Linoléico (C18:2 ω 6)	29,90	11,81	12,2
α -linolênico (C18:3 \square 3 α)	0,53	n.d.	0,6
Araquídico (C20:0)	5,03	3,11	0,8
N.I.	-	-	0,2
Behênico (C22:0)	-	-	0,7
Araquidônico (C20:4 ω 6)	-	-	0,4
N.I.	-	-	0,3
Eicosapentaenóico (EPA) (C20:5 ω 3)	-	-	0,2
4,7,10,13,16,19 docosahexaenóico (DHA) (C22:6 ω 3)	-	-	4,9
SATURADOS	46,63	51,80	51,4
MONOINSATURADOS	28,24	35,80	29,2
POLIINSATURADOS	30,43	14,92	18,3

n.d.= não detectado; N.I.= não identificado

T= trans ω =ômega α =alfa

2.4. CONCLUSÕES

A análise dos resultados mostra que o rendimento obtido em AUT e EXT foi satisfatório e para o CPF foi baixo. Quanto à composição, o componente mais importante foi a proteína, sendo que para LI e AUT observou-se também elevado teor de fibra, principalmente de fibra solúvel. O teor de ácido ribonucléico foi mais alto no CPF seguido pela LI e no EXT e o mais baixo no AUT. Com relação aos minerais, ficaram aumentados os teores de fósforo e sódio no AUT, EXT e CPF pela adição desses elementos no processo. Em relação aos minerais, destacam-se os elevados teores de ferro e zinco. Com relação aos ácidos graxos, verifica-se um balanço que pode ser considerado bom entre ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados, embora do ponto de vista quantitativo a contribuição não seja muito significativa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of AOAC International**, 17th ed, Gaithersburg, Maryland, 2000.

BABAYAN, T.L.; BEZRUKOV, M.G.; LATOV, V.L.; BELIKOV, V.M.; BELAVTSEVA, E.M.; TITOVA, E.F. Induced autolysis of *Saccharomyces cerevisiae*: morphological effects, rheological effects and dynamics of accumulation of extracellular hydrolysis products. **Current Microbiology**, New York, v.5, p. 163-168, 1981.

BENASSI, V.T.; CAMARGO, C.R.O.; CIACCO, C.F. Caracterização química e redução do conteúdo de ácidos nucléicos das células de levedura (*Saccharomyces spp.*) provenientes da produção de álcool de cana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**; Campinas v.10, n.2, p.249-260, 1990

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v.37, n.7, p.911-917, 1959.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Portaria n. 27 de 13 de janeiro de 1998(a). Secretaria da Vigilância Sanitária, do Ministério da Saúde. Aprova o Regulamento Técnico referente à

Informação Nutricional Complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes). **Diário Oficial da União**, Brasília, 16 de janeiro de 1998, Seção 1, pt 1.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Portaria n.33, de 13 de janeiro de 1998(b) – Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Adota os valores das Tabelas do anexo desta portaria, como níveis de IDT para as vitaminas, minerais e proteínas. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30.03.98, p.5.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Resolução RDC n.40, de 21 de março de 2001.- Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprova o Regulamento Técnico para rotulagem Nutricional Obrigatória de Alimentos e Bebidas embalados. **Diário Oficial da União**, Brasília, 22.03.2001, n.57-E, Seção 1, p.22-25.

CABALLERO-CÓRDOBA, G.M.; SGARBIERI, V.C. Nutritional and toxicological evaluation of a yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) biomass and a yeast protein concentrate. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.80, p. 341-351, 2000.

CHAE, H.J.; JOO, H.; IN, M. Utilization of brewer's yeast cells for the production of food-grade yeast extract. Part 1: Effects of different enzymatic treatments on solid and protein recovery and flavor characteristics. **Bioresource Technology**, Oxford, v.76, n.3, p.253-258, 2001.

CHEN, S.H.; CHEN, H.J.; SUNG, H.Y. Studies on the protein, isolates and nucleic acids from brewer's yeast. *Journal of Chinese Agriculture Chemistry Society*, v.23, p.318, 1986. Apud: HÁLASZ, A. & LÁSZTITY, R. **Use of yeast biomass in food production**. Boston, CRC Press, 1991, 312p.

CUNNINGHAM, S.D.; CATER, C.M.; MATTIL, K.F.; VANDERZANT, C. Rupture and protein extraction of petroleum-grown yeast. **Journal of Food Science**, Chicago v. 40, n.4, p.732-735, 1975.

DZIEZAK, J.D. Yeasts and yeast derivatives: applications. **Food Technology**, Chicago, v. 41, n.2, p. 122-125, 1987a.

- DZIEZAK, J.D. Yeast and yeast-derivatives; definitions, characteristics and processing. **Food Technology**, v. 41, n.2, p. 104-112, 119-120, 1987b.
- ENGLER, C.R. New method of measuring cell-wall rupture. **Biotechnology & Bioengineering**. New York, v. XXI, n.10, p.1861-1869, 1979.
- FIRESTONE, D. **Official Methods and Recommended practices of the American Oil Chemists Society**, AOCS, Champaign, 5th ed., V 1-2, (método 1-62), 1998.
- FLASCHKA, H.A.; BARNARD, A.J.; STURROCK, P.E. **Quantitative analytical chemistry**, v.2. Barnes & Noble Book, New York, p. 142, 1969.
- FURCO, A.M. Produção de biomassa de levedura em destilarias de álcool. In: "**Workshop**" **Produção de biomassa de levedura: utilização em alimentação humana e animal**. Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, p.52; 1996.
- GIEC, A.; STASINSKA, B.; SKUPIN, J. A protein isolate for food by phosphorylation of yeast homogenate. **Food Chemistry**, Washington, v.31, n.4. p. 279-288, 1989.
- HALÁSZ, A.; LÁSZTITY, R. **Use of yeast biomass in food production.**, CRC Press, Boca Raton, FL, 312p, 1991.
- HERBERT, D.; PHIPPS, P.J.; STRANGE, R.E. Chemical analysis of microbial cells. In: NORRIS, J. R. & RIBBONS, P.W. **Methods in Microbiology**, Academic Press, London, V 5B, 1971, 695p.
- HUGHES, D.E.; WINPENNY, J.W.T.; LLOYD,D. The desintegration of microorganisms. In: NORRIS, J.R.; RIBBONS, D.W. **Methods in Microbiology**, Academic Press, London:, v.5B, 1971, 695p.
- IEE – INSTITUTO DE ELETROTÉCNICA E ENERGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Cana-de-açúcar no Brasil. [online]. [extraído em: 26.08.02]. URL: <http://infoener.iee.usp.br/scripts/biomassa/br_cana.asp>
- IMO INDUSTRIES INC. BAIRD ANALYTICAL INSTRUMENTS DIVISION ICP 2000. **Spectrometer user's guide**. Bedford, Massachusetts, Dec, 1990.

- KIHLBERG, R. The microbe as a source of food. **Annual Review Microbiology**, Palo Alto v. 26, p. 426-465, 1972.
- KINSELLA, J. E.; SHETTY, K.J. Yeast protein recovery, nutritional and functional properties. **Advances in Experimental Medicine and Biology**. New York, v.107, n.5, p.797-825, 1978.
- KOLLAR, R.; STURDIK, E.; SAJBIDOR, J. Complete fractionation of *Saccharomyces cerevisiae* biomass. **Food Biotechnology**, New York, v. 6, n.3, p. 225-237, 1992.
- LAHR FILHO, D.; GHIRALDINI, J.A.; ROSSEL, C.E.V. Estudos de otimização da recuperação de biomassa de levedura em destilarias. In: **"Workshop" Produção de biomassa de levedura: utilização em alimentação humana e animal**. Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, p. 59, 1996.
- LEE, H.O. **Fundamentals of Food Biotechnology**. Ed. V.C.H. Publishers Inc. New York, 1996, 431p.
- LEHNINGER, A.L. **Bioquímica. Componentes moleculares das células**. São Paulo, Edgard Blücher, v.1, 1976, 262p.
- MATHEIS, G.; WHITAKER, J.R. Chemical phosphorylation of food proteins: An overview and a prospectus. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.32, n.4, p. 699-705, 1984.
- OTERO, M.A.; VASALLO, M. del C.; VERDECIA, O.; FERNÁNDEZ, V.; BETANCOURT, D. A process for the complete fractionation of baker's yeast. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, Osney Mead, v.67, n.1, p. 67-71, 1996.
- PACHECO, M.T.B. **Propriedades funcionais, nutricionais e toxicológicas de concentrados protéicos de levedura (*Saccharomyces sp.*), obtidos por diferentes processos de extração**. Campinas, SP., 1996. Tese (Doutorado em Ciência da Nutrição), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Unicamp, 158p.

- PROSCKY, L.; ASP, N.G.; FURDA, I.; DEVRIES, J.W.; SCHWEIZER, T.F.; HARLAND, B.F. Determination of total dietary fiber in foods, Food products and total diets: Interlaboratorial Study. **Journal of Association of Official Analytical Chemistry**, Arlington, v.67, n.6, p. 1044-1052, 1984.
- REED, G.; NAGODAWITHANA, T.W. **Yeast technology**. 2.ed., New York: Van Nostrand Reinhold, 378p, 1991.
- SALGADO, J.M.; SARRUGE, J.R. Efeito da lavagem sobre a qualidade do concentrado protéico obtido em destilaria de álcool. **Revista Brasileira de Tecnologia**. São Paulo, v. 7, n.3, p.339-344, 1976.
- SARWAR, G.; SHAH, B.G.; MONGEAU, R.; HOPNER, K. Nucleic acid, and fiber and nutrient. Composition of inactive dried food yeast. *Journal of Food Science*, Chicago, v.50, n.2, p.353-357, 1985.
- SGARBIERI, V.C.; ALVIM, I.D.; VILELA, E.S.D.; BALDINI, V.L.S.; BRAGAGNOLO, N. Produção piloto de derivados de levedura (*Saccharomyces sp.*) para uso como ingrediente na formulação de alimentos. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, v.2, n.1,2, p. 119-125, 1999.
- SHETTY, J.K.; KINSELLA, J.E. Isolation of yeast protein with reduced nucleic acid level using reversible acylating reagents: some properties of isolated proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 30, n.6, p.1166-1177, 1982.
- SLAVIN, S.; PETERSEN, G.E.; LINDHAL, P.C. Determination of heavy metals in meats by atomic absorption spectroscopy. **Atomic Absorption Newslett**, v.14, n.3, 57-59, 1975.
- SUNG, H.; CHEN, H.; LIU, T.; SU, J. Improvement of the functionalities of soy protein isolate through chemical phosphorylation. **Journal of Food Science**, Chicago, v.48, n.3, p. 716-721, 1983.
- VISENTAINER, J.V.; CARVALHO, P.O.; IKESGAKI, M.; PARK, Y.K. Concentração de ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docohexaenóico (DHA) em peixes marinhos da

costa brasileira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.20, n.1, p. 90-93, 2000

WASLIEN, C.I.; CALLOWAY, D.H.; MARGEN, S.; COSTA, F. Uric acid levels in men fed algae and yeast as protein sources. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 35, n.2, p.293-298, 1970.

CAPÍTULO 3

**COMPOSIÇÃO EM AMINOÁCIDOS E VALOR NUTRITIVO DA
PROTEÍNA DOS DERIVADOS DE LEVEDURA (*Saccharomyces sp.*),
SUBPRODUTO DE DESTILARIAS DE ÁLCOOL**

RESUMO

Neste trabalho determinou-se a composição em aminoácidos e o valor nutritivo da proteína da levedura íntegra (LI), do autolisado (AUT), do extrato (EXT) e do concentrado protéico fosforilado (CPF) de levedura (*Saccharomyces sp.*) de destilaria de álcool. Os índices avaliados (PDCAAS, PER, NPR, promoção de crescimento) indicam que a proteína dos derivados da levedura é de bom valor nutritivo, muito próximo ao da caseína, com exceção da levedura íntegra seca que apresentou índices mais baixos. Entre os derivados testados, o CPF promoveu maior crescimento dos ratos, seguido pelo extrato, autolisado e por último a levedura íntegra.

3.1. INTRODUÇÃO

A biomassa de levedura possui um conteúdo de proteínas em torno de 40%, com um perfil de aminoácidos compatível com as necessidades humanas, com apenas pequena limitação em aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína) e triptofano (MARIATH & ZUCAS, 1983; SARWAR et al., 1985; OTERO et al., 1996). O teor de lipídios varia de 2 a 7%, os glicídeos de 26 a 36% e cinzas de 5 a 10%. É uma das melhores fontes de vitaminas do complexo B, exceto B₁₂ (MARIATH & ZUCAS, 1983).

O processamento e a estocagem da biomassa de levedura e/ou as diferentes preparações protéicas dela derivadas provocam mudanças nas propriedades das proteínas. Em muitos casos, o processamento não tem efeito adverso ou é mínimo nas propriedades nutricionais das proteínas.

Foi demonstrado que isolados protéicos obtidos a partir de células de levedura podem ter melhor qualidade nutricional do que as células íntegras, porque o conteúdo de ácidos nucléicos, a presença de componentes ativos indesejáveis e o efeito deletério da parede celular sobre a biodisponibilidade de nutrientes são atenuados (ROSALES, 1984).

O uso de levedura íntegra em processamento de alimentos é geralmente limitado devido ao odor e sabor indesejáveis da levedura seca (HALÁSZ & LÁSZTITY, 1991). No entanto, o

fracionamento da levedura produz derivados que podem ser adicionados em alimentos. Alguns desses derivados seriam o autolisado, obtido pelo processo de autólise da célula; o extrato de levedura e parede celular, obtidos pelo fracionamento do autolisado em fração solúvel (extrato) e insolúvel (parede celular) e o concentrado protéico.

O valor nutritivo, particularmente da proteína, de preparados de levedura íntegra e rompidos mecanicamente e de concentrados protéicos de *Saccharomyces sp.*, tem sido estudado e reportado (RUMSEY et al., 1991; CABALLERO-CÓRDOBA et al., 1997; PACHECO et al., 1997).

Neste trabalho estudou-se a composição em aminoácidos e o valor nutritivo da proteína na levedura íntegra (LI), no autolisado (AUT), no extrato (EXT) e no concentrado protéico fosforilado (CPF) de levedura.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1.Procedência

Levedura *Saccharomyces sp.*, procedente da indústria alcooleira, foi obtida na forma de células frescas sem sofrer termólise, em suspensão aquosa de aproximadamente 20% de células.

3.2.2.Métodos de obtenção de derivados de levedura

A suspensão foi diluída (1:1) com água corrente e centrifugada em centrífuga de pratos, para lavagem. A biomassa foi desidratada em *spray dryer* Niro Atomizer CB3 104D.

A levedura íntegra desidratada foi ressuspensa e submetida à autólise em fermentador de 250L (New Brunswick – IF250). A autólise foi interrompida por aquecimento a 85°C por 15 minutos. O autolisado após secagem em *spray dryer* transformou-se no autolisado desidratado (AUT). Parte do autolisado foi submetido a um fracionamento por centrifugação, originando uma fração solúvel e uma fração insolúvel, a parede celular. A fração solúvel foi adicionada de maltodextrina e seca em *spray dryer* originando o extrato

(EXT). Detalhes das operações de limpeza, autólise, fracionamento, secagem e caracterização química da levedura íntegra e dos derivados foram descritos no capítulo 2.

Para a obtenção do concentrado protéico fosforilado (CPF), a levedura íntegra desidratada foi submetida a um processo de ruptura mecânica da parede celular, como descrito no capítulo 2, em um moinho de esferas de vidro (Dyno Mill). A fosforilação da proteína foi feita na fração solúvel (sobrenadante) em pH 11, com 4% (p/p) de trimetafosfato de sódio, 3h a 35°C. A proteína fosforilada foi precipitada em pH 3,2, sendo separada por centrifugação. O precipitado obtido depois de lavado foi liofilizado. Detalhes da obtenção foram descritos no capítulo 2.

3.2.3.Métodos analíticos

A qualidade protéica (nutricional) de uma proteína ou de um alimento protéico pode ser determinada por meio de índices derivados da composição de aminoácidos e de experimentação com animais.

3.2.3.1.Composição centesimal

Foi determinada usando os métodos já descritos no capítulo 2. Os valores encontrados para os vários componentes foram reportados na Tabela 2.2 (capítulo 2) e utilizados para o cálculo das dietas formuladas nos ensaios com ratos.

3.2.3.2.Determinação de aminoácidos

A determinação de aminoácidos, com exceção do triptofano, foi realizada por hidrólise ácida, seguindo basicamente o método recomendado por SPACKMAN et al. (1958): pesou-se o equivalente a 25mg de proteína da amostra e hidrolisou-se com 10mL de HCl 6,0N, a vácuo, em temperatura de 110°C por 22 horas. A amostra foi recuperada em tampão pH 2,2 (marca Pickering). Uma alíquota de 25µL foi injetada no analisador Dionex DX-300 para separação dos aminoácidos em coluna de troca catiônica e reação pós-coluna com ninidrina, usando-se como referência, para identificação e cálculo, uma solução padrão de aminoácidos Pierce.

O triptofano foi determinado após hidrólise enzimática com pronase (100mg/10mL de tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7,5) a 40°C por 24 horas, seguida de reação colorimétrica com solução de 4-dimetilamino benzaldeído (DAB) em ácido sulfúrico 21,2N e leitura a 590 nm. O teor de triptofano foi calculado a partir de uma curva padrão (SPIES, 1967).

3.2.3.3.Determinação de proteína nas dietas

Foi feita pelo método semimicro Kjeldahl (AOAC, 2000).

3.2.3.4.Cálculo do escore químico e PDCAAS

O escore químico foi calculado conforme SGARBIERI (1996) e o PDCAAS, escore de aminoácidos essenciais corrigido pela digestibilidade verdadeira foi obtido conforme HENLEY & KUSTER (1994). O método PDCAAS considera três parâmetros críticos da avaliação de qualidade protéica: (1) o perfil de aminoácidos essenciais da proteína alimentar; (2) sua digestibilidade verdadeira e (3) sua habilidade em suprir os aminoácidos essenciais em quantidades necessárias aos humanos (EAE).

3.2.3.5.Ensaio biológico com ratos

Procedência dos animais. O valor nutritivo da proteína, dos vários derivados da levedura, foi determinado, comparativamente à caseína, utilizando ratos machos da linhagem Wistar, livres de patógenos (SPF), adquiridos do Centro de Animais de Laboratório (CEMIB), da Universidade Estadual de Campinas, Unicamp.

