

# Caracterização dos nutrientes presentes em levedura (*saccharomyces cerevisiae*) submetida a liofilização

França, Tamires  
Prada, Marcos Henrique

## Resumo

Biomassa de levedura constitui excelente fonte de proteínas, que, devido suas características não-patogênicas, são possíveis de serem utilizadas na alimentação animal e até mesmo humana, como biomassa proteica ou bioproteínas. Seguindo este contexto este trabalho teve como objetivo quantificar os nutrientes em uma levedura utilizada na produção de cerveja artesanal. Amostras da biomassa da levedura *Saccharomyces cerevisiae* foram coletadas em uma cervejaria artesanal da cidade de Piracicaba-SP, sendo submetida a purificação por meio de sucessivas lavagens e em seguida a liofilização por 96 horas. Após quantificou-se os componentes da levedura, sendo realizados ensaios de determinação de umidade pelo método de estufa, cinzas (mufla/calцинаção), lipídeos (Soxhlet), e proteína (Kjedahl). Os minerais foram quantificados por espectrometria atômica de chama determinando os compostos fosforo, potássio, sódio, cálcio, magnésio, alumínio e ferro. O resultado obtido foi conforme o esperado, apresentando quantidades significativas de todos os compostos analisados.

Palavras chave: levedura; purificação; liofilização.

## Abstract

Yeast biomass constitutes an excellent source of proteins, which, due to their non-pathogenic characteristics, are possible to be used in animal and even human food, such as protein biomass or bioproteins. Following this context, this work had as objective to quantify the nutrients in a yeast used in the production of artisanal beer. *Saccharomyces cerevisiae* yeast biomass collected from artisan brewery in the city of Piracicaba, São Paulo State, Brazil, the purification was carried out by washing them and subjecting them to lyophilization for 96 hours. After quantifying the yeast components, such as ash, muffle, lipid (Soxhlet), and protein (Kjedahl), the minerals were quantified by flame atomic spectrometry to determine the phosphorus, potassium, sodium, calcium, magnesium, aluminum and iron. The result obtained was as expected, with significant amounts of all compounds analyzed.

Key words: yeast; purification; lyophilization.

## Resumen

La biomasa de levadura es una excelente fuente de proteínas que, debido a sus características no patogénicas, es posible de ser utilizadas en la alimentación animal e incluso humana, como biomasa proteica o bioproteínas. Siguiendo este contexto este trabajo tuvo como objetivo cuantificar los nutrientes en una levadura utilizada en la producción de cerveza artesanal. Muestras de la biomasa de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* fueron recolectadas en una cervecería artesanal de la ciudad de Piracicaba-SP, siendo sometida a purificación por medio de susceptibles lavados y luego la liofilización por 96 horas. Después de cuantificó los componentes de la levadura, se realizaron ensayos de determinación de humedad por el método de invernadero, cenizas (mufla / calcinación), lípidos (Soxhlet), y proteína (Kjedahl). Los

minerales fueron cuantificados por espectrometría atómica de llama determinando los compuestos fosforo, potasio, sodio, calcio, magnesio, aluminio y hierro. El resultado obtenido fue conforme a lo esperado, presentando cantidades significativas de todos los compuestos analizados.

Palabras clave: levadura; purificación; liofilización.

## **INTRODUÇÃO**

Existe uma demanda para a comercialização da levedura seca, por ser considerada de excelente valor nutricional, pois é uma das fontes mais seguras de proteína nas rações para os animais. O processo de secagem foi à técnica que auxiliou agregação do valor nutricional a esse produto, permitindo assim manter os nutrientes e abastecer tanto o mercado interno como externo (ICON TECH, 2009). O Brasil é considerado como o maior produtor de etanol do mundo (CONAB, 2015; UNICA, 2015).

