

## CONSERVAÇÃO DO LEITE DE LEVEDURA PELA ADIÇÃO DE DIFERENTES TIPOS DE ADITIVOS E DOSAGENS<sup>(1)</sup>

FERNANDO BASILE DE CASTRO<sup>(2)</sup> e PAULO FERNANDO MACHADO<sup>(3)</sup>

**RESUMO:** Diferentes tipos de aditivos em dosagens variadas foram usados na conservação do leite de levedura em recipientes fechados, através dos tratamentos: formol, ácido fórmico e HCl, cada um deles nas dosagens de 0, 2; 0, 4 e 0, 8% em peso e extrato de bagaço de cana auto-hidrolisado (EBAH), nas dosagens 1, 2 e 4% em peso, além do tratamento testemunha. As amostras foram armazenadas por 0, 3 e 6 semanas. O efeito dos tratamentos foi avaliado através das análises de nitrogênio solúvel, total e amoniacal, além do pH, MS e produção de gás. Pelos resultados conclui-se que o leite de levedura conserva-se, adequadamente, sem uso de aditivos até 3 semanas. Além desse período, o uso de aditivos reduz a degradação de sua fração protéica. Entre os aditivos avaliados, o formol teve melhor ação conservante, tendo o ácido fórmico e HCl, efeito intermediário e EBAH o menor efeito.

**Termos para indexação :** levedura, conservação, aditivo químico.

### *Conservation of liquid yeast using different additives and concentrations*

**SUMMARY:** The conservation of liquid alcohol yeast in closed tubes were evaluated using different additives and concentrations. The following treatment were evaluated: control, formaldehyde, formic acid and HCl, each of them with 0.2, 0.4 and 0.8% (wt/wt) and extract of auto-hydrolyzed sugar-cane bagasse (EAHB) with 1, 2 and 4% (wt/wt). These samples were stored during 0, 3 and 6 weeks. The treatments were evaluated using gas production, soluble nitrogen, total nitrogen, ammoniacal nitrogen, pH and DM analysis. The results indicated that yeast preservation was reasonable until 3 weeks even without additives. After this period the use of chemical additive decreases degradation of protein. Among additives used formaldehyde was the most effective, having the formic acid and HCl an intermediate effect and EAHB the minor effect.

**Index terms :** yeast, conservation, quimic additives.

(1) Trabalho financiado pela Usina São Martinho SA/Açúcar e Alcool e EMBRAPA. Recebido para publicação em março de 1990.

(2) Seção de Criação e Manejo do Gado Leiteiro, Divisão de Zootecnia de Bovinos Leiteiros.

(3) Departamento de Zoologia, ESALQ/USP.

## INTRODUÇÃO

Dependendo da tecnologia empregada na fermentação alcoólica, pode haver uma produção excedente de levedura. Segundo BERGAMASCHINI (1986), o Brasil poderia atingir uma produção anual de 900.000 toneladas de levedura seca se fossem extraídos 2kg de levedura seca por 100 litros de álcool produzido, sem haver comprometimento da eficiência na fermentação alcoólica.

A utilização da levedura seca de álcool na alimentação de ruminantes, já foi avaliada em alguns trabalhos científicos, mostrando-se uma nova fonte de proteína de alto valor nutritivo (KIHLBERG, 1972; STECKLEY et al., 1979b; MACHADO et al., 1984; REICHERT et al., 1984; HARRISON et al., 1988; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1988).

A maior restrição para o uso em maior escala, tem sido o elevado custo. Uma maneira de minimizá-lo estaria na utilização da levedura de álcool em sua forma líquida (leite de levedura). Porém, esse não se conserva adequadamente, necessitando o uso de técnicas de conservação (aditivos químicos, vapor, etc...), para manter suas características químicas e físicas (BERGAMASCHINI, 1986).