Protocolo experimental. Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar com idade entre 21-25 dias, no início do ensaio. Após pesagem, os animais foram distribuídos em grupos de 8 ratos cada, sendo cada rato mantido em gaiola individual, durante toda a duração do experimento (21 dias), em que receberam água e dieta *ad libitum*. Durante o experimento, a temperatura do laboratório de ensaio foi mantida em $22 \pm 2^\circ\text{C}$, com alternância automática de claro-escuro de 12 horas.

As dietas foram preparadas de acordo com as recomendações do “American Institute of Nutrition” – AIN 93G (REEVES et al., 1993), exceto pela concentração de proteína que foi mantida ao redor de 10% (p/p). Para a execução dos ensaios, as seguintes dietas foram

preparadas: I. dieta padrão de caseína (CAS); II. dieta isenta de proteína, aprotéica (AP). III. dieta contendo levedura íntegra (LI), como única fonte de proteína; IV. dieta contendo autolisado de levedura (AUT), como única fonte de proteína; V. dieta contendo extrato de levedura (EXT), como única fonte de proteína; VI. dieta contendo concentrado protéico fosforilado de levedura (CPF), como única fonte de proteína.

Na primeira semana (7 dias), os ratos foram apenas alimentados e pesados; na segunda semana, além da pesagem, foram coletadas as fezes; na terceira semana, novamente os ratos foram apenas alimentados e pesados.

O valor nutritivo da proteína foi estimado por meio de curvas de crescimento, Quociente de Eficiência Protéica (PER) e Quociente de Eficiência Protéica Líquida (NPR), após 21 dias de dieta.

Cálculo dos índices de valor protéico

Digestibilidade verdadeira da proteína. A digestibilidade das várias amostras de levedura foi calculada pela relação: $Dv (\%) = \text{nitrogênio absorvido} / \text{nitrogênio ingerido} \times 100$. O nitrogênio absorvido foi calculado subtraindo-se do nitrogênio ingerido o nitrogênio excretado nas fezes, já descontado o nitrogênio excretado nas fezes do grupo em dieta aprotéica (nitrogênio endógeno).

Quociente de Eficiência Protéica (PER). Calculou-se pelo ganho de peso (g)/ proteína consumida (g), no período de 21 dias.

Quociente de Eficiência Protéica Líquida (NPR). Calculou-se pelo ganho de peso do grupo em dieta experimental (g) + perda peso (g) do grupo em dieta aprotéica / proteína consumida (g) do grupo em dieta experimental.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Perfil de aminoácidos essenciais e escore químico

A Tabela .3.1 apresenta os perfis de aminoácidos essenciais para a levedura íntegra (LI) de destilaria de álcool e para seus principais derivados. Quando comparados com o padrão teórico da FAO/WHO (1989) para crianças de 2 a 5 anos de idade, o autolisado

praticamente não apresentou deficiência, a levedura íntegra e o extrato apresentaram uma ligeira deficiência de leucina (8 e 13%) respectivamente, enquanto o concentrado protéico fosforilado apresentou ligeira deficiência em aminoácidos sulfurados (7%). Dentre os aminoácidos essenciais, a proteína de levedura é particularmente rica em lisina, treonina e histidina e, por esse motivo, pode complementar muito bem o perfil de aminoácidos de cereais, por serem normalmente limitantes em lisina e/ou treonina.

Tabela 3.1. Adequação de aminoácidos essenciais, com base no perfil recomendado pela FAO/WHO

Aminoácido (g/100g proteína)	LI	AUT	EXT	CPF	FAO/WHO¹
Treonina	4,70	5,20	3,74	4,97	3,4
Cistina + Metionina	2,42	2,70	2,30	2,33	2,5
Valina	4,78	5,37	4,65	6,05	3,5
Isoleucina	4,21	4,73	3,94	5,12	2,8
Leucina	6,05	6,69	5,77	8,46	6,6
Tirosina + Fenilalanina	6,50	7,40	8,70	9,20	6,3
Lisina	7,77	9,02	6,99	9,18	5,8
Histidina	4,21	2,70	2,38	2,36	1,9
Triptofano	1,19	1,51	1,11	1,77	1,1
EAE*	91,7	100	87,4	93,2	
	(Leu)		(Leu)	(Cys) ₂ +Met	

*EAE= escore químico de aminoácidos essenciais

¹FAO/WHO (1989) para crianças de 2 a 5 anos de idade

VILELA et al. (2000) encontraram ligeira deficiência nos aminoácidos sulfurados para o autolisado obtido da levedura de cervejaria, em relação ao padrão de referência, ao contrário dos resultados obtidos conforme mostra a Tabela 3.1, onde o autolisado satisfaz os níveis recomendados.

3.3.2. Digestibilidade verdadeira da proteína e PDCAAS

A digestibilidade verdadeira e o PDCAAS da proteína das dietas contendo levedura íntegra (LI), dos derivados de levedura e para dietas com 10% de caseína são apresentados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2. Digestibilidade verdadeira (Dv) e PDCAAS da proteína de levedura íntegra (LI) e dos derivados de levedura (AUT, EXT, CPF).

Fonte protéica	Dv (%)	PDCAAS(%)
Levedura íntegra (LI)	68,0±5,0 ^c	62,0
Autolisado total (AUT)	76,6±5,4 ^b	77,0
Extrato de levedura (EXT)	91,1±0,9 ^a	79,6
Concentrado protéico fosforilado de lev. (CPF)	89,9±1,1 ^a	84,0
Caseína (padrão)	93,5±0,8 ^a	94,0

Médias±desvio-padrão com letras sobrescritas diferentes (coluna) significam diferença estatística (p<0,05)

Observa-se que a proteína de extrato de levedura e o concentrado protéico fosforilado não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$) da caseína quanto à digestibilidade. O autolisado apresentou digestibilidade protéica significativamente inferior ($p < 0,05$) ao extrato e ao concentrado, porém estatisticamente superior à das células íntegras, que apresentou a menor digestibilidade. Esses dados mostram a influência negativa das fibras de levedura na digestibilidade da proteína.

Os escores de aminoácidos essenciais dos derivados estudados, corrigidos pela digestibilidade verdadeira (PDCAAS) foram acima de 80% do valor da caseína, exceto para a levedura íntegra que foi 66%.

3.3.3. Consumo de dieta, variação de peso corporal, PER e NPR

A Tabela 3.3 mostra os resultados obtidos no ensaio com os ratos. Pelos dados observa-se que os ratos que receberam levedura íntegra (LI) como fonte de proteína apresentaram o mais baixo consumo de dieta e de proteína, conseqüentemente, o mais baixo ganho de peso e valor de NPR significativamente inferior aos demais tratamentos ($p < 0,05$).

Tabela 3.3. Consumo de dietas, ingestão de proteínas e variação de peso em ratos alimentados por 21 dias com dietas contendo 10% de proteínas das fontes: levedura íntegra, LI; autolisado, AUT; extrato, EXT; concentrado protéico fosforilado, CPF e caseína comercial, CAS.

Tratamento	Dieta consumida (g)	Proteína consumida (g)	variação de peso (g)	PER	NPR
LI	183,4±33,2 ^c	18,3±3,3 ^c	25,4±7,5 ^d	1,4±0,6 ^b	2,1±0,6 ^b
AUT	265,8±25,3 ^b	27,7±2,6 ^b	98,4±8,9 ^c	3,7±0,4 ^a	4,2±0,4 ^a
EXT	313,9±32,0 ^a	33,6±3,4 ^a	114,3±13,7 ^b	3,5±0,2 ^a	3,9±0,2 ^a
CPF	340,2±39,6 ^a	36,0±4,2 ^a	135,7±11,9 ^a	3,9±0,6 ^a	4,3±0,6 ^a
CAS	332,4±31,4 ^a	33,3±3,1 ^a	123,4±10,2 ^{ab}	4,0±0,6 ^a	4,4±0,6 ^a
AP*	101,0±22,5	~0	(-14,9±1,3)	ND	ND

Médias ± desvio-padrão com letras sobrescritas diferentes (colunas) indicam diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

*AP=dieta aprotéica. ND= não-determinado.

Os resultados obtidos neste trabalho são bastante diferentes da levedura de cervejaria (VILELA *et al*, 2000). Enquanto para a levedura de cervejaria os valores de NPR variaram entre 3,6 e 3,8 para LI, AT e EX, e não diferiram estatisticamente entre si ($p > 0,05$), na levedura de destilaria o NPR para LI foi bem inferior ao da levedura de cervejaria (NPR 2,1). Por outro lado, os valores de NPR para autolisado e extrato foram equivalentes para as leveduras de cervejaria e de destilaria.

É interessante notar que embora o consumo de dieta e de proteína e o ganho de peso no grupo tratado com AUT tenham sido mais baixos (Tabela 3.3) que nos demais tratamentos, exceto no tratamento LI, o NPR do AUT não diferiu dos outros tratamentos ($p > 0,05$), o que indica melhor utilização da proteína do autolisado.

O fato de se ter verificado uma diferença marcante no ganho de peso (89,8g) e no índice NPR (3,65) para a LI de cervejaria (VILELA *et al.*, 2000), comparados com 25,4g e 2,1, respectivamente, para a LI de destilaria de álcool sugere que a levedura de destilaria de álcool apresenta aproveitamento bem inferior à de cervejaria, na forma de levedura íntegra (LI), provavelmente devido a um maior espessamento da parede celular, dificultando a

digestão dessa estrutura da célula e o aproveitamento da proteína. Essa afirmativa é corroborada pela maior digestibilidade da proteína (83,0%) na levedura íntegra (LI) de cervejaria (VILELA et al., 2000), contra apenas 68% nas células provenientes de destilaria de álcool (Tabela 3.2).

Essa diferença é, em grande parte, eliminada, submetendo-se a levedura íntegra de destilaria (LI) ao processo de autólise (AUT) ou fazendo-se o isolamento da proteína na forma de concentrado protéico.

A digestibilidade dos autolisados de 86,5% e 76,6% para levedura de cervejaria (VILELA et al., 2000) e de destilaria, respectivamente e dos extratos variando de 95,4% (cervejaria) a 91% (destilaria) evidenciam a importância do processamento, visando melhorar o valor nutritivo da levedura obtida como excedente da fermentação alcoólica.

O consumo de dieta, o ganho de peso e o índice NPR (Tabela 3.3) não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$), neste trabalho, entre o EXT, CPF e a caseína comercial, evidenciando um elevado valor protéico para os derivados de levedura provenientes da fermentação alcoólica. O ganho cumulativo de peso (21 dias) para ratos mantidos em dieta de CPF, caseína, EXT, AUT e LI de levedura é apresentado na Figura 3.1.

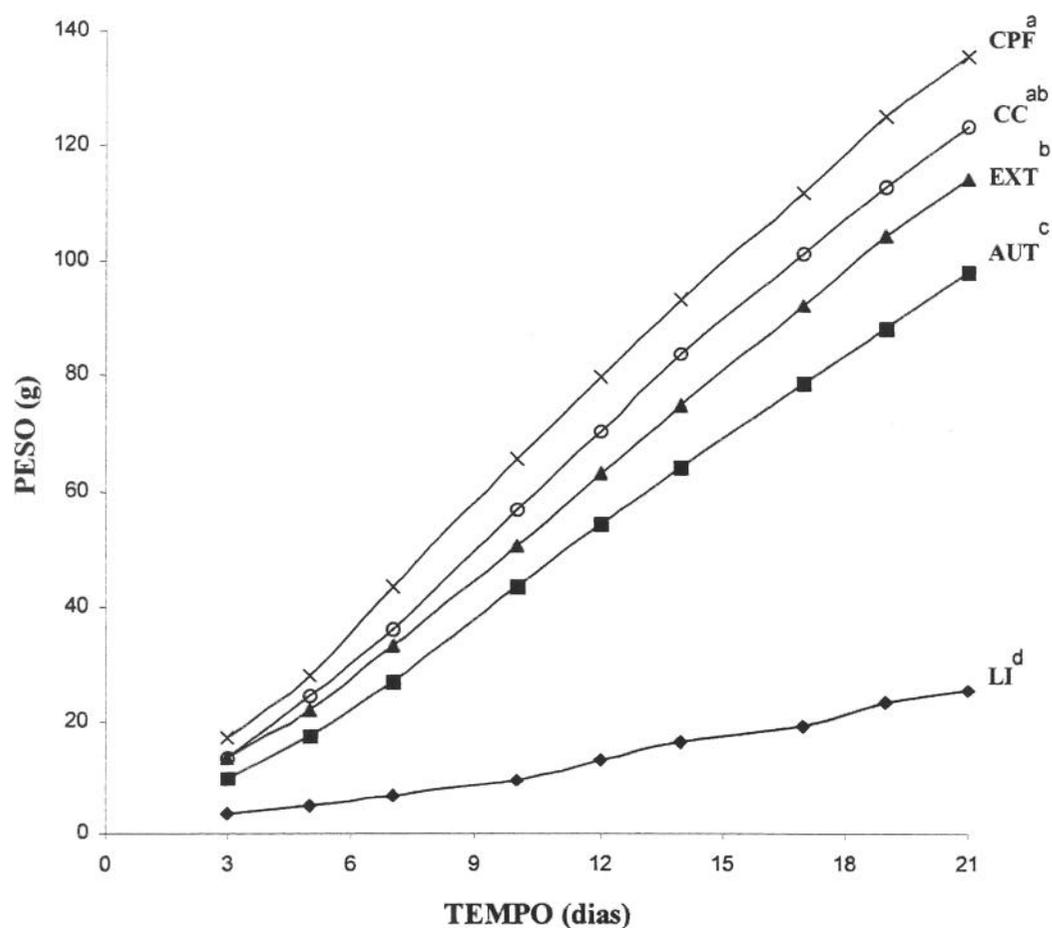


Figura 3.1. Curvas de ganho de peso para ratos alimentados por 21 dias com dietas contendo caseína comercial, CC; levedura íntegra ou derivados de levedura, como única fonte de proteína (10%), autolisado, AUT; extrato, EXT e concentrado protéico fosforilado, CPF.

3.4. CONCLUSÕES

- Os derivados da levedura de destilaria de álcool (*Saccharomyces sp.*) constituem fontes abundantes de proteína de bom valor nutritivo (cerca de 80 a 90%) em relação à caseína, levando-se em consideração os vários índices de avaliação biológica, com exceção da levedura íntegra seca que apresentou menores índices.
- Entre os derivados testados, o concentrado protéico fosforilado promoveu maior crescimento dos ratos, seguido pelo extrato, autolisado e, por último, a levedura íntegra.
- A composição em aminoácidos essenciais da proteína, nos produtos de levedura estudados, apresentou ligeira deficiência em leucina no extrato (EAE=87,4) e levedura íntegra (EAE=91,7) e em aminoácidos sulfurados totais no concentrado protéico fosforilado (EAE=93,2), enquanto o autolisado forneceu escore de aminoácidos essenciais superior à referência da FAO/WHO.
- Comparados com a levedura íntegra (LI), a proteína dos derivados de levedura apresentou maior digestibilidade, mais alto valor nutritivo e maior poder de promover crescimento em ratos jovens.
- valor protéico do CPF e a capacidade de promover crescimento em ratos, igualou-se ao da caseína usada como proteína de referência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC – Association of Official Analytical Chemists . **Official methods of analysis of AOAC International**, 17th ed, Maryland, 2000.
- CABALLERO-CÓRDOBA, G.M.; PACHECO, M.T.B.; SGARBIERI, V.C. Composição química de biomassa de levedura integral (*Saccharomyces sp.*) e determinação do valor nutritivo da proteína, em células íntegras ou rompidas mecanicamente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.17, n.2, p. 102-106, 1997.

- FAO/WHO. Protein quality evaluation. Report of the joint FAO/WHO expert consultation. Food and Nutrition paper n. 51. **Food and Agriculture Organizations and the World Health Organization**, Rome, Italy, 1989
- HALÁSZ, A.; LÁSZTITY, R. **Use of yeast biomass in food production**, CRC Press, Boca Raton, FL, 312p, 1991.
- HENLEY, E.C.; KUSTER, J.M. Protein quality evaluation by protein digestibility – corrected aminoacid scoring. **Food Technology**, Chicago, April, p. 74-77, 1994.
- MARIATH, J.G.R.; ZUCAS, S.M. Valor nutricional da proteína isolada do resíduo de cerveja. **Revista da Associação Brasileira das Indústrias de Alimentos – ABIA**, São Paulo, v. 65, p. 24-36, MAR/ABR, 1983.
- OTERO, M.A.; VASALLO, M. C.; VERDECIA, O.; FERNÁNDEZ, V.; BETENCOURT, D. A process for the complete fractionation of baker's yeast. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, New York, v. 67, n.1, p. 67-71, 1996.
- PACHECO, M.T.B.; CABALLERO-CÓRDOBA, G.M.; SGARBIERI, V.C. Composition and nutritive value of yeast biomass and yeast protein concentrates. **Journal of Nutritional Sciences and Vitaminology**. Tokyo, v. 46, n.6, p. 601-612, 1997.
- REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C. AIN – 93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on reformulation of the AIN – 76 rodent diet. **Journal of Nutrition** , Bethesda, v.23, p.467-472, 1993.
- ROSALES, F.H. Yeast as protein source for human nutrition. A review. **Acta Microbiology of the Academy of Science of Hungary**, Budapest, v. 31, n.3, p.159-172, 1984.
- RUMSEY, G.L.; HUGHES, S.G.; SMITH, R.R.; KINSELLA, J.E.; SHETTY, K.J. Digestibility and energy values of intact, disrupted and extracts from brewer's dried yeast fed to rainbow trout. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 33, n.3/4, p. 185-193, 1991.

- SARWAR, G.; SHAH, B.G.; MONGEAU, R.; HOPPNER, K. Nucleic acid, and fiber and nutrient. Composition of inactive dried food yeast. **Journal of Food Science**, Chicago, v.50, n.2, p.353-357, 1985.
- SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos. Propriedades – degradações – modificações**. Livraria Varela, São Paulo, 517p, 1996.
- SPACKMAN, D.H.; STEIN, W.H.; MOORE, S. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of aminoacids. **Analytical Chemistry**, Washington, v.30, n.9, p.1190-1206, 1958.
- SPIES, J.R. Determination of tryptophan in proteins. **Analytical Chemistry**, Washington DC, v.39, n.10, p.1412-1415, 1967.
- 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.*). **Revista de Nutrição**, Campinas, v.13, n.3, p.185-192, set./dez., 2000.