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

Liofilização é um processo de estabilização, no qual uma substância é previamente congelada e então a quantidade de solvente (geralmente água) é reduzida, primeiro por sublimação e posteriormente por dessorção, para valores tais que impeçam atividade biológica e reações químicas; e passam pelos processos de congelamento inicial, secagem primária e secagem secundária (MARQUES, 2008). É um método de desidratação usado na preservação de alimentos perecíveis, que produz alimentos secos com uma elevada qualidade em suas características sensoriais que podem ser percebidos pelos sentidos humanos, tais como cor, brilho, luz, odor, textura, sabor e valor nutricional. Estes produtos são capazes de apresentar uma vida útil prolongada, evitando deste modo a utilização de uma grande quantidade de aditivos.

Este trabalho teve por objetivo avaliar o perfil nutricional e o potencial de utilização de derivados da levedura secundária liofilizada na indústria alimentícia para ser utilizada em produtos como pães, biscoitos na área de panificação massas e salgadinhos.

## **METODOLOGIA DE DESENVOLVIMENTO**

### **Coleta e tratamento das amostras**

As amostras de levedura secundária foram coletadas em cervejarias artesanais da região do município de Piracicaba-SP, e se formou da suspensão de células em refrigeração.

Tais amostras ficaram armazenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$ , até o tratamento de limpeza, que consistiu na adição de um reagente alcalino e sucessivas lavagens para obtenção da biomassa limpa e pronta para o consumo. As lavagens e o tratamento alcalino tiveram como objetivo retirar o excesso de resinas e taninos típico de lúpulo, inerente às amostras. Uma parte de um lote das amostras recebidas foi submetida apenas ao tratamento térmico e centrifugação, para obtenção da biomassa úmida sem tratamento (BMST).

### **Liofilização da biomassa úmida**

O método utilizado teve como referência Sgarbieri et al. (1999) adaptado. A biomassa limpa congelada ( $-80^{\circ}\text{C}$ ) foi submetida ao processo de liofilização por 96 horas, em Equipamento Liofilizador Liotop L101, no qual será obtido o Liofilizado (BMSTL).

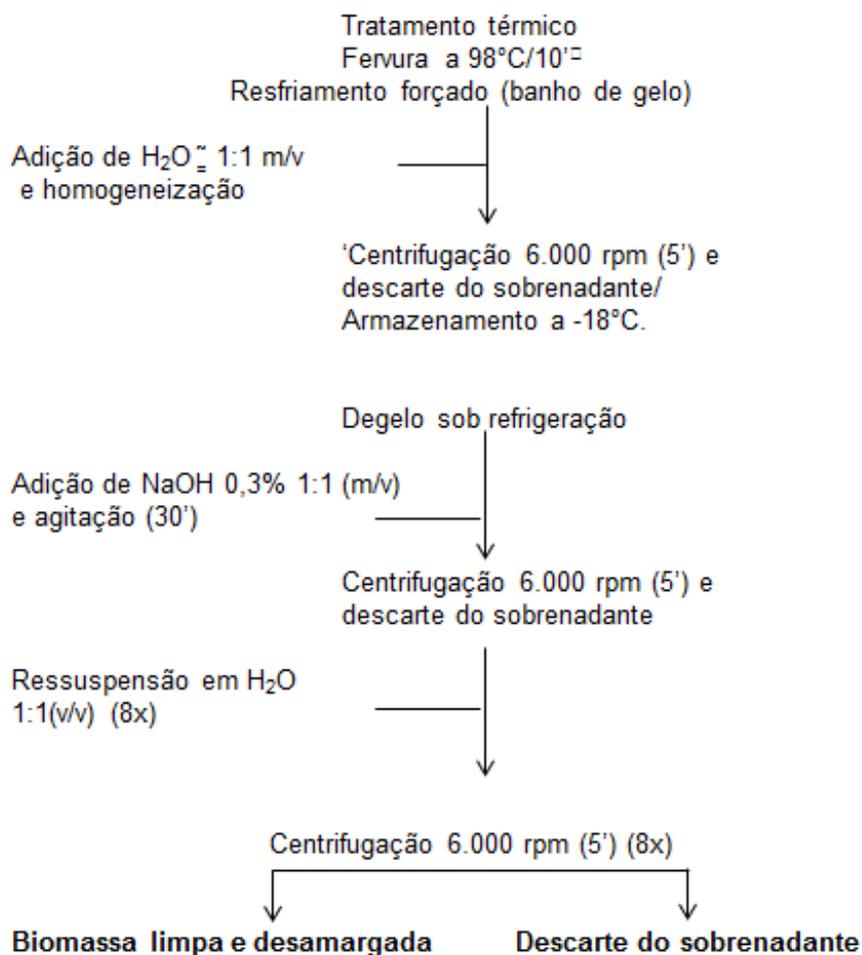
Aplicou-se tratamento térmico nas amostras para inativação de células remanescentes, ainda ativas, compreendendo  $98^{\circ}\text{C}/10$  minutos, seguida de primeira lavagem e centrifugação, para recuperação e decantação das células, em Centrífuga modelo Q222t- marca Quimis, a uma velocidade de rotação de 2000 rpm por 10 minutos. As amostras foram armazenadas a  $-18^{\circ}\text{C}$ , até o tratamento de limpeza e desamargamento, que consistiu na adição de um reagente álcali NaOH a 0,3% e sucessivas lavagens para obtenção da biomassa limpa e desamargada (BMT). As lavagens e o tratamento alcalino tiveram como objetivo retirar o excesso de resinas e taninos e neutralizar o sabor amargo, inerente às amostras.