Quanto às técnicas de conservação, existem trabalhos na literatura que mostram a viabilidade de armazenar o leite de levedura através do uso de diferentes tecnologias (STECKLEY et al., 1979a, BERGAMASCHINI, 1986).

Entre as técnicas normalmente utilizadas destacam-se o uso de aditivos químicos, tais como: ácidos fórmico, acético, propiônico e clorídrico e, o formaldeído. Tem-se utilizado também a injeção de vapor como tratamento para conservação do leite de levedura (BERGAMASCHINI, 1986).

STECKLEY et al. (1979a), avaliaram o efeito do tempo (0, 7, 14, 21, 28 e 35 dias) e da temperatura de armazenamento (4,4; 21,0 e 30,0 graus Celcius) no leite de levedura, bem como do uso de aditivos a 1% em peso (mistura de ácido acético e ácido propiônico e mistura de ácido fórmico e formaldeído), para limitar a fermentação.

Os resultados indicaram haver queda na intensidade fermentativa com a diminuição da temperatura e com o aumento do tempo de armazenamento. As perdas de MS, em 35 dias de armazenamento sem aditivos foram de 4,9%, 13,2% e 10,4%, às temperaturas de 4,4; 21,0 e 30,0 graus Celcius, respectivamente. Porém, com o uso de aditivos houve diminuição significativa das perdas.

Observou-se também, aumento na fração nitrogeno solúvel e queda no teor de proteína bruta com o armazenamento, indicando degradação da fração proteica, o que continuou a ocorrer mesmo com utilização

de aditivos, concordando com os dados obtidos por BERGAMASCHINI (1986).

BERGAMASCHINI (1986), utilizando os tratamentos de vapor e amônia, isoladamente ou em associação, observou as alterações ocorridas na composição do leite de levedura em 0; 7; 14; 21 e 28 dias de armazenamento. O autor concluiu que a injeção exclusiva de vapor, foi suficiente para conservar a levedura por até 28 dias.

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito de tratamentos com diversos agentes químicos na preservação do leite de levedura.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido na Usina São Martinho, no período de setembro de 1988 a abril de 1989.

O leite de levedura utilizado nesse experimento foi obtido retirando-o das dornas de fermentação alcoólica (processo Melle-Boineau), sendo este posteriormente desalcooolizado e centrifugado.

A levedura foi armazenada conforme tratamentos descritos a seguir, em tubos de PVC rígido de 15,2cm de diâmetro e 105,0cm de altura, permitindo a colocação de 8kg de leite de levedura por tubo. Os tubos eram providos de tampas nas extremidades, tendo a tampa superior uma saída para determinação da produção de gases.

Durante o enchimento dos tubos o leite de levedura foi homogeneizado, amostrado e posteriormente adicionado o aditivo respectivo ao tratamento, sendo então os tubos fechados hermeticamente.

### Descrição dos tratamentos:

Aditivo	Dosagem		
	Baixa	Média	Alta
	% em peso		
Formol	0,2	0,4	0,8
Ácido fórmico	0,2	0,4	0,8
HCl	0,2	0,4	0,8
Extrato de BAH	1,0	2,0	4,0

Além destes, avaliou-se o tratamento testemunha, sem a utilização de aditivos.

O extrato do bagaço de cana auto-hidrolisado (EBAH), foi obtido a partir da prensagem do bagaço à pressão de 19kgf/cm<sup>2</sup>, durante 20 minutos. Utilizaram-se condições de hidrólise do bagaço acima das usuais, com o objetivo de produzir maior quantidade de compostos tóxicos, como: furfural, hidróxi-metilfurfural e monômeros fenólicos, para obtenção de maior ação conservante.

Todos os tratamentos acima citados foram mantidos

dos nos tubos experimentais durante 3 a 6 semanas. Nas amostras foram efetuadas as seguintes determinações, antes e depois, da abertura dos tubos: matéria seca pelo método de destilação por tolueno (ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, 1965), proteína bruta (ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, 1965), nitrogênio solúvel (BERGAMASCHINI, 1986), nitrogênio amoniacal (CHANEY & MARBACH, 1962) e pH.