CAPÍTULO 4

**PROPRIEDADES FUNCIONAIS TECNOLÓGICAS DE DERIVADOS
DE LEVEDURA (*Saccharomyces sp.*) DE DESTILARIA DE ÁLCOOL**

RESUMO

As modificações ocorridas na estrutura da proteína e o grau de desnaturação, ocasionados principalmente pelos métodos de extração, são fatores que causam alterações na funcionalidade. Visando à utilização de derivados de levedura (*Saccharomyces sp.*) de destilaria de álcool como ingrediente funcional, fez-se a avaliação de algumas propriedades funcionais. O processo de autólise proporcionou derivados de levedura com alta solubilidade, independentemente do pH (3 a 7), sendo maior no extrato (EXT), seguido do autolisado (AUT). Os concentrados protéicos fosforilado (CPF) e tratado termicamente (CPT) apresentaram solubilidade em pH de 5 a 7 comparáveis ao isolado (IPS) e proteína texturizada de soja (PTS). As isotermas de adsorção mostraram higroscopicidade da LI menor que do AUT e do EXT, sugerindo a necessidade de utilização de embalagens com baixa permeabilidade ao vapor de água para o AUT e EXT. A capacidade de retenção de água do AUT não diferiu significativamente da PTS; já o CPF não diferiu do IPS nos pHs 5 e 6, apesar de ter apresentado menor valor no pH 7. O CPF de levedura e o IPS formaram emulsões nas condições da metodologia utilizada, enquanto o AUT, EXT, CPT de levedura e a PTS não formaram emulsões. Quando o CPT substituiu 20 e 40% da proteína de carne (acém), obteve-se a mais elevada capacidade emulsificante entre todos os derivados de levedura ou de soja testados. A capacidade de estabilizar a emulsão não foi diferente para o CPF de levedura e o IPS. Os valores de viscosidade apresentados pelo EXT foram menores nas concentrações e temperaturas estudadas entre todos os derivados. Na concentração de 6%, o IPS apresentou os maiores valores de viscosidade entre os produtos estudados, seguido de PTS, os concentrados protéicos de levedura, AUT e por último o EXT. Na concentração de 15%, a PTS apresentou viscosidade bastante elevada seguida do CPF e CPT.

4.1. INTRODUÇÃO

As proteínas podem ser adicionadas como ingredientes funcionais ao alimento para ligar água ou gordura, formar géis ou espuma, emulsificar e alterar o sabor, aparência e dar textura. O tipo de proteína e sua estrutura determinarão suas propriedades (GIESE, 1994).

Os extratos de levedura autolisados são freqüentemente adicionados a alimentos processados como um meio de aumentar a proteína alimentar e conteúdo de vitamina e/ou refinar seu perfil de sabor e aroma (OTERO et al., 1996).

Vários fatores como polissacarídeos, lipídios, tipo e disposição de aminoácidos, que compõem as proteínas, podem afetar as propriedades funcionais dos concentrados protéicos de levedura. As modificações ocorridas na estrutura da proteína e o grau de desnaturação, ocasionados principalmente pelos métodos de extração, são fatores que causam alterações de suas propriedades físico-químicas e, conseqüentemente, de sua funcionalidade.

Neste trabalho, avaliaram-se algumas propriedades funcionais de derivados de levedura, comparando-os com derivados de soja.

4.2. MATERIAL

As amostras utilizadas nesta pesquisa foram: levedura íntegra (LI); autolisado de levedura (AUT); extrato de levedura (EXT); concentrado de proteína fosforilada de levedura (CPF); concentrado de proteína de levedura tratada termicamente (CPT); proteína texturizada de soja (PTS) e isolado protéico de soja (IPS). A preparação das amostras de LI, AUT, EXT, CPF e CPT foi apresentada com detalhes no capítulo 2.

A proteína texturizada de soja (PTS) e o isolado protéico de soja (IPS) são produtos comerciais, respectivamente MAXTEN R-100 e SAMPROSOY MP-90 e gentilmente fornecidos pela Empresa Ceval Alimentos.

4.3. MÉTODOS

Em virtude do grande número de variáveis para a avaliação de propriedades funcionais, utilizaram-se a proteína texturizada e o isolado protéico de soja comerciais como referências.

4.3.1. Viscosidade

A viscosidade é uma propriedade reológica importante, tanto para o processamento como para a funcionalidade e para a aceitação de produtos alimentícios pelo consumidor.

A viscosidade foi determinada para os derivados AUT, EXT, CPF, CPT de levedura e IPS e PTS. As curvas de viscosidade dos derivados de levedura e soja foram determinadas em aparelho RVA Rapid Visco Analyser, Newport Scientific. Os testes foram realizados em 160rpm para as concentrações de 6% e 15% (p/p) dos derivados. A temperatura foi mantida durante 2 minutos a 25°C, 33°C, 60°C, 70°C e 80°C. O incremento entre uma temperatura e outra foi obtido dentro de um minuto. Após o aquecimento até 80°C, na fase de resfriamento baixou-se a temperatura até 30°C. Cada derivado foi testado em duplicata.

4.3.2. Capacidade de retenção de água (CRA)

O potencial de retenção de água foi determinado conforme preconizado por REGENSTEIN et al. (1979), com pequenas adaptações às condições do laboratório. Foram preparadas dispersões de proteína a 1%, em água. Após agitação por 1 hora, as amostras foram centrifugadas a 30.000xg por 15min a 5°C. A proteína do sobrenadante foi determinada pelo método Kjeldahl (semimicro) e a do precipitado por diferença da amostra inicial, expressando-se o resultado em gramas de água retida por grama de proteína, por meio da equação:

$$\text{CRA} = \frac{\text{Peso amostra hidratada (g)} - \text{peso amostra original (g)}}{\text{Concentração de proteína na amostra (g)}}$$

4.3.3. Isotermas de adsorção de água

A isoterma de adsorção de vapor de água representa o equilíbrio da adsorção a uma temperatura constante, entre a pressão de vapor da água na fase gasosa e o conteúdo de umidade do material em questão (GAL, 1981).

Foram utilizados pesa-filtros para conter as amostras, dessecadores e soluções supersaturadas dos seguintes sais: MgCl₂, Mg(NO₃)₂, NaCl e BaCl₂. Utilizou-se estufa com

temperatura controlada a 25°C. Para o preparo de soluções supersaturadas adicionou-se sal, em excesso, em água desionizada quente, de modo a ficar uma grande quantidade de sal não dissolvido. Após resfriar, adicionou-se mais sal. As umidades relativas (URs) proporcionadas pelas soluções supersaturadas dos diferentes sais foram : (MgCl₂) 32,78%; (Mg(NO₃)₂) 52,89%; (NaCl) 75,1% e (BaCl₂) 90,3%.

As amostras foram pesadas nos pesa-filtros e colocadas nos dessecadores já contendo as soluções supersaturadas, na mesma ordem em que seriam retiradas para pesagem, após diferentes intervalos de tempo, até apresentarem peso constante, quando atingem o equilíbrio com a umidade relativa. O cálculo de porcentagem de variação da massa foi feito aplicando-se a relação: % var. massa = [(massa de amostra/massa inicial) – 1 x 100] . Os resultados são expressos em gramas de água adsorvida/grama de amostra seca.

4.3.4.Solubilidade

- A solubilidade da proteína nos derivados secos foi determinada pelo método de MORR et al. (1985), que é uma modificação do procedimento do índice de solubilidade do nitrogênio. A porcentagem de proteína solúvel foi calculada pela equação:

$$\text{Solubilidade(\%)} = \frac{\text{Concentração da proteína do filtrado (mg/mL)} \times 50}{\text{Peso da amostra (mg)} \times \frac{\text{Conteúdo de proteína da amostra (\%)}}{100}} \times 100$$

A solubilidade foi avaliada em solução aquosa, nos valores de pH 3,0 , 4,0 , 5,0 e 7,0 , faixa de pH da maioria dos alimentos, em solução aquosa, sendo os pHs ajustados com NaOH 0,1N ou HCl 0,1N. As suspensões foram deixadas em agitação por uma hora a 25°C e a proteína solúvel no sobrenadante após centrifugação e a filtração foi determinada pelo método semimicro Kjeldahl.

- Solubilidade da proteína extraída de levedura em diferentes valores de pH e na presença de 3% de TMFS, conforme Figura 4.1. O teor de nitrogênio solubilizado no

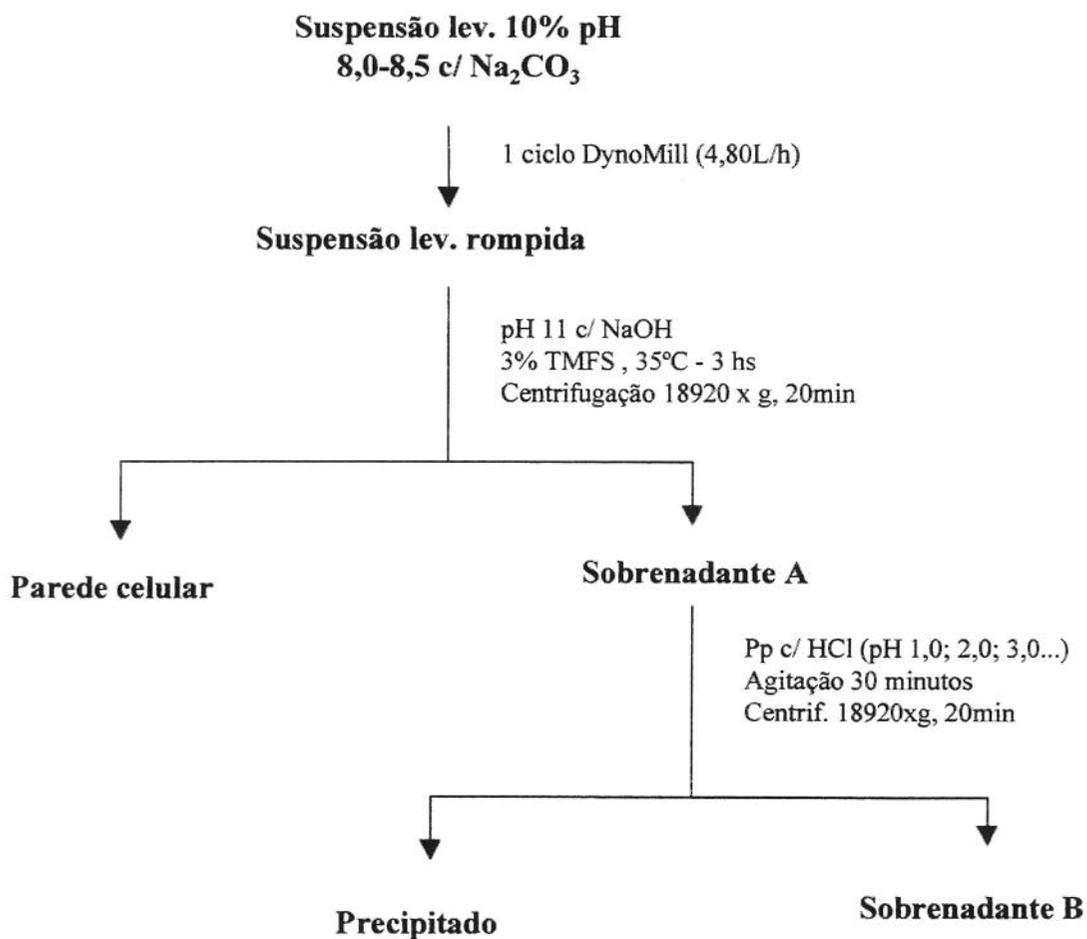


Figura 4.1. Fluxograma para obtenção da curva de solubilidade da proteína extraída de levedura em diferentes valores de pH e na presença de 3% de TMFS

sobrenadante B foi determinado pelo método semimicroKjeldahl e calculado em relação ao nitrogênio total na suspensão inicial.

4.3.5. Capacidade de emulsificação

É definida como a quantidade máxima de óleo que pode ser dispersa em fase aquosa para um dado procedimento experimental. Esta análise foi realizada conforme procedimento descrito por DE KANTEREWICZ et al. (1987), utilizando-se o homogeneizador Ultra-Turrax T-25 (Junkel & Kunkel).

Dispersões a 1% de proteína e óleo foram combinados em diferentes proporções mantendo o volume total igual a 50mL, até encontrar o ponto onde ocorreu colapso da emulsão. Tomou-se a proporção, dispersão/solução, anterior ao ponto de colapso e através de uma bureta adicionaram-se volumes de 1 mL de óleo até causar a quebra da emulsão, visualizada pela separação das fases. As emulsões foram agitadas à velocidade de 9500rpm, por um tempo de três minutos, antes de se adicionarem os incrementos de 1mL de óleo, sendo mantidas em banho de gelo para evitar o aquecimento da amostra. A capacidade de emulsificação foi expressa em mL de óleo adicionado até alcançar o ponto de inversão, por g de proteína.

4.3.6. Estabilidade de emulsão (EE)

Foi determinada de acordo com a metodologia descrita por ACTON & SAFLE (1970) com algumas adaptações às condições do laboratório. As emulsões foram feitas com 50mL de óleo de soja e 50mL de dispersões de proteína a 1%, que foram homogeneizadas a 9500rpm (homogeneizador Ultra-Turrax T-25) por 3 minutos em banho de gelo. Alíquotas de 10mL foram colocadas em tubos de ensaio e deixadas por 24 horas a $37 \pm 2^\circ$ C. Foi determinada a umidade da emulsão recém-preparada em alíquota tomada no fundo do tubo. Após 24 horas a 37° C, removeram-se com pipeta 5mL da amostra do fundo do tubo e foi determinada novamente a umidade. A razão da estabilidade para cada amostra foi determinada com base na alteração da porcentagem de umidade.

$$EE (\%) = \frac{100 - U_{24h}}{100 - U_{inicial}} \times 100$$

onde,

EE= estabilidade de emulsão

U_{24h} = % umidade após 24 horas

$U_{inicial}$ = % umidade da emulsão recém-preparada

4.3.7. Emulsões mistas de carne e derivados de levedura ou de soja

A determinação foi realizada com acém moído duas vezes através de disco de 3mm. A desintegração e dispersão do tecido (carne) foi realizada conforme SWIFT et al. (1961) com solução de cloreto de sódio 1M. Em um copo de aço inoxidável pesaram-se 25g de acém, adicionaram-se 100g de solução de cloreto de sódio 1M resfriada e homogeneizou-se durante 2 minutos em homogeneizador Sorvall-Omni Mixer. Após a dispersão da carne, foi determinada a capacidade de emulsificação conforme a metodologia descrita em item anterior, a partir de uma suspensão a 1% de proteína de carne. Uma vez determinada a capacidade emulsificante da carne, substituiu-se 20 e 40% da proteína de carne por proteína do derivado de levedura.

4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1. Viscosidade

O comportamento reológico (viscosidade) determinado em diferentes temperaturas para o autolisado, extrato de levedura, concentrados protéicos de levedura fosforilado e tratado termicamente e isolado protéico e proteína texturizada de soja é apresentado na Tabela 4.1.

Para o extrato de levedura, como era de se esperar, pelo seu alto grau de proteólise (HALÁSZ & LAZTITY, 1991), a viscosidade apresentou-se bem inferior aos demais derivados nas concentrações e temperaturas testadas. A viscosidade da suspensão de extrato foi praticamente independente da concentração na faixa estudada.

Na concentração de 6%, o IPS apresentou os maiores valores de viscosidade entre os derivados testados, seguido da PTS, os concentrados protéicos de levedura, autolisado e por último o extrato. Na concentração de 15%, a PTS apresentou valores bastante elevados seguida do CPF e CPT. A viscosidade do autolisado foi ligeiramente mais elevada que a do extrato de levedura.

Tabela 4.1. Viscosidade (cp x 10⁻²) dos derivados de levedura e de soja

Concen- tração (p/p)	Derivado	25°C	33° C	60°C	70°C	80°C	30° C**
6%	AUT	34,7	25,7	22,0	17,0	18,0	21,7
	CPF	44,0	24,0	19,0	17,5	17,0	18,0
	CPT	35,5	28,5	24,0	22,0	20,0	22,5
	EXT	29,5	20,5	15,2	15,0	13,5	15,5
	PTS	51,0	31,0	27,0	24,5	25,0	29,0
	IPS	134,5	106,0	76,0	51,0	24,0	13,5
15%	AUT	36,0	29,0	20,0	18,5	16,5	24,0
	CPF	194,0	139,5	72,0	60,0	52,5	70,0
	CPT	53,0	50,0	34,0	34,0	34,0	55,0
	EXT	29,5	17,0	12,5	12,0	10,0	12,0
	PTS	202,0	179,5	201,5	316,5	483,0	1007,0

* Os resultados são a média de 2 determinações e portanto, não foi realizada a análise estatística.

**Viscosidade a 30°C na etapa de resfriamento após as amostras terem sido aquecidas até 80°C.

4.4.2.Capacidade de retenção de água

Os resultados relativos à capacidade de retenção de água dos derivados de levedura e de soja são mostrados na Tabela 4.2. Devido à alta solubilidade em água, não foi possível realizar esta determinação para o extrato de levedura.

Tabela 4.2. Capacidade de retenção de água (g de água/ g de proteína)* dos derivados de levedura, autolisado (AUT), concentrado protéico fosforilado (CPF) e de soja, proteína texturizada (PTS) e isolado protéico (IPS), em 3 valores de pH.

pH	AUT	CPF	PTS	IPS
5,0	9,0±1,7 ^{aA}	4,6±0,6 ^{bB}	7,7±0,7 ^{aBC}	5,6±0,4 ^{bC}
6,0	8,0±1,4 ^{aA}	8,4±1,1 ^{aA}	9,2±1,2 ^{aAC}	9,8±1,0 ^{aB}
7,0	9,7±2,0 ^{bA}	9,2±0,7 ^{bA}	10,2±1,6 ^{bA}	16,8±2,9 ^{aA}

* Média da determinação de 6 repetições ± desvio padrão

** Médias com sobrescritos minúsculos iguais numa mesma linha não diferem significativamente (p> 0,05)

*** Médias com sobrescritos maiúsculos iguais numa mesma coluna não diferem significativamente (p>0,05)

Neste estudo verificou-se que, exceto para o AUT que não apresentou variação, a capacidade de retenção de água foi afetada pelo pH. Observa-se que os menores valores de retenção de água ocorreram em pH 5,0. Os valores de capacidade de retenção de água obtidos para o concentrado protéico fosforilado foram menores nos valores de pH 5, 6 e 7 do que aqueles obtidos para concentrado protéico fosforilado de levedura de cervejaria (5,11 a 18,61g água/g proteína), porém superiores aos observados para concentrado protéico extraído com perclorato de sódio (4,30 a 6,07) por PACHECO & SGARBIERI (1998).