Uma parte de um lote das amostras recebidas foi submetida apenas ao tratamento térmico e centrifugação, para obtenção da biomassa úmida sem tratamento (BMST).

A biomassa limpa e desamargada foi congelada ( $-80^{\circ}\text{C}$ ) e submetida ao processo de liofilização por 96 horas, em Equipamento Liofilizador Liotop L101, no qual foi obtido o Liofilizado (BMTL). A biomassa sem o tratamento será também liofilizada (BMSTL) sendo utilizada para análises de composição centesimal, de minerais e vitaminas.

A determinação da composição centesimal também foi realizada em um lote do BMSTL, em triplicata, para identificação de possíveis perdas nutricionais devido ao tratamento. A figura 1 apresenta o fluxograma do processo para obter a biomassa da levedura desamargada e limpa.

Figura 1. Fluxograma de tratamento da levedura secundária para obtenção da biomassa de levedura



Fonte: adaptado de Sgarbiciri et al, (1999).

O fluxograma apresenta de forma sucinta todo o procedimento realizado para se obter a biomassa. Não se utilizou nenhuma metodologia para preservar a viabilidade da levedura.

### Composição centesimal

A composição centesimal foi realizada nas amostras, para determinação de lipídios, proteínas, umidade e cinzas, de acordo com as normas do Instituto Adolfo Lutz (2008). Foram

utilizados 5,5 como fator de conversão a proteínas, sugerido por Reed e Nagodawithana (1991), para proteínas de levedura.

Para a determinação utiliza-se a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008).

## **Umidade**

A determinação de umidade ocorre através da estufa.

Pesou 2g da amostra marcando o peso até a quarta casa decimal na balança analítica. Após levou a amostra para estufa a 105°C por 30min. Passado o tempo, retirou a capsula de porcelana deixou esfriar em dessecador por aproximadamente 30 minutos e pesar.

A porcentagem de matéria seca foi dada pela divisão do peso da amostra seca, pelo peso da amostra úmida, multiplicado por 100. O peso da amostra seca é dado pela diferença entre o cadinho com a amostra seca e o cadinho sem amostra. Enquanto a porcentagem do teor de umidade é dada pela subtração de 100 menos a porcentagem de matéria seca.

Cálculo:

$$\text{Matéria seca \%} = \frac{\text{g amostra seca}}{\text{g de amostra}} \times 100$$

$$\text{Umidade\%} = 100 - \% \text{ matéria seca}$$

## **Determinação de cinzas**

Com o auxílio de uma pinça, para evitar o contato com as mãos, que possam passar umidade e gordura, aquecer o cadinho na mufla a 550°C, por 30min, após resfriou-se em dessecador. Pesou-se o cadinho em balança analítica até a quarta casa decimal. Pesou-se 2g da amostra, após colocar cadinho na mufla e incinerar a amostra a 550°C, até que o material se torne branco ou cinza claro. Após esfriar no dessecador, o cadinho deve ser pesado.