As variações de pH modificam a ionização e a carga líquida da molécula protéica, alterando as forças atrativas e repulsivas entre as proteínas e sua capacidade de interagir com a água. O pH da solução de proteína tem influência sobre a solubilidade e a capacidade de retenção de água. Esta propriedade é em grande parte dependente da presença de grupos hidrofílicos na proteína. No ponto isoelétrico, as interações proteína-proteína são máximas, fazendo com que as proteínas apresentem mínima capacidade de hidratação (ZAIAS, 1997).

4.4.3. Isotermas de adsorção de água

As isotermas de sorção de água (25 °C) para a levedura íntegra (LI) desidratada, para o autolisado (AUT) e extrato de levedura (EXT), são ilustradas na Figura 2.

Observa-se que para a levedura íntegra (LI) a adsorção de água foi lenta e aproximadamente linear até umidade relativa de 60%. Acima de 70% de umidade relativa a adsorção foi mais rápida e dependente do tempo de exposição, continuando a tendência ascendente mesmo em umidade relativa elevada (90%).

Para o autolisado (AUT), a higroscopicidade do material parece ser mais elevada e a adsorção de água revela uma dependência maior do tempo de exposição em umidades relativas mais baixas que para a LI.

O extrato de levedura apresenta higroscopicidade maior que o autolisado e a levedura íntegra, sendo o que apresentou alterações nas características mais rapidamente, com empedramento e alterações na cor, em ambientes de alta umidade relativa.

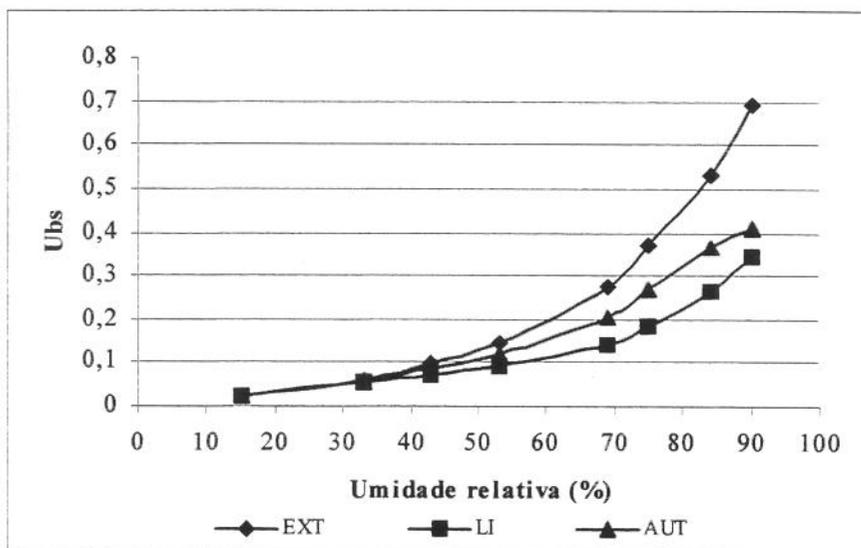


Figura 2. Isotermas de adsorção de água a 25°C para LI, AUT e EXT de levedura

As isotermas de adsorção dão indicações importantes para a especificação do tipo de embalagem mais adequada para os diversos produtos. O extrato por ser mais higroscópico, exige a utilização de embalagens com baixa permeabilidade ao vapor de água, seguido do autolisado e a levedura íntegra, para a manutenção das suas características.

4.4.4. Solubilidade

Os resultados de solubilidade dos derivados de levedura e soja estão apresentados na Tabela 4.3.

Pode-se observar alta solubilidade para o extrato, isto porque este é constituído da fração solúvel do material após ter sofrido autólise. Os valores para o autolisado apresentaram-se inferiores aos do extrato devido à presença de compostos insolúveis da parede celular.

Ao se observar os dados de solubilidade dos produtos de levedura nota-se que somente o concentrado protéico tratado termicamente apresentou uma ligeira queda (ponto isoelétrico) no pH 4,0, enquanto os demais derivados (EXT, AUT e CPF) não apresentaram curva de solubilidade característica de uma proteína com os valores do ponto isoelétrico definido como observado por PACHECO (1996).

Tabela 4.3: Solubilidade de derivados de levedura em água* a 25°C e em 4 valores de pH.

Derivado	pH			
	3,0	4,0	5,0	7,0
EXT	88,7±2,4 ^{aA}	91,1±0,0 ^{aA}	90,3±1,4 ^{aA}	91,5±0,7 ^{aA}
AUT	66,1±2,9 ^{bA}	66,4±3,0 ^{bA}	67,4±1,7 ^{bA}	67,9±1,6 ^{bA}
CPF	3,1±1,0 ^{dC}	5,9±0,5 ^{cB}	8,1±0,5 ^{cB}	16,2±1,4 ^{dA}
CPT	4,5±0,9 ^{dBC}	3,6±0,0 ^{cC}	5,7±0,5 ^{ceB}	9,2±0,5 ^{eA}
PTS	4,1±1,8 ^{dB}	4,1±0,7 ^{cB}	5,3±1,4 ^{cdAB}	8,2±1,9 ^{eA}
IPS	14,9±2,2 ^{cB}	3,2±0,4 ^{cC}	2,7±0,4 ^{deC}	20,7±0,4 ^{cA}

*Resultados são a média de 3 determinações analíticas ± desvio padrão

**Médias com letras sobreescritas minúsculas iguais numa mesma coluna não diferem significativamente ($p>0,05$)

***Médias com letras sobreescritas maiúsculas iguais numa mesma linha não diferem significativamente ($p>0,05$)

A variação de pH não afetou a solubilidade da proteína do extrato e do autolisado de levedura. Por outro lado, os concentrados protéicos apresentaram alteração nos valores de solubilidade em função do pH. Observando os dois concentrados protéicos de levedura, verifica-se maior solubilidade em pH 7,0 para o CPF em relação ao CPT. O aumento da solubilidade do CPF pode ser causado pela repulsão eletrostática que ocorre entre os grupos fosfóricos adicionados aos resíduos laterais da cadeia polipeptídica, ocasionando maior interação entre proteína e água. Os valores de solubilidade dos derivados de levedura indicam que poderiam ser usados em produtos com pH próximo à neutralidade (5 a 7).

KOIVURINTA et al. (1980) relataram que o perfil de solubilidade (pH 3 a 12) de *distiller's stillage*, levedura de cervejaria e *brewer's grain* secos indicaram proteínas fortemente desnaturadas e que não foram observados pontos isoelétricos para esses materiais.

A curva de solubilidade da proteína aquecida a 35°C, na presença de TMFS (Figura 3) mostra insensibilidade às mudanças na faixa de pHs 1 a 4, mostrando aumento sensível de solubilidade em pHs acima de 5,0. Essa curva revela uma redução da solubilidade entre os pHs 3 e 4 indicando o ponto isoelétrico, porém não muito definido, o que dificulta o isolamento da proteína, pela precipitação isoelétrica.

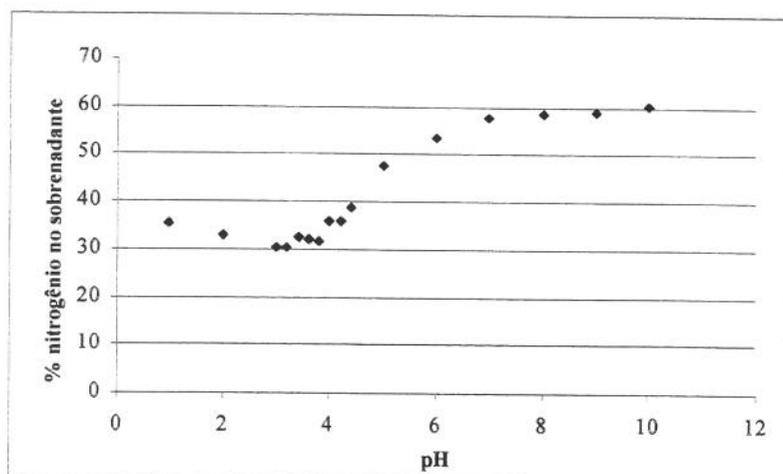


Figura 3. Curva de solubilidade da proteína extraída de levedura em diferentes valores de pH, na presença de 3% (p/p) de trimetafosfato de sódio (TMFS).

A diferença marcante nos valores encontrados para solubilidade na Figura 3 com os da Tabela 4.3, deve-se ao fato de terem sido determinados em proteínas de mesma origem, mas que foram submetidas a um maior ou menor número de etapas de processo. Os resultados para CPF da Tabela 4.3, por exemplo, referem-se a uma proteína que apresentou algumas etapas a mais que os da Figura 3, quais sejam: um ciclo de rompimento celular, precipitação em pH 3,2, lavagem em pH ácido, neutralização até pH 7,0 e liofilização. Além disso, há que se considerar que na Tabela 4.3 a amostra já não contém o mesmo teor de nitrogênio não-protéico (em média 21% foi descartado no sobrenadante 4 do processo de obtenção), enquanto a amostra da Figura 3 ainda considera o nitrogênio total.

4.4.5. Capacidade de emulsificação (CE) e estabilidade de emulsão (EE)

Os resultados sobre a capacidade emulsificante e estabilidade de emulsão do concentrado fosforilado de levedura (CPF) e do isolado protéico de soja (IPS) são apresentados na Tabela 4.4.

O autolisado, extrato, concentrado protéico tratado termicamente de levedura e a proteína texturizada de soja não formaram emulsões nas condições de análise praticadas, não permitindo, portanto, a determinação da estabilidade.

Tabela 4.4. Capacidade de emulsificação e estabilidade de emulsão do concentrado protéico de levedura fosforilado (CPF) e isolado protéico de soja (IPS).

Derivado	CE (mL óleo/g proteína)	EE (%)
CPF	424,6 ± 10,5 ^a	83,5 ± 5,1 ^a
IPS	447,6 ± 10,5 ^a	73,2 ± 5,1 ^a

* Média de 3 determinações analíticas ± desvio-padrão

Médias com letras sobrescritas iguais numa mesma coluna não diferem significativamente ($p > 0,05$)

A baixa capacidade emulsificante do extrato e autolisado de levedura é devida ao processo de autólise onde se tem a ativação das enzimas intracelulares, provocando a hidrólise da proteína em peptídios de menor peso molecular, dificultando a atuação desses derivados como emulsificantes.

Não houve diferença significativa, tanto na capacidade de emulsificação como na estabilidade de emulsão entre o concentrado protéico fosforilado de levedura e o isolado protéico de soja, resultados que concordam com os obtidos por PACHECO (1996).

O valor da capacidade de emulsificação para o concentrado protéico fosforilado foi ligeiramente inferior ao obtido por PACHECO (1996) (492 mL óleo/g proteína).

4.4.6. Emulsões mistas de carne e derivados de levedura ou de soja

Os resultados de testes realizados utilizando derivados de levedura e de soja são apresentados na Tabela 4.5.

Ao substituir 20% ou 40% da proteína de acém por proteína de levedura, o extrato de levedura reduziu significativamente o valor da capacidade de emulsificação de carne (acém), enquanto o concentrado protéico tratado termicamente elevou este valor ($p < 0,05$) tanto com 20% como 40%. O AUT e PTS ao substituírem 20% da proteína do acém não alteraram a sua capacidade de emulsificação, mas com 40% de AUT ocorreu uma redução. A capacidade de emulsificação do acém não foi alterada mesmo com a substituição de 20 ou 40% da proteína por IPS.

Apesar de individualmente o concentrado protéico tratado termicamente não ter formado emulsão nas condições de análise, quando substituiu 20% ou 40% da proteína do acém, provocou um acréscimo do volume de óleo incorporado.

Tabela 4.5. Capacidade emulsificante da carne sem substituição (acém=430,7±9,2ml óleo/g proteína) e de misturas com substituição de 20 e 40% da proteína da carne por derivados de levedura ou soja, expressa em mL óleo/g proteína*

Mistura	Substituição (% de proteína)	
	20	40
Acém e EXT	370,7±25,2 ^{ceA}	361,1±17,1 ^{dA}
Acém e AUT	449,1±6,0 ^{abA□}	409,7±11,0 ^{cb□}
Acém e CPF	408,9±28,4 ^{bdeB□}	463,1±21,7 ^{ba□}
Acém e CPT	484,5±8,3 ^{aB}	506,4±5,2 ^{aA}
Acém e PTS	441,0±20,6 ^{ada□}	398,0±10,3 ^{cdA□}
Acém e IPS	431,2±15,8 ^{bdA□}	447,8±10,2 ^{ba□}

Resultados são média ± desvio-padrão de 3 determinações

Resultados numa mesma coluna com letras sobrescritas minúsculas iguais não diferem significativamente (p>0,05)

Resultados numa mesma linha com letras sobrescritas maiúsculas iguais não diferem significativamente (p>0,05)

Resultados com o símbolo (□) sobrescrito não diferem significativamente (p>0,05) da carne sem substituição

VILELA (2000) encontrou um aumento do volume de óleo necessário para que ocorresse a quebra da emulsão, quando adicionou amostras de levedura à solução de ovalbumina 0,2%, diferente do presente estudo onde foi realizada uma substituição de parte da proteína de acém.

SCHNELL & AKIN (1979) relataram capacidade de emulsificação da levedura, comparáveis às de outros ingredientes como o isolado e concentrado de soja, quando substituíram 25% da carne.

4.5. CONCLUSÕES

- processamento da levedura alterou as propriedades funcionais de cada fração de maneira diferente.
- processo de autólise proporcionou derivados de levedura com alta solubilidade independentemente do pH (3 a 7), sendo maior no extrato seguido do autolisado. Os

concentrados protéicos apresentaram solubilidade em pH de 5 a 7 comparáveis ao isolado protéico e à proteína texturizada de soja.

- Na concentração de 6%, o IPS apresentou os maiores valores de viscosidade entre os derivados testados, seguido da PTS, CPF, CPT, AUT e por último o EXT. Na concentração de 15%, a PTS apresentou valores bastante elevados seguido do CPF, CPT, AUT e EXT.
- As isotermas de adsorção mostraram higroscopicidade da LI menor que do AUT e do EXT, sugerindo a necessidade de utilização de embalagens com baixa permeabilidade ao vapor de água para o AUT e EXT.
- A capacidade de retenção de água foi afetada pelo pH, exceto para o autolisado que não mostrou variação nos pHs estudados. A capacidade de retenção de água do CPF não diferiu do IPS nos pHs 5 e 6, apesar de ter apresentado menor valor no pH7.
- concentrado protéico fosforilado de levedura e o isolado protéico de soja formaram emulsão nas condições utilizadas, enquanto o autolisado, o extrato, o concentrado protéico de levedura tratado termicamente e a proteína texturizada de soja não formaram. Entretanto, o concentrado protéico tratado termicamente quando substituiu 20 e 40% da proteína de carne (acém), proporcionou a mais elevada capacidade emulsificante entre todos os derivados de levedura e soja testados.
- Não houve diferença na estabilidade de emulsão do concentrado protéico fosforilado de levedura e do isolado protéico de soja.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ACTON, J.C.; SAFLE, R.L. Stability of oil-water emulsion 1. Effects of surface tension, level of oil, viscosity and type of meat protein. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 35, n.9, p. 852-855, 1970.
- DE KANTEREWICZ, R.J.; ELIZALDE, B.E.; PILOSO, A.M.R.; BARTHOLOMAI, G.B. Water-oil absorption index (WOAI): A simple method for predicting the emulsifying capacity of food proteins. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 52, n.5, p. 1381-1383, 1987.

- GAL, S. Recent developments in techniques for obtaining complete sorption isotherms. In: ROCKLAND, L.B.; STEWART, G.F. **Water activity: Influences on food quality**. New York, Academic Press, 1981, p.89-110.
- GIESE, J. Proteins as ingredients: types, functions, applications. **Food Technology**, Chicago, v. 58, n.10, p.50-60,1994.
- HALÁSZ, A.; LASZTITY, R. **Use of yeast biomass in food production**. Boca Raton, CRC Press, p. 246, 1991, 312p.
- KOIVURINTA, J.; JUNNILA, M.; KOIVISTOINEN, P. Functional properties of brewer's grain, brewer's yeast and distiller's stillage in food systems. **Lebensmittel Wissenschaft & Technologie**, London, v. 13, n.3, p. 118-122, 1980.
- MORR, C.V.; GERMAN, B.; KINSELLA, J.E.; REGENSTEIN, J.M.; VAN BUREN, J.M.; VAN BUREN, J.P.; KILARA, A.; LEWIS, B.A.; MANGINO, M.E. A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. **Journal of Food Science**, Chicago, v.50, n.6, p. 1715-1718, 1985.
- OTERO, M.A.; VASALLO, M. del C.; VERDECIA, O.; FERNANDEZ, V.; BETANCOURT, D. A process for the complete fractionation of baker's yeast. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, Osney Mead, v.67, n.1, p. 67-71, 1996.
- PACHECO, M.T.B. **Propriedades funcionais, nutricionais e toxicológicas de concentrados protéicos de levedura (*Saccharomyces sp.*) obtidos por diferentes processos de extração**. Tese de doutorado da Universidade Estadual de Campinas, 158p. 1996.
- PACHECO, M.T.B.; SGARBIERI, V.C. Hydrophilic and rheological properties of brewer's yeast protein concentrates. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 63, n.2, p.1-6. 1998.
- REGENSTEIN, J.M.; GORIMAR, T.S.; SHERLON, J.W. Measuring the water holding capacity of natural actomyosin from chicken breast muscle in the presence of pyrophosphate and divalent cations. **Journal of Food Biochemistry**, Westport, vol.3, n.4, p. 205-211, 1979.

- SCHNELL, P.G.; AKIN, C. Functional properties of yeast grown on ethyl alcohol. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 56, n.1, p. 82A – 85A, 1979.
- SWIFT, C.E.; LOCKETT, C.; FRYAR, A.J. Comminuted meat emulsions – The capacity of meats for emulsifying fat. **Food Technology**, Chicago, v.15, n.10, p. 468-473, 1961.
- VILELA, E.S.D. **Obtenção e caracterização de derivados da biomassa de levedura (*Saccharomyces sp.*): propriedades nutritivas e funcionais**. Tese de mestrado. Universidade Estadual de Campinas, 142p, 2000.
- ZAIAS, J.F. **Functionality of proteins in food**. Springer, Verlag Berlin, 1997, 373p.

CAPÍTULO 5

**UTILIZAÇÃO DE AUTOLISADO, EXTRATO E CONCENTRADO
PROTÉICO FOSFORILADO DE LEVEDURA (*Saccharomyces sp.*) DE
DESTILARIA DE ÁLCOOL EM PRODUTO CÁRNEO
EMULSIONADO**

RESUMO

Os métodos de processamento de embutidos cárneos permitem a inclusão de uma variedade de ingredientes conhecidos como extensores. Assim, existe um grande potencial para a utilização de derivados de levedura como um ingrediente não-cárneo. A levedura é reconhecida mundialmente como excelente fonte de proteínas, vitaminas do complexo B, minerais essenciais e fibra dietética. Visando à utilização de derivados de levedura em embutidos cárneos, fizeram-se avaliações tecnológicas, químicas, físicas e sensoriais em salsichas adicionadas de autolisado (AUT), extrato (EXT) e concentrado protéico fosforilado (CPF) de levedura de destilaria de álcool, comparando-as com salsichas adicionadas de proteína texturizada de soja (PTS). As salsichas produzidas com 4% de adição (p/p) de PTS ou de AUT foram tecnologicamente semelhantes ou superiores à produzida com 4% de EXT; 8% de EXT resultou em quebra da emulsão cárnea. A semelhança entre salsichas com 4% de PTS e AUT revelou-se também em relação aos atributos sensoriais (aroma, sabor e textura). A salsicha com 4% de EXT revelou-se de menor qualidade sensorial e menor aceitação pelo consumidor do que a salsicha contendo a mesma proporção de AUT. As salsichas com substituição de 1,5% de proteína da carne por proteína de PTS e CPF apresentaram maior estabilidade de emulsão, seguida pela salsicha com AUT e com a menor estabilidade para a salsicha com EXT. O AUT, substituindo 1,5% da proteína da carne, conferiu à salsicha sabor e aroma que não diferiram estatisticamente da salsicha substituída por EXT. A salsicha com até 0,75% de proteína de EXT (equivalente a 1,5% de extrato de levedura) apresentou características químicas, físicas e organolépticas iguais (perda de peso no cozimento, porcentagem de suco exsudado na embalagem, aceitação) ou melhor (cor subjetiva) que a salsicha com 1,5% de proteína de PTS.

5.1. INTRODUÇÃO

KOLLAR et al. (1992), no uso da levedura e seus derivados em indústrias de alimentos para produção de sopas desidratadas e produtos cárneos, ressaltaram a importância de propriedades funcionais específicas para estes produtos, a saber: solubilidade, absorção de água e óleo, retenção de água e capacidade emulsificante.

Na indústria de alimentos, o extrato de levedura é usado como um *realçador de sabor* servindo também para melhorar as propriedades sensorial e nutricional, substituindo em parte ou completamente o extrato de carne. Na produção de salame é conhecido como *meat flavouring* e tem substituído o extrato de carne anteriormente usado com o mesmo objetivo (ZAMBONELLI et al., 2000).

Vários fatores como polissacarídeos, lipídios, tipo e disposição de aminoácidos que compõem as proteínas podem afetar as propriedades funcionais dos concentrados protéicos de levedura. As modificações ocorridas na estrutura da proteína e o grau de desnaturação, ocasionados principalmente pelos métodos de extração, são fatores que causam alterações de suas propriedades físico-químicas e conseqüentemente de sua funcionalidade.

É notório que as propriedades funcionais dos alimentos não dependem somente das proteínas, mas também de outros componentes que entrem em sua composição. Da mesma forma, a medida de uma propriedade funcional de uma proteína purificada ou isolado protéico não resulta em contribuição igual na propriedade funcional em questão, quando medida no próprio alimento (SGARBIERI, 1996). Daí a importância do estudo das propriedades funcionais de proteínas extraídas em um sistema complexo como a produção de um produto cárneo. Desta forma, a proposta deste trabalho foi avaliar a utilização dos derivados de levedura em produto cárneo emulsionado.

Dentre as propriedades funcionais mais desejáveis na obtenção de um produto cárneo emulsionado estão a capacidade de emulsificação, a estabilidade de emulsão, a gelatinização e a capacidade de retenção de água.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

As amostras usadas nesta pesquisa foram: autolisado de levedura (AUT); extrato de levedura (EXT); concentrado de proteína fosforilada de levedura (CPF) e proteína texturizada de soja (PTS). A preparação das amostras de AUT, EXT e CPF foi apresentada com detalhes no capítulo 2.

A proteína texturizada de soja (PTS) é o produto comercial MAXTEN R-100 fornecido gentilmente pela Empresa Ceval Alimentos.

A proteína texturizada de soja (PTS) foi utilizada para comparação por ser a proteína derivada da soja mais utilizada em produtos cárneos com o objetivo de substituir parte da proteína cárnea ou melhorar a estabilidade da emulsão, quando esta não é segura devido ao tipo de matéria-prima cárnea utilizada (por exemplo, carne mecanicamente separada). A legislação brasileira (BRASIL, 2000) permite a adição de proteína não-cárnea em até 4%, como proteína agregada em salsichas.

5.2.1. Formulação das salsichas

Foram realizados três ensaios:

Ensaio A: substituição da carne por PTS (4%), AUT (4%) e EXT (4% e 8%);

Ensaio B: substituição da proteína da carne por proteína de PTS, proteína de AUT, proteína de EXT e do CPF (1,5% de proteína em substituição à proteína da carne);

Ensaio C: substituição da proteína da carne por proteína de PTS (1,5% de proteína) e EXT (0,5% , 0,75% e 1,0% de proteína de levedura em substituição à proteína de carne).

O primeiro ensaio foi considerado um ensaio preliminar com a finalidade de verificar os possíveis níveis de adição dos derivados e, portanto foi realizado sem repetição dos processamentos das salsichas, enquanto nos dois últimos ensaios foram realizadas triplicatas de processamento, em três períodos diferentes.

No ensaio A, foi realizada a substituição de carne por 4% dos derivados, por ser este o nível médio comercialmente praticado com a proteína texturizada de soja em produtos cárneos. A

substituição por 8% de extrato foi realizada, considerando-se o limite máximo de 4% de proteína não-cárnea como proteína agregada em salsichas na legislação brasileira.

No ensaio B, as salsichas foram formuladas para substituir 1,5% da proteína cárnea por proteína dos derivados de levedura e comparados com a proteína texturizada de soja. A substituição de 1,5% de proteína e não da porcentagem do derivado foi realizada devido aos diferentes conteúdos protéicos dos derivados.

5.2.1.1. Ensaio A - Substituição de carne por PTS, AUT e EXT

As proporções dos vários ingredientes utilizados na formulação das salsichas são apresentadas na Tabela 5.1.

Tabela 5.1. Formulação das salsichas com proteína texturizada de soja, autolisado e extrato de levedura (Ensaio A).

Ingredientes (%)	PTS (4%)	AUT (4%)	EXT	
			(4%)	(8%)
Paleta bovina	23,86	24,60	24,07	17,20
Carne mec. separada frango	27,83	28,69	28,08	24,08
Toucinho	17,89	18,44	18,05	18,92
Água	20,87	18,95	20,36	26,74
Fécula	1,99	1,95	2,01	1,98
Sal	1,79	1,84	1,80	1,80
Sal de cura	0,30	0,20	0,20	0,26
Antioxidante	0,30	0,20	0,20	0,26
Tripolifosfato	0,30	0,20	0,20	0,26
Condimentos	0,50	0,51	0,50	0,43
Fumaça líquida	0,04	0,04	0,04	0,04
Proteína texturizada soja	3,98	-	-	-
Autolisado levedura	-	4,00	-	-
Extrato levedura	-	-	4,01	8,0

5.2.1.2. Ensaio B - Substituição de 1,5% de proteína de carne por proteína da PTS, do AUT, do EXT ou do CPF

A formulação da salsicha foi determinada através de uma planilha de cálculo onde foram inseridos os valores de umidade, gordura e proteína das matérias primas-cárneas e ingredientes (EXT, AUT, CPF e PTS). A formulação foi balanceada para substituir 1,5% da proteína cárnea por proteína desses derivados, mantendo uma relação umidade/proteína igual a 4,7. As formulações de salsicha são apresentadas na Tabela 5.2.

Tabela 5.2. Formulação das salsichas com substituição de 1,5% da proteína cárnea por proteína de extrato, autolisado, concentrado protéico de levedura e proteína texturizada de soja (Ensaio B).

Ingrediente (%)	EXT	AUT	CPF	PTS
Paleta bovina	32,24	31,90	32,43	32,31
Carne mec. separada frango	34,58	34,22	34,79	34,66
Toucinho	15,24	15,08	15,33	15,28
Água	9,73	9,74	9,90	9,64
Fécula	1,99	1,97	2,00	2,00
Sal	1,76	1,74	1,77	1,76
Sal de cura	0,23	0,23	0,23	0,23
Antioxidante	0,23	0,23	0,23	0,23
Tripolifosfato	0,23	0,23	0,23	0,23
Condimentos	0,47	0,46	0,47	0,47
Fumaça líquida	0,05	0,05	0,05	0,05
Extrato levedura	3,16	-	-	-
Autolisado levedura	-	3,94	-	-
Concentrado prot.fosforilado	-	-	2,48	-
Proteína texturizada soja	-	-	-	3,06

5.2.1.3. Ensaio C - Substituição de proteína cárnea por proteína de extrato de levedura e proteína da proteína texturizada de soja em salsicha

A formulação da salsicha foi determinada por meio de uma planilha de cálculo, onde foram inseridos os valores de umidade, gordura e proteína das matérias-primas cárneas e ingredientes (EXT e PTS). A formulação foi balanceada para substituir a proteína cárnea por 0,5%, 0,75% e 1,0% de proteína de extrato de levedura e 1,5% de proteína de PTS (equivalentes a 0,99%, 1,45% e 2,02% de extrato de levedura e 2,97% de PTS), mantendo uma relação umidade/proteína igual a 4,7. As formulações de salsicha são apresentadas na Tabela 5.3.

Tabela 5.3. Formulação das salsichas com substituição da proteína da carne por proteína de extrato de levedura e proteína texturizada de soja (Ensaio C).

Ingrediente (%)	Extrato de levedura			Prot Text. Soja
	(0,5%prot.)	(0,75%prot.)	(1,0%prot.)	(1,5%prot.)
Paleta bovina	33,29	32,69	32,14	30,82
Carne mec. separada frango	36,99	36,32	35,71	34,25
Toucinho	16,03	15,74	15,48	14,84
Água	7,64	8,72	9,64	12,10
Fécula	1,97	2,06	2,02	2,05
Sal	1,85	1,82	1,78	1,83
Sal de cura	0,24	0,24	0,24	0,23
Antioxidante	0,24	0,24	0,24	0,23
Tripolifosfato	0,24	0,24	0,24	0,23
Condimentos	0,49	0,48	0,48	0,46
Fumaça líquida	0,05	0,05	0,05	0,05
Extrato levedura	0,99	1,45	2,02	-
Proteína texturizada soja	-	-	-	2,97

5.2.2. Processamento das salsichas

Foram processados 8kg de cada formulação. Para a moagem das carnes e toucinho utilizou-se moedor marca Hermann com disco de 15mm; a cominuição foi realizada em *cutter* Kramer Grebe de Karl Ernst Zippel; o embutimento em tripa celulósica de 22mm usando a

embutideira Karl Ernst Zippel e o tratamento térmico em estufa Becker com as seguintes etapas: secagem a 50°C /15min; avermelhamento a 60°C/15min; cozimento com elevação de 5°C/5min até temperatura interna de 72°C. Após o cozimento, as salsichas foram resfriadas em chuveiro com água fria por 15 minutos e mantidas a 10°C durante 60 minutos. As salsichas foram, então, repesadas para determinar a perda de peso. Amostras da emulsão de cada tratamento foram coletadas da embutideira e analisadas para determinar a estabilidade da emulsão.

O processamento das salsichas foi realizado segundo o fluxograma geral da Figura 5.1 com ilustrações de etapas nas Figuras 5.2 e 5.3.

5.2.3. Avaliação química e física das salsichas

Composição centesimal. Proteína total, umidade e cinzas foram determinadas de acordo com os procedimentos da AOAC (2000). Lipídios totais foram extraídos pelo procedimento de BLIGH & DYER (1959) e determinado gravimetricamente.

Perda de peso no cozimento. A perda de peso da salsicha foi determinada pesando-se o produto antes do tratamento térmico e após tratamento térmico e resfriamento em câmara fria.

Estabilidade da emulsão. Foi determinada segundo o método de PARKS & CARPENTER (1987).

Suco exsudado na embalagem. As salsichas foram embaladas a vácuo em filme Perflex 11 da Viskase. O suco exsudado foi pesado após 30 dias de estocagem a 2°C - 5°C.

Capacidade de retenção de água (CRA). A capacidade de retenção de água foi determinada no produto final pelo método de GRAU & HAMM, modificado por HOFFMANN et al. (1982). Amostras de $0,500 \pm 0,005$ g foram colocadas entre 2 papéis de filtro (Whatman nº 1) e prensadas em placas de *plexiglass* a uma pressão de 500 lb/pol² durante 2 minutos. Após prensagem, mediu-se a área da amostra (A), bem como a área total umedecida (T) com auxílio de um planímetro. A relação $G=A/T$ é proporcional à capacidade da amostra de reter água.

Força de cisalhamento. A força de cisalhamento foi determinada em um aparelho Instron acoplado com acessório Warner Bratzler para o primeiro ensaio. Para o segundo e terceiro ensaios foi determinada em texturômetro TAX-T2 marca SMS , operando com o *software Texture Expert*, com modo de operação de força/compressão, opção *return to start*, velocidade de pré-teste 2,0mm/s, velocidade de teste de pós-teste 10,0mm/s. Utilizou-se a célula Warner-Bratzler, para o corte transversal em toda amostra. A análise foi realizada à temperatura de 10° C.

Avaliação da cor. Para a determinação objetiva da cor foi utilizado o espectrofotômetro portátil Minolta CM 508d (Osaka, Japan), no qual as leituras de luminosidade (L*), do vermelho/verde (a*) e do amarelo/azul (b*) foram feitas no sistema CIE, utilizando iluminante D65, padrão de observação a 2° e abertura de 8mm de diâmetro, especular incluída. A cor externa da salsicha foi determinada em cinco salsichas com um total de quinze leituras e a cor interna foi determinada na salsicha cortada ao meio longitudinalmente, também em cinco salsichas e total de quinze leituras.

pH. Utilizou-se pHmetro marca Digimed modelo DM2 com eletrodo combinado, para a medição com penetração DME-CF1.

5.2.4. Avaliação sensorial das salsichas

Com o objetivo de avaliar o efeito dos tratamentos sobre a aceitação das salsichas, uma análise sensorial com consumidores foi conduzida utilizando-se teste em laboratório, com 25, 55 e 49 consumidores, respectivamente para o primeiro, segundo e terceiro ensaios, conforme especificado por MEILGAARD et al., (1991) e STONE & SIDEL (1985). Foram recrutados funcionários e estagiários do ITAL – Campinas, SP, que foram selecionados por apreciarem salsicha e disponibilidade para a participação nos testes.

O teste foi realizado em laboratório com cabines individuais computadorizadas providas de caneta ótica, onde a resposta era marcada na tela do monitor. O *software* utilizado para o preparo, preenchimento e avaliação do questionário foi o CSA, versão 4.2, da COMPUSENSE INC.- Canadá (Programa de Análise Sensorial Computadorizado).