Cálculo:

$$\text{Cinza \%} = \frac{(\text{peso cadinho com amostra} - \text{peso do cadinho})}{\text{Peso da amostra (g)}} \times 100$$

## **Determinação do teor de lipídios**

A técnica utilizada para a determinação do teor de lipídios foi o método Soxhlet, que se aplica a produtos e subprodutos de origem vegetal e animal.

Para a análise é foi dobrado um papel filtro ao meio e em seguida dobrado em 3 vezes, pesou-se 2g de amostra no papel filtro e dobrar envolvendo a amostra. Logo, colocou dentro de um cartucho de Soxhlet e colocou algodão. O copo coletor foi numerado e pesado, previamente seco, em balança analítica até a quarta casa decimal. Após, o cartucho foi colocado dentro do aparelho de Soxhlet e adicionado hexano p.a, no copo coletor e encaixado no equipamento, após abriu a água e ligou o extrator de gordura começou a gotejar (60 gotas/min), a partir desse momento marcou a hora. Após 2h de extração, subiu a haste do equipamento e continuou a extração por mais 2h, depois fechou a torneira e recuperou o solvente. Por fim, colocou os copos coletores na estufa a 105°C durante 1h. Colocou no dessecador e pesou após esfriar.

Cálculo:

$$\text{Teor de óleo \%} = \frac{(\text{balão} + \text{óleo} - \text{balão})}{\text{Peso da amostra}} \times 100$$

Peso da amostra (g)

### **Determinação de proteína**

A determinação de proteína ocorreu através da metodologia de Kjeldahl, sendo umas das análises mais importantes para este trabalho.

Para a digestão da amostra:

Pesou 0,1g da amostra em papel de seda e colocou no tubo digestor, adicionou 5ml de solução digestora: 175ml de H<sub>2</sub>O destilada, 21,39g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (anidro), 4,0g de CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, 200ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (conc), feito o branco (só a solução digestora). Colocou-se os tubos no bloco digestor ao centro. Na cabine de exaustão ligou-se a exaustão e o ligou ao bloco digestor à temperatura 100°C, após o material atingir o ponto de ebulição, aumentou-se a temperatura gradativamente até 350°C. Após o resfriamento, adicionou 10ml de H<sub>2</sub>O em cada tubo.

Para a destilação da amostra digerida:

Colocou-se um tubo com a amostra digerida no destilador, conectando ao erlenmeyer com 10ml da solução de ácido bórico: 20g de ácido bórico, 15ml verde de bromocresol, 6 ml vermelho de metila, 1000ml água destilada, com indicador bem próximo a saída do condensador. Posteriormente colocou 20ml da solução de NaOH 40%, abriu a torneira bem lentamente pois a soda em contato com a amostra libera vapor. Após lavou o copo dosador de entrada de NaOH com o mínimo de água possível, e ligado o aquecimento com a torneira fechada. E virou no erlenmeyer de rosa para verde esperou atingir 20ml.

Para a titulação:

Titular H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,05 N até a viragem de verde para rosa.

Cálculo:

$$\%N = \frac{(\text{ml amostra} - \text{ml branco}) \times N \times 14 \times 100}{P(\text{mg})}$$

$$\% P = \%N \times f$$

### **Determinação de fósforo**

O fosforo é um elemento mineral que pode ser encontrado amplamente difundido pelos alimentos sejam de origem animal ou vegetal. Possui funções vitais para os seres vivos, é um elemento químico essencial.

Pipetou alíquotas de 1, 2, 3, 4 e 5mL, em balão volumétrico de 50mL (fazer em triplicata). Colocou 12,5mL de vanadato-molibdato de amônio, e completar o balão volumétrico com água destilada a 20°C. Homogeneizar e esperar 10 minutos. Fez o branco com 12,5mL de vanadato-molibdato de amônio, e completou o balão volumétrico com água destilada a 20°C. Homogeneizou e esperou 10 minutos. Fez a leitura em espectrofotômetro a 420nm.