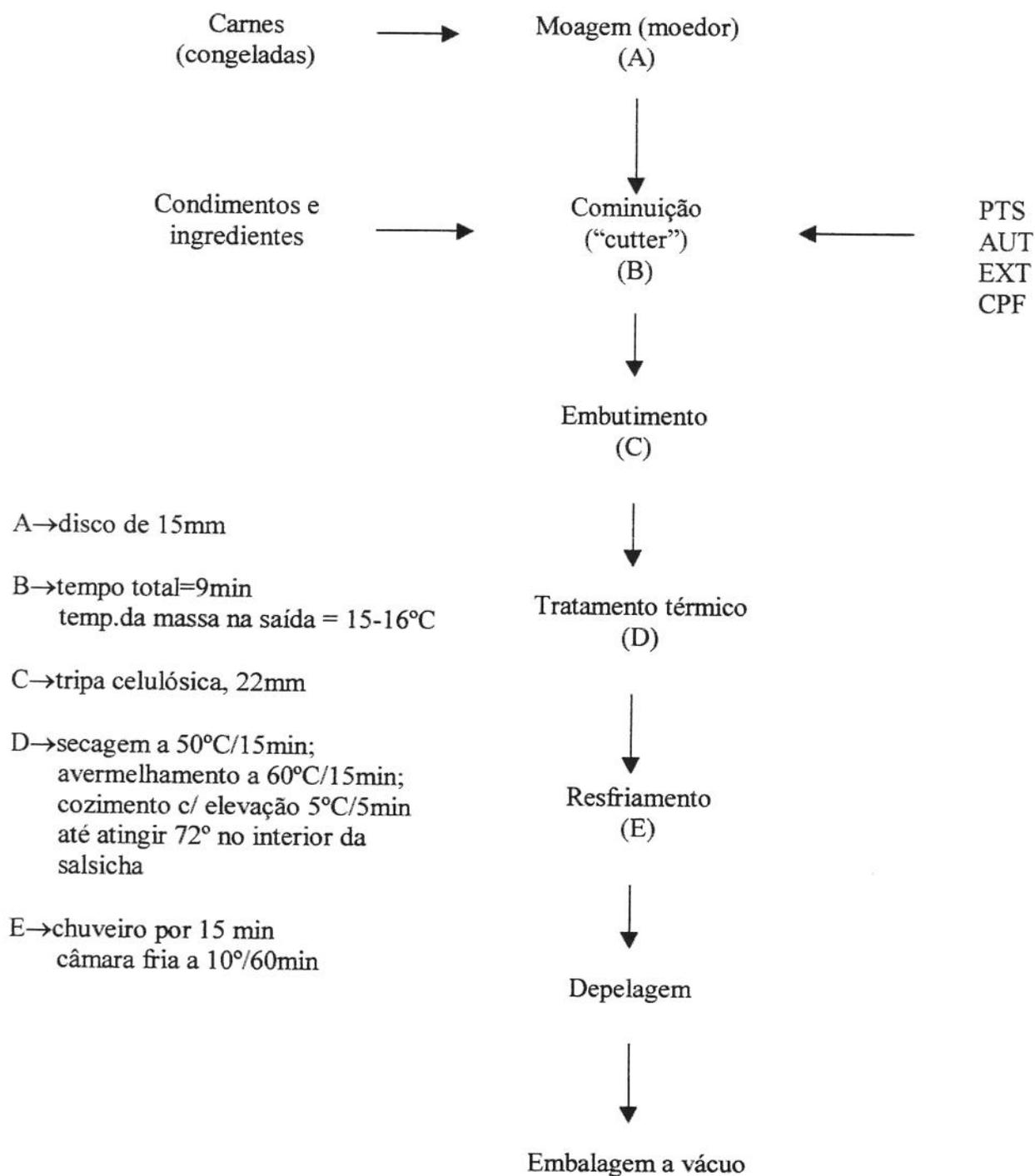
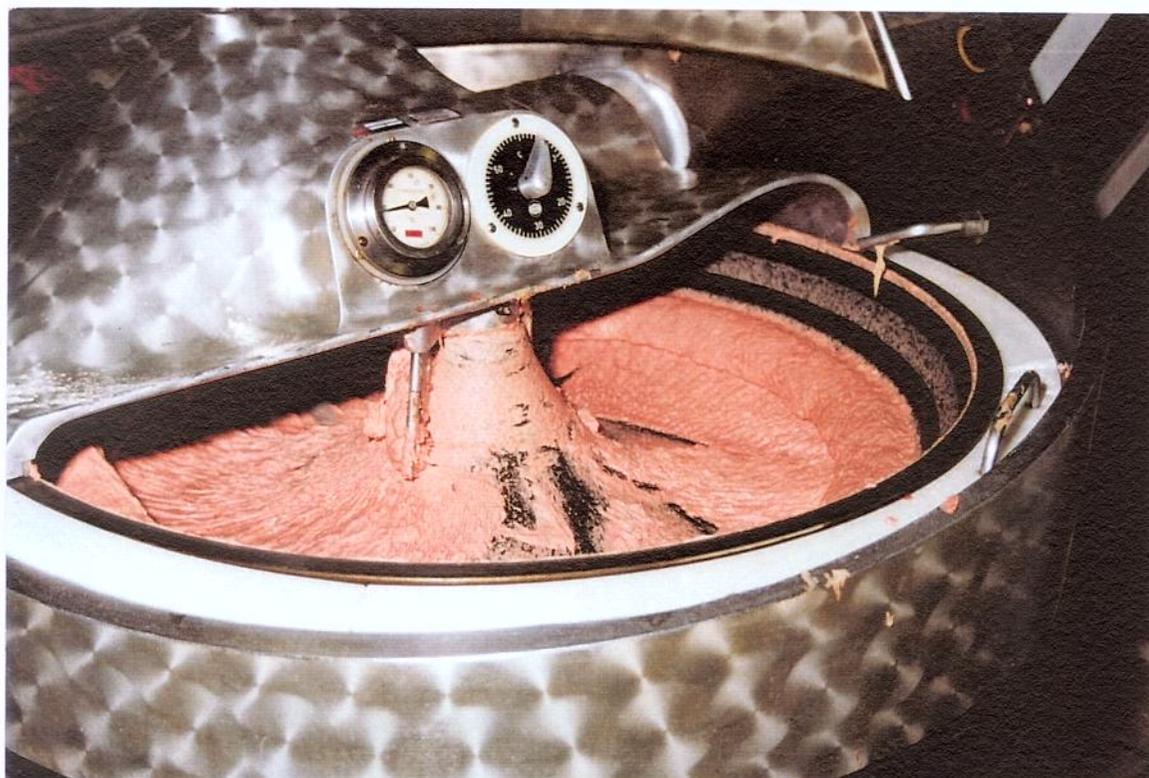


Figura 5.1. Fluxograma geral de processamento da salsicha

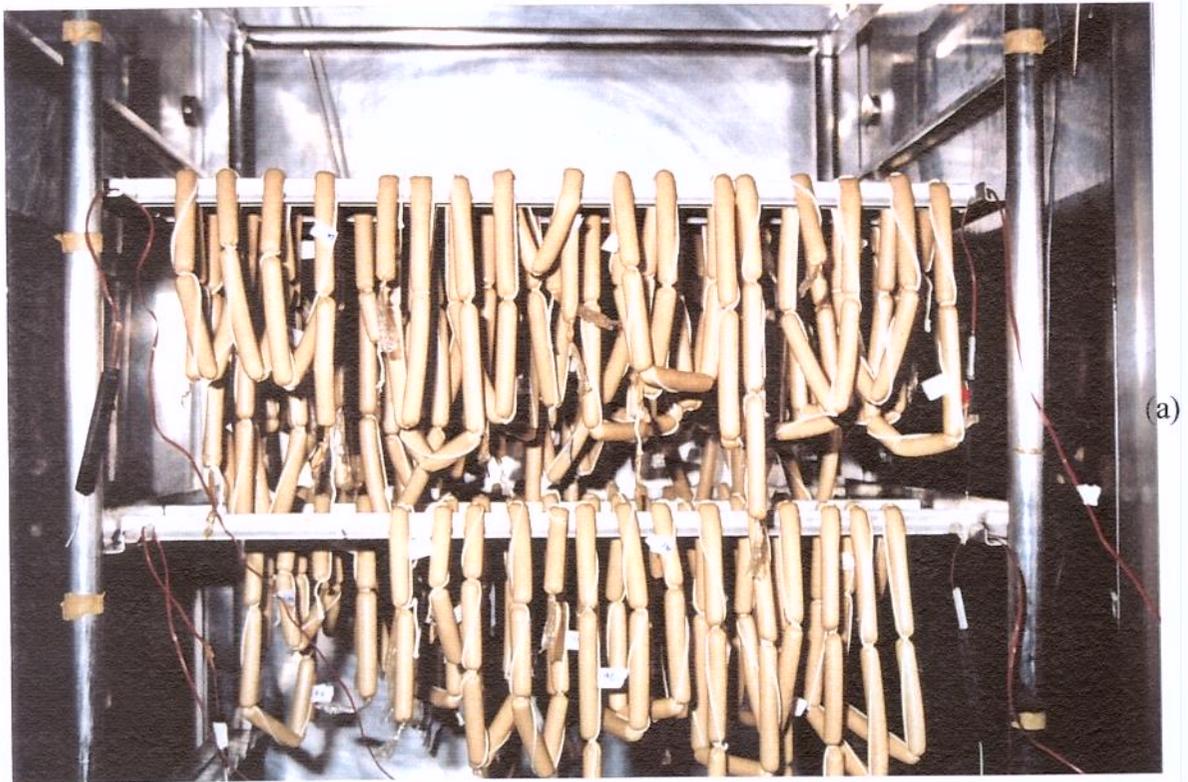


(a)

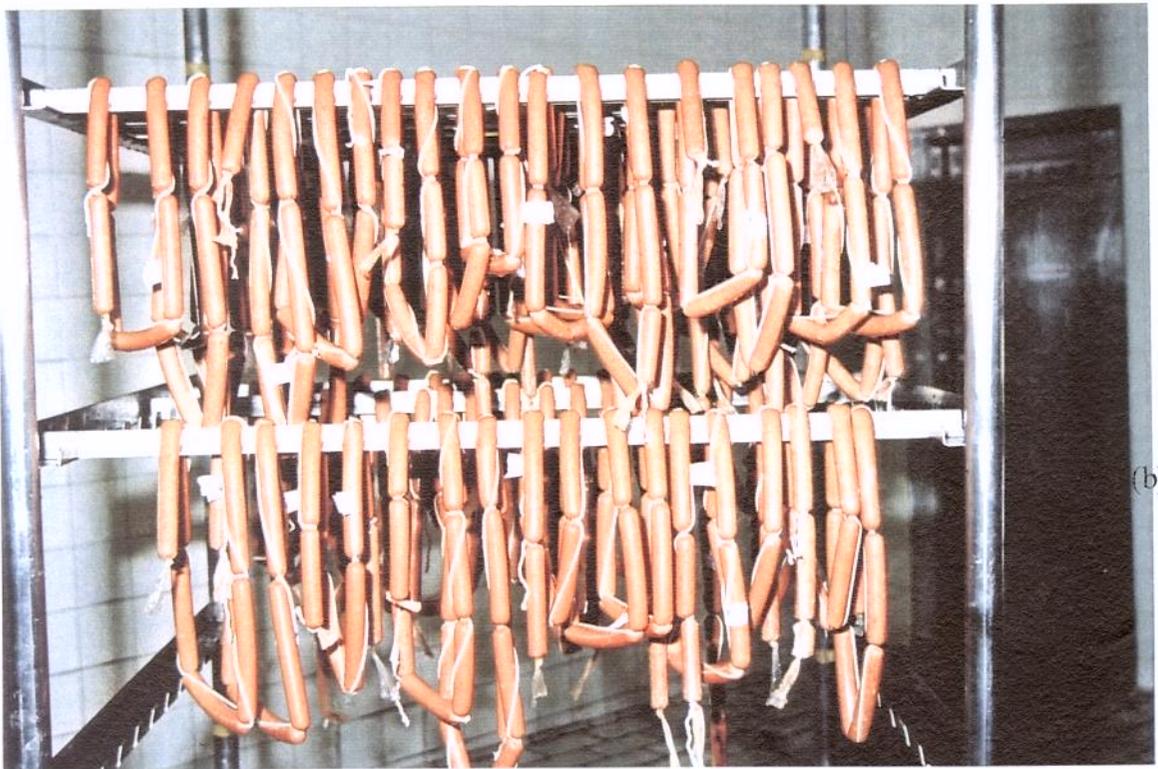


(b)

Figura 5.2. Ilustração da etapa de cominuição (*cutter*) (a) e etapa de embutimento (b) de salsicha



(a)



(b)

Figura 5.3. Ilustração da salsicha antes (a) e após cozimento (b)

Teste de aceitação. As salsichas foram cozidas por 5 minutos em água fervente. As amostras foram mantidas aquecidas (cortadas em cilindros de 2cm) a aproximadamente 40°C e servidas em copos descartáveis brancos, de café, com palitos de dente de madeira ao invés de garfos, acompanhadas de meia fatia de pão de fôrma e água, em apresentação monádica, de forma aleatorizada e numeradas com 3 dígitos de forma casualizada. Utilizou-se escala verbal hedônica de 7 pontos, sendo 1 a pontuação para desgostei muito, 2 a pontuação para desgostei moderadamente, 3 para desgostei ligeiramente, 4 para indiferente, 5 para gostei ligeiramente, 6 para gostei moderadamente e 7 para gostei muito. O delineamento estatístico utilizado foi o de blocos completos casualizados. Os resultados para aceitação foram analisados pelo teste de Tukey para detectar diferenças entre os tratamentos a 5% de significância.

Teste de ordenação – preferência global. Utilizou-se ficha com campos para ordenação das amostras em ordem decrescente quanto à preferência, em que a salsicha mais preferida foi pontuada com 1 e a menos preferida, com 4. O delineamento experimental usado foi o de blocos completos casualizados. Os resultados foram analisados pela diferença crítica entre os totais de ordenação a 5% de significância extraído da tabela de NEWELL & Mc FARLANE (1987).

Teste de ordenação – preferência de cor interna. As salsichas foram apresentadas aos julgadores cortadas ao meio longitudinalmente. Utilizou-se ficha com campos para ordenação das amostras em ordem decrescente quanto à preferência da coloração interna das salsichas, em que a cor mais preferida foi pontuada com 1 e a menos preferida, com 4. Os tratamentos foram julgados em cabine de cor modelo Spectralight marca Macbeth com lâmpada fluorescente tipo luz do dia D65. O delineamento experimental usado foi o de blocos completos casualizados. Os resultados foram analisados pela diferença crítica entre os totais de ordenação a 5% de significância extraído da tabela de NEWELL & Mc FARLANE (1987).

Teste de atitude – intenção de compra. Numa apreciação rápida das salsichas quanto à atitude do consumidor, utilizou-se escala verbal bipolar de cinco pontos, formulada com o texto: Se esta salsicha estivesse à venda você:

- () certamente compraria;
- () provavelmente compraria;
- () talvez comprasse/talvez não comprasse;
- () provavelmente não compraria;
- () certamente não compraria.

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1. Ensaio A -Substituição de carne por proteína texturizada de soja, autolisado e extrato de levedura

5.3.1.1.Avaliação química e física

A Tabela 5.4 apresenta a composição de salsichas preparadas com adição de proteína texturizada de soja (4%), de autolisado de levedura (4%) e de extrato de levedura (4 e 8%).

Tabela 5.4. Composição centesimal de salsichas preparadas com proteína texturizada de soja e derivados de levedura (Ensaio A).

Determinação (%)	PTS (4%)	AUT (4%)	EXT	
			(4%)	(8%)
Umidade	55,91±0,04 ^a	55,57±1,89 ^a	55,51±0,11 ^a	52,32±0,23 ^b
Lípidios totais	24,35±0,11 ^a	25,00±0,31 ^a	24,87±0,53 ^a	23,81±0,76 ^a
Proteína (Nx6,25)	12,19±0,06 ^a	11,77±0,10 ^a	11,48±0,09 ^a	13,92±0,10 ^a
Cinza	3,38±0,01 ^a	3,26±0,02 ^a	3,39±0,05 ^a	3,46±0,79 ^a
Carboidratos	4,1	4,4	4,8	6,1

Média ±desvio-padrão

* Com 8% de extrato, observou-se quebra da emulsão cárnea e conseqüentemente apresentou teor de umidade diferente das demais.

A Tabela 5.5 mostra os resultados da avaliação de algumas propriedades físico-mecânicas para as salsichas

Tabela 5.5. Avaliação das propriedades físico-mecânicas em salsichas preparadas com proteína texturizada de soja ou derivados de levedura.

Parâmetros medidos	PTS	AUT	EXT	
	(4%)	(4%)	(4%)	(8%)
Perda de peso no cozimento (%)	7,1 ^a	6,6 ^a	6,5 ^a	11,4 ^b
Estabilidade emulsão (% suco liberado)	0,7 ^d	6,3 ^c	15,0 ^b	35,8 ^a
Capacidade de retenção de água (G)	0,7 ^a	0,6 ^a	0,6 ^b	0,5 ^c
Força máx. cisalhamento (kgf)	1,2 ^a	1,3 ^a	0,9 ^b	0,2 ^c
Luminosidade (L* -interna)	64,8 ^a	63,7 ^a	60,0 ^b	57,8 ^c
Vermelho (a* -interna)	12,3 ^c	11,0 ^d	13,9 ^b	14,9 ^a
Amarelo (b* -interna)	11,6 ^a	12,5 ^a	12,3 ^a	12,2 ^a
pH	6,0 ^a	5,8 ^b	5,6 ^c	5,5 ^d

Valores com letras sobrescritas iguais numa mesma linha não diferem significativamente ($p > 0,05$)

Os dados da Tabela 5.5 mostram que: a) não houve diferença significativa ($p > 0,05$) quanto à perda de peso no cozimento para salsichas com 4% de proteína texturizada de soja, de autolisado e de extrato de levedura; adição de 8% de extrato ocasionou uma perda de peso cerca de 2 vezes a dos outros tratamentos; b) a estabilidade da emulsão apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, tendo sido superior para as salsichas com proteína texturizada de soja, seguida pelo autolisado de levedura; c) a adição do extrato de levedura a 4% e principalmente a 8% prejudicou muito a estabilidade da emulsão cárnea; d) não houve diferença significativa da capacidade de retenção de água das emulsões cárneas com a proteína texturizada de soja e o autolisado de levedura, mas diferiram do extrato a 4% e 8%; e) não houve diferença significativa na força máxima de cisalhamento (mede a firmeza da salsicha) entre a proteína texturizada de soja e o autolisado de levedura, porém diferiram dos tratamentos com o extrato a 4% e a 8% de adição; f) a luminosidade não diferiu significativamente entre a proteína texturizada de soja e o autolisado de levedura, porém foi menor para a salsicha com o extrato a 4% e ainda inferior a 8%; g) houve diferença significativa na cor vermelha entre todos os tratamentos, foi superior para o extrato a 8% seguido do extrato a 4%, da proteína texturizada de soja a 4% e por último do autolisado a 4%; h) a cor amarela não apresentou diferença significativa entre os tratamentos.

5.3.1.2. Avaliação sensorial das salsichas

Teste de aceitação pelo consumidor. Os atributos avaliados na análise sensorial foram: aparência, aroma, sabor e textura das salsichas. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 5.6.

Os resultados para as salsichas adicionadas de 4% (p/p) de PTS ou AUT se aproximam na escala de gostei ligeiramente e os atributos não diferiram estatisticamente para esses dois tratamentos, exceto para a aparência que se apresentou superior para o produto contendo a PTS. Para a salsicha contendo EXT, a aparência foi semelhante à salsicha com AUT, porém inferior à de soja. Para aroma, não houve diferença estatística entre os três tratamentos. Sabor e textura da salsicha com EXT se assemelharam à do AUT, porém se mostraram inferiores à salsicha contendo PTS.

Tabela 5.6. Resultados do teste de aceitação pelo consumidor de salsichas produzidas com proteína texturizada de soja, autolisado ou extrato de levedura.

Atributo	PTS (4%)	AUT (4%)	EXT (4%)
Aparência	5,7 ^a	4,7 ^b	4,4 ^b
Aroma	4,8 ^a	4,5 ^a	4,2 ^a
Sabor	4,9 ^a	4,8 ^{a,b}	3,9 ^b
Textura	5,4 ^a	4,8 ^{a,b}	4,2 ^b

Resultados com letras sobrescritas diferentes em uma mesma linha indica valores significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Escala: 1=desgostei muito; 2= desgostei moderadamente; 3= desgostei ligeiramente; 4=indiferente; 5= gostei ligeiramente; 6= gostei moderadamente; 7= gostei muito.

Teste de atitude - intenção de compra. Os resultados do teste de atitude – intenção de compra para salsichas produzidas com proteína texturizada de soja, autolisado ou extrato de levedura - são apresentados na Figura 5.4.