### **AMOSTRA**

Ocorreu através da utilização das cinzas previamente pré-preparadas. Dissolveu as cinzas em Becker de 500mL com 40mL de ácido clorídrico (1:3) e 1mL de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) concentrado. Lavar o cadinho com água destilada. Levar à ebulição, deixar esfriar, transferir para balão volumétrico de 100mL, completar o volume.

Retirou-se uma alíquota (1mL) e verteu-se para balão volumétrico de 50mL.

Colocou 12,5mL do reagente vanadato-molibdato de amônio. Completar o volume com água destilada a 20°C. Homogeneizou e esperou 10min. Leu em espectrofotômetro a 420nm.

### **Composição mineral**

Foi determinada a composição de minerais pela metodologia Adolfo Lutz conforme a designação: 394/IV Determinação de minerais por espectrometria de absorção atômica com chama.

O método apresentado refere-se a quantificação dos minerais: ferro, cobre, cálcio, magnésio, zinco, e potássio em alimentos. Baseia-se na determinação por espectrometria de

absorção atômica com chama dos referidos minerais em uma amostra representativa do alimento, previamente digerida.

## RESULTADOS

As figuras 2 ou 3 e 4 representam as leveduras que foram lavadas por 6 vezes com um intervalo de 24 horas. A figura 2 ou 3 mostra quando a levedura foi homogeneizada com a água para aguardar a decantação em 24 horas, já a figura 2 representa sua decantação após 24 horas.

**Figura 2 - Lavagem da Levedura em Suspensão**



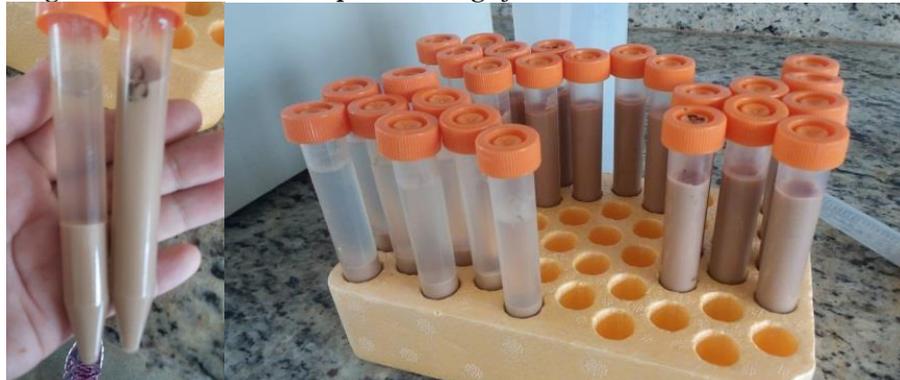
**Figura 2 - Levedura decantada (Lavagem/Purificação)**



Fonte: própria, 2018.

Conforme as figuras 2 ou 3 apresentam as leveduras se precipitam após 24 horas, sendo a lavagem o fator crucial para tirar impurezas e ajudar na remoção do amargor da levedura, para não possuir sabor residual na farinha de levedura, pois quando adicionada em alimentos ou ração animal não será percebida no momento do consumo. A última lavagem ficou 75 horas para a precipitação total da levedura, após foi descartado a água em excesso e realizado a centrifugação no equipamento Q222t- conforme apresenta a figura 3 .

**Figura 3 - Levedura antes e pós centrifugação**



Fonte: própria, 2018

A figura 3 nos mostra que saiu um alto teor de água que estava ainda solubilizado junto a levedura. Após a centrifugação a levedura foi armazenada em potes de plástico e congelada a  $-80^{\circ}$  para a liofilização. O período de liofilização das leveduras foi de 96 horas no liofilizador Liotop L101.

A figura 4 representa a levedura é após 96 horas de liofilização, pronta para quantificar os minerais.

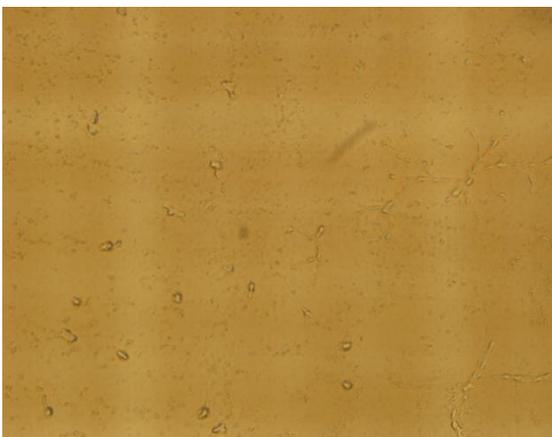
**Figura 4: Levedura pós Liofilização**



Fonte: própria, 2018.