Observa-se que o maior número de respostas concentrou-se entre provavelmente compraria e talvez comprasse, talvez não comprasse, para as salsichas com PTS e AUT. Nota-se que a maior porcentagem de respostas que provavelmente compraria foi para a salsicha com 4% de AUT. Por outro lado, a maior porcentagem das respostas que certamente não

comprariam foi para a salsicha com adição de 4% de EXT. Isto sugere que o AUT poderá substituir a soja (no todo ou em parte) como aditivo funcional em emulsões cárneas tipo salsicha. Já o EXT, na concentração de 4%, deprecia o produto e não poderá ser usado em salsichas, nessa concentração.

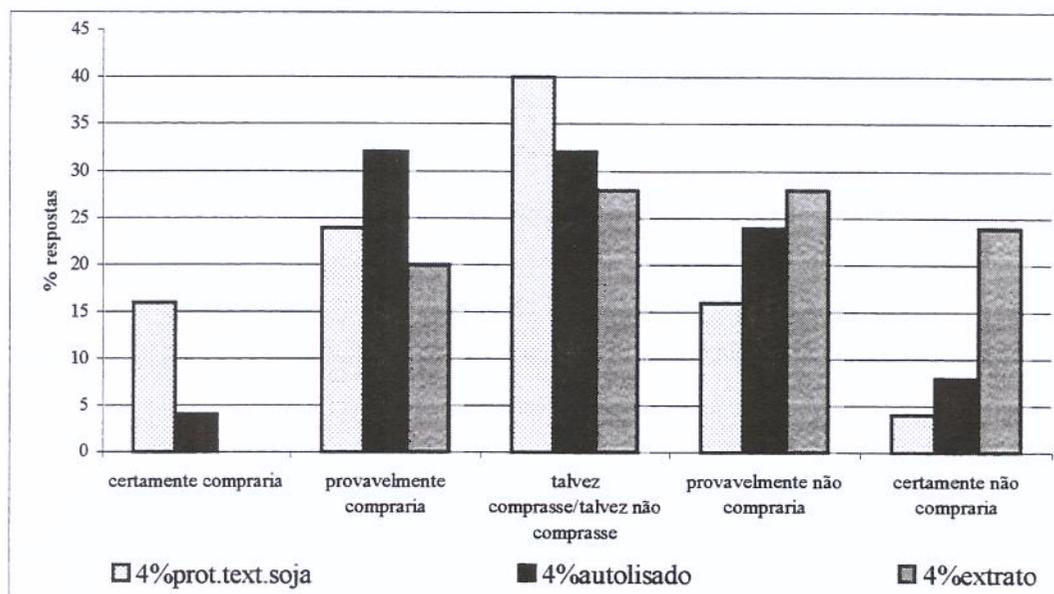


Figura 5.4. Representação gráfica da freqüência da intenção de compra de salsichas formuladas com proteína texturizada de soja ou derivado de levedura

5.3.2. Ensaio B - Substituição de 1,5% de proteína de carne por proteína texturizada de soja, de autolisado, de extrato ou de concentrado protéico fosforilado de levedura

5.3.2.1. Avaliação química e física

A composição das salsichas produzidas com 1,5% de substituição da proteína de carne por PTS ou de proteína dos derivados de levedura é apresentada na Tabela 5.7.

Tabela 5.7. Composição química das salsichas com extrato, autolisado, concentrado protéico fosforilado de levedura e proteína texturizada de soja*, em substituição a 1,5% de proteína da carne.

Determinação (%)	EXT	AUT	CPF	PTS
Umidade	55,46±1,04 ^a	54,24±0,62 ^a	55,41±0,88 ^a	54,85±0,54 ^a
Lipídios totais	24,75±1,00 ^a	24,28±0,44 ^a	24,41±0,82 ^a	24,03±0,57 ^a
Proteína	12,37±0,08 ^a	12,89±0,45 ^a	13,24±0,31 ^a	13,13±0,38 ^a
Cinzas	2,98±0,07 ^a	2,93±0,09 ^a	2,94±0,10 ^a	2,93±0,08 ^a
Carboidratos	4,4	5,7	4,0	5,1

* média ± desvio-padrão de determinação de 3 processamentos de salsicha, letras sobrescritas iguais (linha) não diferem significativamente ($p > 0,05$)

Os resultados das avaliações físico-mecânicas estão apresentados na Tabela 5.8. Não houve diferença significativa nos valores de suco exsudado entre os tratamentos, no entanto,

apresenta-se uma tendência de menores porcentagens de suco exsudado para as salsichas com proteína de soja, seguida pela de concentrado protéico, autolisado e extrato de levedura, esta última com a maior porcentagem.

As salsichas com PTS e CPF apresentaram maior estabilidade de emulsão, seguida pelo produto com autolisado e a menor estabilidade foi para a salsicha com extrato. A presença do material da parede celular no autolisado conferiu maior estabilidade de emulsão quando comparado com os valores do extrato que não contém esse material.

Para os níveis de derivados de levedura adicionados, o autolisado e o extrato conferiram à salsicha sabor e aroma que não diferiram estatisticamente.

PARKS & CARPENTER (1987) comparando a adição de seis proteínas não-cárneas em emulsões cárneas, quanto à estabilização de emulsão, encontraram que a proteína isolada de soja e leite desnatado desidratado foram mais efetivos, enquanto a farinha de soja e o autolisado de levedura foram menos efetivos na estabilização da emulsão.

Tabela 5.8. Avaliação das propriedades físico-mecânicas em salsichas contendo extrato, autolisado, concentrado protéico fosforilado de levedura e proteína texturizada de soja**, em substituição a 1,5% de proteína da carne.

Parâmetros medidos	EXT	AUT	CPF	PTS
Perda peso no cozimento (%)	5,0±0,7 ^a	5,1±0,3 ^a	5,4±0,4 ^a	5,3±1,1 ^a
Estabilidade da emulsão (%sucos liberado)	6,7±0,4 ^a	3,6±0,36 ^b	3,2±0,2 ^{bc}	2,3±0,4 ^c
Suco exsudado na embalagem (%)	0,6±0,5 ^a	0,4±0,3 ^a	0,2±0,2 ^a	0,1±0,1 ^a
Capacidade de retenção de água (G)	0,4±0,1 ^a	0,5±0,0 ^a	0,4±0,1 ^a	0,5±0,1 ^a
Força de corte (kgf)	1,7±0,2 ^a	1,7±0,1 ^a	2,0±0,2 ^a	2,0±0,2 ^a
Luminosidade (L* -externa)	55,4±0,2 ^a	54,4±0,8 ^a	53,9±1,1 ^a	55,5±0,7 ^a
Vermelho (a* - externa)	14,9±1,9 ^a	13,6±1,4 ^a	12,6±2,0 ^a	13,8±1,8 ^a
Amarelo (b* -externa)	14,5±0,8 ^a	14,8±0,6 ^a	14,6±0,9 ^a	14,0±0,6 ^a
Luminosidade (L* -interna)	60,1±2,0 ^a	61,3±1,1 ^a	60,9±0,7 ^a	62,2±0,4 ^a
Vermelho (a* -interna)	12,4±0,6 ^a	10,9±0,4 ^{ab}	10,7±0,7 ^{bc}	12,3±0,7 ^{ab}
Amarela (b* -interna)	12,1±1,1 ^a	12,2±0,1 ^a	11,4±0,2 ^a	11,2±0,1 ^a
pH	5,5±0,1 ^c	5,6±0,0 ^{bc}	5,9±0,1 ^a	5,8±0,2 ^{ab}

*Valores numa mesma linha com letras sobrescritas iguais não diferem significativamente (p≥0,05)

**Média de determinação de 3 processamentos de salsicha ± desvio-padrão

Não houve diferença significativa na força de corte entre os tratamentos quando a média dos três processamentos foram comparadas, mas quando analisadas individualmente

apresentaram uma tendência em que as maiores forças de corte encontradas foram para as salsichas adicionadas de concentrado protéico e proteína de soja, seguidas pela de autolisado e extrato de levedura.

GRUJIC et al. (1990) citado por FSTA (1990) estudaram a cor de embutidos semi-secos maturados tipo sérvio adicionados de 2% de proteína texturizada de soja ou levedura de cervejaria ou ainda misturas compostas de 10:80; 50:50 ou 80:20 desses ingredientes. Todos os tratamentos apresentaram coloração mais clara que o controle, sendo a mais clara delas para o embutido adicionado da mistura 20:80 (soja/levedura).

5.3.2.2. Avaliação sensorial

Para os testes de aceitação, ordenação quanto à preferência global e atitude – intenção de compra, recrutou-se equipe de consumidores de salsicha (55), com as características apresentadas na Figura 5.5

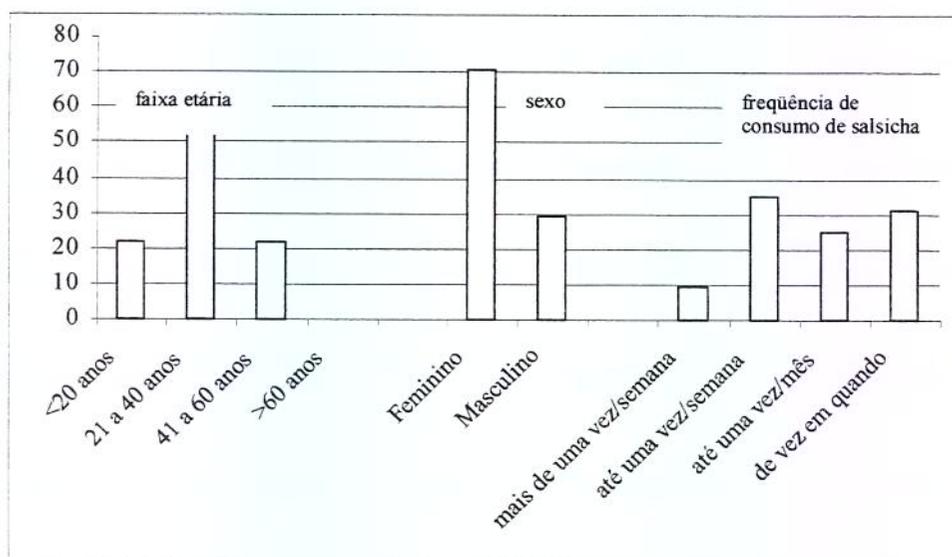


Figura 5.5. Características da equipe de consumidores do ensaio de substituição de 1,5% de proteína de carne da salsicha por PTS, AUT, EXT e CPF

Na avaliação sensorial, para cada tratamento, foi feita uma mistura composta por salsichas de três processamentos utilizados como replicações.

Teste de aceitação – Os resultados do teste de aceitação das salsichas são apresentados na Tabela 5.9.

Tabela 5.9. Resultados do teste de aceitação das salsichas adicionadas de extrato, autolisado, concentrado de levedura e proteína texturizada de soja, em substituição a 1,5% de proteína da carne.

Atributo	EXT	AUT	CPF	PTS
Aroma	4,5±1,5 ^a	4,4±1,3 ^a	4,8±1,2 ^a	4,9±1,1 ^a
Sabor	4,2±1,6 ^b	4,7±1,6 ^{ab}	4,9±1,6 ^a	4,9±1,3 ^a
Textura	5,1±1,2 ^a	5,2±1,4 ^a	4,9±1,5 ^a	5,1±1,3 ^a

*Média±desvio-padrão numa mesma linha com letras sobrescritas iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$)

** (1=desgostei muito; 2=desgostei moderadamente; 3=desgostei ligeiramente; 4=indiferente; 5=gostei ligeiramente; 6=gostei moderadamente e 7=gostei muito)

Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre as médias de aceitação das salsichas com proteína texturizada de soja, extrato, autolisado e concentrado protéico de levedura quanto ao aroma e à textura.

Para o atributo sabor, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as médias de aceitação das salsichas com autolisado, concentrado protéico e proteína de soja. Também não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre a média da aceitação da salsicha adicionada de autolisado e da adicionada de extrato, sendo que a adicionada de extrato de levedura mostrou-se inferior às adicionadas de PTS e proteína fosforilada de levedura.

As médias de aceitação para aroma e sabor para todos os tratamentos variaram de indiferente a gostei ligeiramente e para textura ficou em torno de gostei ligeiramente.

Os principais comentários quanto ao sabor foram: **a) AUT:** gosto estranho artificial, forte e amargo, diferente de salsicha e defumado; **b) EXT:** tempero muito forte, gosto residual, sabor estranho, salgado, sabor amargo que persiste, tempero forte e salgado; **c) CPF:** salsicha muito insossa, um pouco amarga, tempero suave, sabor agradável, equilíbrio dos condimentos; **d) PTS:** sabor residual diferente de carne, sabor fiel e suave para salsicha, sabor equilibrado do condimento, sabor suave, boa quantidade de sal.

A principal consideração no uso de extrato de levedura como agente saborizante é o seu custo comparado com outros agentes saborizantes numa intensidade de sabor equivalente (NAGODAWITHANA, 1992). Pelos comentários feitos na avaliação sensorial, o sabor conferido tanto pelo extrato como pelo autolisado às salsichas foi muito forte. Uma vez que este trabalho visava estudar o efeito da adição sobre o sabor da salsicha, assim como sobre outros parâmetros, adicionou-se 1,5% de proteína na forma de derivados de levedura, bem acima dos níveis usuais (0,1 a 0,5% p/p) para conferir sabor (NAGODAWITHANA, 1992).

Os resultados obtidos na ordenação – preferência global e preferência quanto à cor interna de salsichas com 1,5% da proteína da carne substituída pela dos derivados de levedura - são apresentados na Tabela 5.10.

Tabela 5.10. Resultado da ordenação – preferência global e preferência da cor interna de salsicha em que 1,5% da proteína da carne foi substituída pela dos derivados de levedura e de soja

Salsicha	Preferência global	Pref. cor interna
EXT	156 ^a	68 ^b
AUT	132 ^a	135 ^a
CPF	138 ^a	129 ^a
PTS	124 ^a	68 ^b

* Resultado expresso como a soma total da pontuação dada pelos provadores, segundo a ordem de preferência (1 para a mais preferida até 4 para a menos preferida) (menor valor é mais preferida)

Para preferência global, não houve diferença estatística entre os tratamentos, o que sugere a possível substituição da carne por qualquer dos ingredientes avaliados nas condições deste teste. Porém, os resultados mostram uma tendência de preferência para a salsicha com proteína de soja e de menor preferência para a salsicha com extrato de levedura.

A cor interna das salsichas avaliadas, adicionadas de extrato de levedura e proteína texturizada de soja foram mais preferidas quando comparadas àquelas adicionadas de autolisado ou concentrado protéico fosforilado.

Teste de atitude - intenção de compra. Os resultados dos testes de atitude – intenção de compra para salsichas em que 1,5% de proteína cárnica foi substituída por proteína de levedura ou de soja - são apresentados na Figura 5.6.

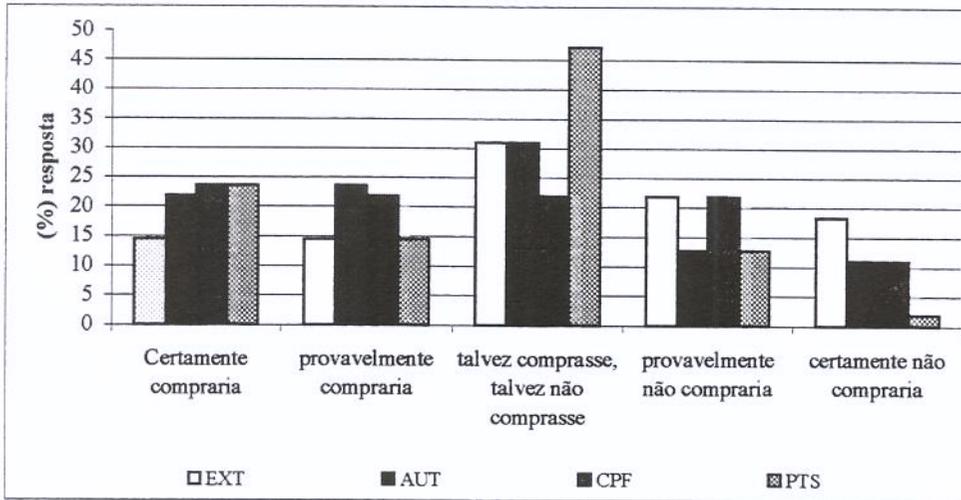


Figura 5.6. Representação gráfica da freqüência da intenção de compra de salsicha formulada com proteína texturizada de soja ou derivado de levedura

Observa-se que o maior número de respostas concentrou-se entre certamente compraria e talvez comprasse, talvez não comprasse, para todas as salsichas testadas, sugerindo uma boa intenção de compra. Neste grupo de respostas, observou-se maior porcentagem de intenção de compra para a salsicha com PTS, seguida daquela com o AUT. Por outro lado, a maior porcentagem dos que certamente ou provavelmente não comprariam foi para a salsicha adicionada de EXT. Isto sugere que o AUT poderá substituir a soja (no todo ou em parte) como aditivo funcional em emulsões cárneas tipo salsicha. Já o EXT, na concentração utilizada (3,2% EXT ou 1,5% da proteína), deprecia o produto. Em virtude de seu sabor acentuado, percebido pelos consumidores conforme Tabela 5.9, a concentração de proteína do extrato deverá ser diminuída para que este possa ser utilizado satisfatoriamente.

5.3.3. Ensaio C - Substituição de proteína cárnica pelas proteínas de extrato de levedura (EXT) e de proteína texturizada de soja (PTS) em salsicha

5.3.3.1. Avaliação química e física

Composição química. Na Tabela 5.11 são apresentados os dados de composição para a salsicha com diferentes níveis de substituição da proteína cárnea por proteína de extrato de levedura (0,5 , 0,75 e 1,0% correspondentes a 0,99, 1,45 e 2,02% de EXT) e 1,5% de proteína de PTS (=2,97% de PTS).

Os teores de lipídios resultaram em valores ligeiramente diferentes entre os tratamentos, uma vez que para a substituição da proteína da carne pela proteína dos derivados utilizou-se uma planilha que estabelecia a relação umidade/proteína, sem fixar o teor de lipídios.

Tabela 5.11. Composição química das salsichas com extrato de levedura e proteína texturizada de soja*

Componente (%)	Extrato de levedura			PTS
	0,5%prot.	0,75%prot.	1,0%prot.	1,5%prot.
Umidade	55,39±0,23 ^b	56,33±0,24 ^a	56,59±0,38 ^a	56,65±0,58 ^a
Lipídios totais	25,55±0,32 ^a	24,87±0,59 ^{ac}	24,27±0,32 ^{bc}	23,41±0,59 ^b
Proteína	13,33±0,26 ^a	13,27±0,36 ^a	13,27±0,59 ^a	13,56±0,44 ^a
Cinzas	3,02±0,02 ^a	3,04±0,13 ^a	2,98±0,04 ^a	2,96±0,14 ^a
Carboidratos	2,7	2,5	2,9	3,4

*média ± desvio-padrão de determinação de processamento em triplicata. Médias com letras sobrescritas iguais numa mesma linha não diferem significativamente (p>0,05)

Os resultados das avaliações físicas estão apresentados na Tabela 5.12. A salsicha com proteína texturizada de soja apresentou maior estabilidade de emulsão que as salsichas contendo extrato de levedura. A porcentagem de suco exsudado na embalagem foi menor para a salsicha contendo proteína texturizada de soja. Quanto à cor, o extrato de levedura em geral conferiu maiores valores de vermelho que a proteína texturizada de soja nas porcentagens estudadas.

Tabela 5.12. Avaliação das propriedades físico-mecânicas das salsichas com extrato de levedura e proteína texturizada de soja**

Parâmetros medidos	Extrato de levedura			PTS
	0,5%prot.	0,75%prot.	1,0%prot.	1,5%prot.
Perda peso no cozimento (%)	4,2±0,7 ^a	3,8±0,6 ^a	3,8±0,5 ^a	3,8±0,1 ^a
Estabilidade da emulsão (%suco liberado)	2,5±0,3 ^b	3,3±0,6 ^b	4,9±0,2 ^a	1,4±0,2 ^c
Suco exsudado na embalagem (%)	0,8±0,2 ^a	0,7±0,2 ^{a,b}	1,0±0,2 ^a	0,4±0,1 ^b
Capacidade de retenção de água (G)	0,6±0,0 ^a	0,5±0,0 ^a	0,5±0,0 ^a	0,6±0,0 ^a
Força de corte (kgf)	1,8±0,3 ^a	1,8±0,3 ^a	1,8±0,3 ^a	1,8±0,2 ^a
Luminosidade (L*-externa)	56,8±1,8 ^a	56,0±1,0 ^a	56,0±1,2 ^a	55,9±1,1 ^a
Vermelho (a* - externa)	14,2±0,9 ^a	14,7±0,3 ^a	15,2±0,2 ^a	13,9±0,3 ^a
Amarelo (b* -externa)	14,4±0,0 ^a	14,6±0,4 ^a	15,0±0,8 ^a	14,4±0,6 ^a
Luminosidade (L*-interna)	61,6±1,5 ^a	61,0±1,3 ^a	61,1±2,0 ^a	61,8±1,7 ^a
Vermelho (a* -interna)	12,7±0,4 ^{ab}	13,0±0,3 ^{ab}	13,1±0,3 ^a	11,8±0,6 ^b
Amarela (b* -interna)	11,0±0,3 ^a	11,2±0,4 ^a	11,6±0,4 ^a	10,7±0,3 ^a

*Valores numa mesma linha com letras sobrescritas iguais não diferem significativamente (p≥0,05)

**Média ± desvio-padrão de três repetições dos tratamentos

5.3.3.2. Avaliação sensorial

Para os testes de aceitação, ordenação quanto à preferência global e atitude – intenção de compra, recrutou-se equipe de consumidores de salsicha (49), com as características apresentadas na Figura 5.7.

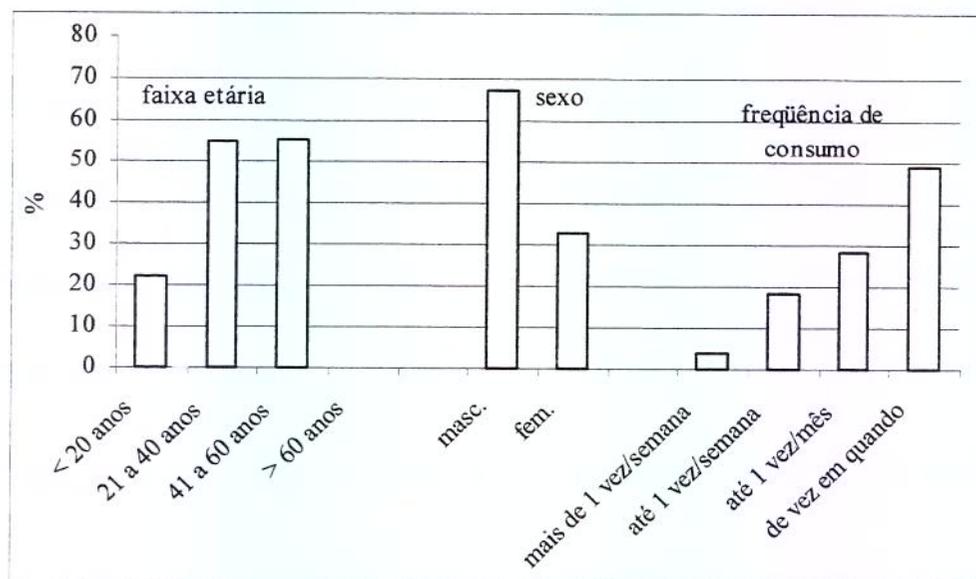


Figura 5.7: Características da equipe de consumidores do ensaio de substituição de proteína cárnea da salsicha por EXT e PTS

Na avaliação sensorial, para cada tratamento foi feita uma mistura composta por salsichas das três repetições de processamento. Os resultados obtidos no teste de aceitação são apresentados na Tabela 5.13.

Tabela 5.13. Resultados do teste de aceitação da salsicha com proteína texturizada de soja e extrato de levedura

Atributo	EXT			PTS
	0,5%prot.	0,75%prot.	1,0%prot.	1,5%prot.
Aroma	5,5 ^a	5,1 ^a	5,1 ^a	5,2 ^a
Sabor	5,3 ^a	5,1 ^a	5,4 ^a	5,2 ^a
Textura	5,4 ^a	5,1 ^a	5,4 ^a	5,2 ^a

Valores seguidos de letras sobrescritas iguais numa mesma linha não diferem significativamente ($p > 0,05$)

1= desgostei muito; 2= desgostei moderadamente; 3= desgostei ligeiramente; 4= indiferente; 5=gostei ligeiramente; 6=gostei moderadamente; 7=gostei muito

Observa-se, por meio dos dados da Tabela 5.13, que não houve diferença significativa ($p>0,05$) quanto ao aroma, sabor e textura das salsichas com proteína texturizada de soja ou 0,5%, 0,75% e 1,0% de proteína de extrato de levedura em substituição à proteína cárnica.

A distribuição percentual da intenção de compra é apresentada na Figura 5.8.

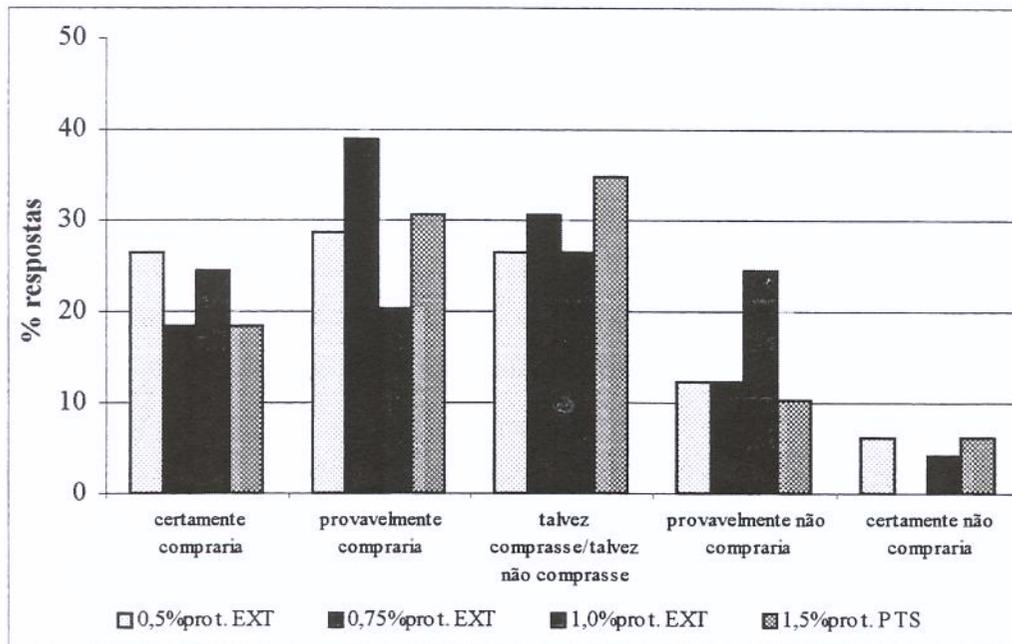


Figura 5.8. Representação gráfica da porcentagem de respostas à intenção de compra de salsicha formulada com proteína texturizada de soja e extrato de levedura em diferentes níveis de substituição de proteína da carne por proteína de EXT ou PTS

Observa-se que o maior número de respostas concentrou-se entre provavelmente compraria e talvez comprasse, talvez não comprasse, para as salsichas com 0,5% e 0,75% de proteína de extrato de levedura. Por outro lado, o maior número dos que certamente ou provavelmente não comprariam foi para a salsicha com 1,0% de proteína de extrato de levedura.

Na Tabela 5.14, são apresentados os resultados da ordenação – preferência global e preferência da cor interna de salsicha com extrato e proteína texturizada de soja. Apesar de não ter apresentado diferença significativa ($p>0,05$) na preferência entre as salsichas, aquelas adicionadas de extrato apresentaram valores de ordenação total ligeiramente superiores aos da salsicha adicionada de proteína texturizada de soja.

Tabela 5.14. Resultado da ordenação – preferência global e preferência da cor interna de salsicha com extrato e proteína texturizada de soja

	Ordenação total	Pref. cor interna
0,5% prot. EXT	118 ^a	106 ^b
0,75% prot. EXT	119 ^a	101 ^b
1,0% prot. EXT	125 ^a	119 ^{ab}
1,5% prot. PTS	128 ^a	144 ^a

* Resultado expresso como a soma total da pontuação dada pelos provadores, segundo a ordem de preferência (1 para a mais preferida até 4 para a menos preferida). Quanto menor o valor, mais preferida.

Valores com letras sobrescritas iguais não diferem significativamente ($p > 0,05$)

Não houve diferença na preferência quanto à cor interna da salsicha entre aquelas adicionadas de extrato. As salsichas adicionadas de proteína texturizada de soja e 1,0% de proteína de extrato de levedura foram as menos preferidas e diferiram estatisticamente quanto à cor interna das salsichas com 0,5 e 0,75% de EXT.

5.4. CONCLUSÕES

- As salsichas produzidas com 4% de adição (p/p) de proteína texturizada de soja e de autolisado de levedura foram tecnologicamente semelhantes ou superiores à produzida com 4% de extrato de levedura; 8% de extrato de levedura resultaram em quebra da emulsão cárnea.
- A aceitação da salsicha com 4% de proteína texturizada de soja não diferiu da salsicha com 4% AUT quanto ao aroma, sabor e textura. A salsicha com 4% de extrato de levedura revelou-se de menor qualidade sensorial e menor aceitação pelo consumidor, do que a salsicha contendo a mesma proporção de autolisado de levedura.
- As salsichas com substituição de 1,5% de proteína da carne por proteína de PTS e CPF apresentaram maior estabilidade de emulsão, seguida pela salsicha com proteína de AUT e com a menor estabilidade, a salsicha com EXT.

- autolisado e o extrato de levedura, substituindo 1,5% da proteína da carne, conferiram à salsicha sabor e aroma que não diferiram significativamente daquela com extrato de levedura.
- A salsicha com até 0,75% de proteína de extrato de levedura (equivalente a 1,5% de extrato de levedura) apresentou características químicas, físicas e organolépticas iguais (perda de peso no cozimento, % suco exsudado na embalagem, aceitação) ou superior (cor subjetiva) às da salsicha com 1,5% de proteína texturizada de soja.
- As características apresentadas pelo extrato de levedura indicam uma melhor utilização como melhorador de sabor ou aromatizante do que como substituto da proteína cárnea.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 17th ed. Gaithersburg, Maryland, 2000.

BLIGH, E.G. & DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v.37, n.7, p.911-917, 1959.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Instrução Normativa n.4, de 31 de março de 2000. Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de carne mecanicamente separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha. **Diário Oficial da União**, Brasília, 05.04.2000, Seção 1, p. 6-10.

GRUJIC, R.; PETROVIC, L.L MULALIC, N. Effects of addition of soy protein or brewer's yeast protein on colour changes of semi-dry sausages. **Tehnologija Mesa**. v. 31, n.6, p.208-212, 1990. APUD *FSTA* 91-09-S0123, 1990.

HOFFMANN, K.; HAMM,R.; BLUCHEL, E. Neus über die bestimmung der wasserbindung des. **Fleischwirtschaft**, Frankfurt, v.62, n.1, p.87-94, 1982.

KOLLAR, R.; STURD, E.; SAJBIDOR, J. Complete fractionation of *Saccharomyces cerevisiae* biomass. **Food Biotechnology**, New York, v.6, n.3, p. 225-237, 1992.

- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V. ; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. London, CRC Press, Inc. 1991, 281p.
- NAGODAWITHANA, T. Yeast-derived flavors and flavor enhancers and their probable mode of action. **Food Technology**, Chicago, november, v.46, n.11, p.138, 140-142, 144, 1992.
- NEWELL, G.J.; Mc FARLANE, J.D. Expanded tables for multiple comparison procedures in the analysis of ranked data. **Journal of Food Science**, Chicago, v.52, n.6, p.1721-1725, 1987.
- PARKS, L.L.; CARPENTER, J.A. Functionality of six nonmeat proteins in meat emulsion systems. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 52, n.2, 271-274, 1987.
- SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações**. Varela, São Paulo, 1996, 517p.
- STONE, H. & SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices**. Academic Press, 311 p. 1985.
- ZAMBONELLI, C.; RAINIERI, S.; CHIAVARI, C.; MONTANARI, G.; BENEVELLI, M.; GRAZIA, L. Autolysis of yeasts and bacteria in fermented foods. **Italian Journal of Food Science**, Perugia, v.12, n.1, p. 9-21, 2000.

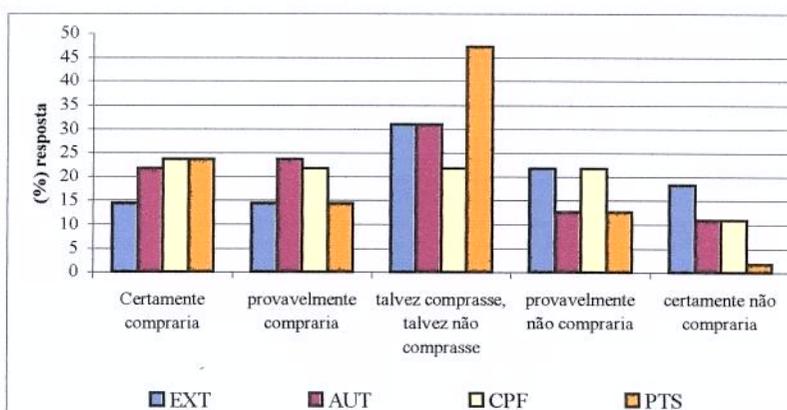
CAPÍTULO 6

CONCLUSÃO GERAL

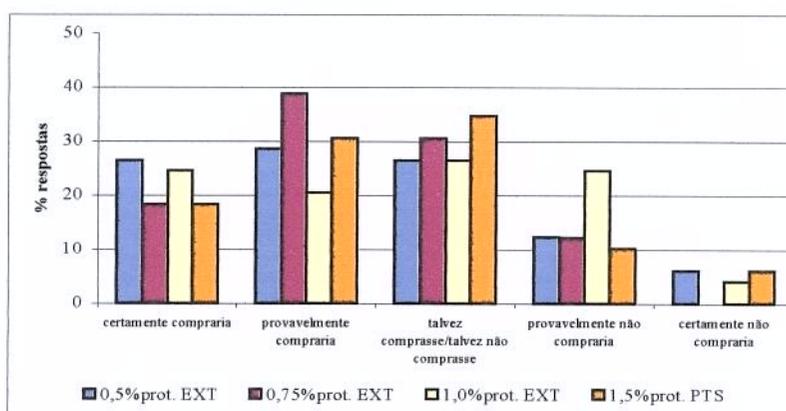
A análise dos resultados mostra que o processo de obtenção afetou a composição e as propriedades funcionais de cada derivado de maneira diferente, sugerindo diferentes possibilidades de uso. Pelos índices avaliados (PDCAAS, PER, NPR e promoção de crescimento), a proteína dos derivados obtidos (AUT, EXT e CPF) é de bom valor nutritivo, muito próximo ao da caseína, com exceção da levedura íntegra (LI) que apresentou índices mais baixos. Quanto ao aspecto tecnológico da utilização dos derivados de levedura em produto cárneo emulsionado, o AUT e o CPF podem substituir parte da proteína cárnea com a manutenção da qualidade do produto. Já o EXT, pelas propriedades apresentadas, aponta uma melhor utilização como flavorizante em produtos cárneos.

ERRATA

- Na pág. xii, 9ª linha, onde se lê: DESTILARIA DE ÁLCOOL, leia-se DESTILARIA DE ÁLCOOL EM PRODUTO CÁRNEO EMULSIONADO
- Na pág. xix, 3ª linha, onde se lê: (cerca de 20%), leia-se (cerca de 20kg/m³)
- Na pág. xxiii, 3ª linha, onde se lê: (about 20%), leia-se (about 20kg/m³)
- Na pág. 47, onde se lê: Lavagem com água pH 3,2 , leia-se Lavagem com água acidificada pH 3,2
- Na pág. 59, na 23ª linha, onde se lê: ácidos graxos insaturados, leia-se ácidos graxos saturados
- Na pág. 60, na 21ª linha, onde se lê: α linolênico (C18:3 \square 3 α), leia-se α linolênico (C18:3 ω 3 α)
- Na pág. 115, Tabela 5.5., no 3º parâmetro, capacidade de retenção de água onde lê-se 0,7^a, 0,6^a, 0,6^b, 0,5^c, leia-se 0,68^a, 0,64^a, 0,59^b, 0,50^c
- Na pág. 123, na Figura 5.6, considere-se:



- Na pág. 127, na Figura 5.8, considere-se:



- Na pág. 128, 3ª linha, onde se lê: Ordenação total, leia-se Preferência global