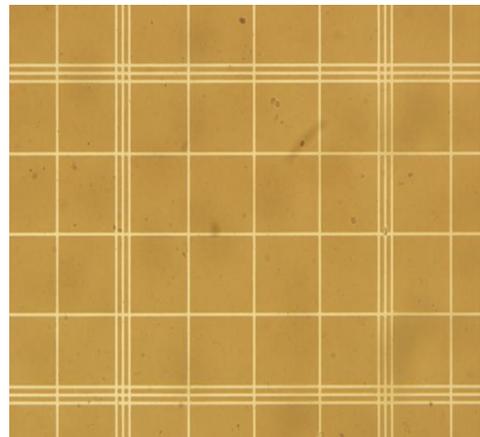
A figuras 5 e 6 são das células de levedura apresentadas no microscópio ótico utilizando a ampliação de 250x .

**Figura 5: Células da Levedura I**



Fonte: Própria, 2018.

**Figura 6 : Células levedura II**



As células, na maioria, se romperam, entretanto não alterou a quantificação de nutrientes, já que o foco do trabalho não é a viabilidade das células.

A tabela 1 apresenta as composições dos nutrientes da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, com os resultados dos compostos analisados.

**Tabela 1 - Composição da levedura**

<b>Composto</b>	<b>Quantidade %</b>
Umidade	6%
Proteína	44%
Lipídeos	1%
Cinzas	2,43%

Fonte: Própria, 2018

A tabela 1 nos mostra que o teor é de em média 40% de proteína.

Em comparação com o trabalho de Yamada et. al (2003) a quantidade de lipídeos possui 3,44%; já a levedura liofilizada obteve-se em torno de 1%; a quantidade de cinzas foi de 8,33% a levedura liofilizada ficou em torno de 2,43%.

A tabela 2 apresenta os dados da composição mineral da farinha de levedura.

**Tabela 2 - Composição dos Minerais da Levedura**

<b>Composto</b>	<b>Quantidade/100g</b>
Fosforo	647 mg
Potássio	66 mg
Sódio	31 mg
Cálcio	329 mg
Magnésio	56 mg
Alumínio	7,2 mg
Ferro	6,1 mg

Fonte: Própria, 2018

A quantidade de minerais encontrada comparada com Yamada et. al (2003) nos mostra que a levedura liofilizada se sobressai já que ela possui 647mg, o trabalho apresentou em torno de 16,94mg/100g de fósforo. O mesmo se repete com o potássio, na levedura liofilizada 66mg, e no

trabalho 13,56mg. A levedura liofilizada possui 31mg de sódio já a biomassa de levedura integral possui 8,95mg é uma diferença considerável, já em comparação de cálcio a levedura liofilizada possui 329 mg e a biomassa de levedura integral possui 0,73 são quantidades bem discrepantes, a quantidade de magnésio a levedura liofilizada possui 56mg já a biomassa de levedura integral possui 2,10mg, no ferro levedura liofilizada possui 6,1 e a biomassa de levedura integral possui 0,10.

A variação da composição da levedura varia de tipo de cerveja, método de estocagem, tipo de levedura dentre outros, porém pode-se dizer que a levedura liofilizada possui compostos com maior teor em comparação.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Conclui-se com base nos dados coletados durante a realização do trabalho, que a levedura possui quantidades significativas de proteínas e minerais, a qual é viável utilizar a levedura que é um subproduto do processo de produção da cerveja artesanal e das usinas de etanol cuja produção é elevada, e que pode prejudicar o meio ambiente. Por ser rica em nutrientes, contamina a água e o solo criando condições para a proliferação de bactérias e fungos que contaminam o meio ambiente.

Os dados se aproximaram da literatura sendo que o teor da proteína no qual a literatura diz que de média a levedura possui 40%, e o método de liofilização foi eficiente pelo teor de umidade encontrada. Explicar

A levedura liofilizada poderá ser utilizada para enriquecer produtos alimentícios, e também ração animal, o enriquecimento e a fortificação de produtos alimentícios é uma estratégia utilizada pela Política Nacional de Alimentação e Nutrição (PNAN) para a prevenção de doenças relacionadas à carência alimentar em proteínas e sais minerais.

Esse trabalho foi apenas uma contribuição para confirmar a literatura, no qual ainda poderá ser explorado como futuras informações já que comparado com outros bancos de dados os valores variam podendo assim serem explorados novos tipos de levedura e unidades de cervejarias diferentes.

## **REFERÊNCIAS**

BOZE H, MOULIN G, GALZY P. Production of food and fodder yeasts. *Crit Rev Biotechn*, 1992; 12: 65 – 86.

Bioenergia em revista: diálogos, ano 9, n. 1, p. xxx-xxx, jan./jun. 2019

França, Tamires; Prada, Marcos Henrique

*Caracterização dos nutrientes presentes em levedura (saccharomyces cerevisiae) submetida a liofilização*

BUTOLO J. E. Uso de biomassa de levedura em alimentação animal: propriedades, custo relativo a outras formas de nutrientes. In: Workshop Produção de Biomassa de Levedura em Alimentação Animal e Humana; Agosto, Campinas. *Anais*. Campinas: ITAL; 1996.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. *Levantamento da safra*

*de grãos, café, cana-de-açúcar e laranja (área plantada, produtividade e produção)*. Brasília, Distrito Federal, dezembro de 2015. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&>. Acesso em: 22 dez. 2015.

GRANGEIRO, M.G.A. et al. Inclusão da levedura de cana-de-açúcar

(*Saccharomyces cerevisiae*) em dietas para frango de corte. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 30, n. 3, p. 766-773, 2001.

HAMMAMI, C., RENÉ, F., AND MARIN, M. (1999) Process–quality optimization of the vacuum freeze-drying of apple slices by the response surface method.

*International Journal of Food Science and Technology*, 34: 145–160.

ICON TECH (2009). *Sangria de levedura*. Disponível em: . Acesso em: 05 DEZ. 2015.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. São Paulo, 2008.

MARQUES A.; OETTERER, M.; HORII, J. Caracterização de leveduras e seu uso na alimentação. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 32, n. 1, p. 89-98, 1998.

MOREIRA, J. A., MIYADA, V.S., et al. Uso da Levedura Desidratada como Fonte Proteica para Suíno em Crescimento e Terminação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 27, n. 6, p.1160-1167, 1998.

MIYADA, V. S. *A levedura seca na alimentação de suínos: estudos adicionais sobre o seu valor proteico e vitamínico*. 1987. (Tese de livre docência).

UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR - UNICA. *Maior produtor mundial de cana-de-açúcar*. 2015. Disponível em:

<<http://www.unica.com.br/faq/>>. Acesso em: 22 dez. 2015.

YAMADA, Eunice Akemi et. al. *Rev. Nutr.* Vol.16, n.4, Campinas Oct./Dec. 2003.

1 Tamires FRANÇA possui Graduação em Tecnologia em Alimentos pela Faculdade de Tecnologia de Piracicaba Dep. “Roque Trevisan”- Fatec Piracicaba. Curso técnico em alimentos pela Escola Técnica Rubens de Faria e Souza concluído em 2015.

2 Marcos Henrique PRADA. Possui graduação em Ciências Biológicas pela Faculdade Metodista de Piracicaba (UNIMEP-2004), com especialização em Gestão de Produção e Manutenção em Bioenergia (UFISCAR-2012). Desde 2012 é professor da Faculdade de Tecnologia de Piracicaba (FATEC) “Deputado Roque Trevisan” vem ministrando aulas no Curso de Biocombustíveis. Tem experiências de 21 anos nas áreas de Produção e Manutenção em indústrias Sucroalcooleiras e desenvolve trabalhos de graduação nas áreas de Tecnologias em Biocombustíveis e Alimentos.