Determinou-se também a produção de gases, a partir do método de deslocamento de coluna de água, em coletas efetuadas 2 vezes por semana, até completar 6 semanas de armazenamento.

O delineamento estatístico utilizado foi o split-plot, sendo analisados os efeitos de 4 tipos de aditivos, 3 dosagens por aditivo e 3 tempos de armazenamento, tendo cada tratamento 3 repetições. Os dados foram analisados pelo SAS (1986), inicialmente através da análise da variância e as comparações entre médias através do teste de Tukey.

Analisou-se também, através da regressão linear simples, a correlação entre o tempo de armazenamento e as diferentes análises bromatológicas e de produção de gás.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises de nitrogênio solúvel (NS), mostraram efeito significativo de aditivo e tempo de armazenamento (quadro 1). Observa-se também que houve interação significativa entre tipo de aditivo e tempo de armazenamento (quadro 2), evidenciando que o efeito de tempo é função do aditivo utilizado. No quadro 2 pode-se analisar o efeito das diferentes fontes de variação, sobre as variáveis anteriormente discutidas.

Quadro 1. Efeito do tempo de armazenamento da levedura na concentração de nitrogênio solúvel

Tempo semanas	Aditivo				
	temunha	Formol	HCl	Ác. Fórmico	EBAH
	% na MS				
0	*0,24 b	0,25 b	0,24 b	0,24 c	0,17 b
3	0,41a	0,34a	0,31a	0,31 b	0,21 b
6	0,41a	0,26 b	0,35a	0,36a	0,36a
dms	0,043	0,050	0,046	0,031	0,061

\* Letras devem ser comparadas nas colunas (P < 0,05)

Com exceção feita ao formol, o teor de NS aumentou nos demais tratamentos em função do tempo, indicando fermentação da fração protéica da levedura. Observa-se também que o tratamento com formol foi o que proporcionou o menor teor de NS, indicando maior eficiência de conservação à sexta semana.

Quadro 2. Probabilidade da análise da variância, considerando o efeito de tipo e dosagem de aditivo, tempo de armazenamento e interações

Fontes de Variação	Variáveis						
	NS	PB	NS/NT	N-NH <sub>3</sub>	pH	MS	Gás
	%						
Aditivo (A)	0,001	0,176	0,001	0,001	0,001	0,284	0,001
Dosagem (D)	0,450	0,002	0,082	0,001	0,001	0,933	0,001
Tempo (T)	0,001	0,001	0,001	0,001	0,675	0,001	0,001
A*D	0,755	0,059	0,825	0,785	0,001	0,006	0,001
A*T	0,001	0,164	0,001	0,001	0,721	0,489	0,172
D*T	0,054	0,001	0,009	0,001	0,963	0,675	0,024

Para o tratamento testemunha, ácido fórmico, HCl e EBAH, há correlação linear significativa entre NS e tempo (P < 0,001), mostrando que independentemente da concentração utilizada para estes aditivos, houve uma tendência de elevação de NS no tempo.

Os resultados de PB (quadros 2 e 3), mostraram que houve efeito de dosagem e tempo de armazenamento e interação entre estes efeitos. Apenas dentro de concentração alta é que houve tendência de diminuição nos teores de PB e diferença significativa para o tempo de 6 semanas.

Os resultados de NS/NT (quadro 4), mostraram as mesmas tendências já discutidas para a variável NS.

Quadro 3. Efeito da dosagem e do tempo de armazenamento da levedura na concentração de proteína bruta

Tempo semanas	Dosagem			
	temunha	Baixa	Média	Alta
	% na MS			
0	*35,22 b	36,51a	36,16a	36,31a
3	39,46a	35,78a	35,28a	35,27a
6	40,27a	35,88a	35,91a	33,08 b
dms	1,243	1,349	1,398	1,276

\* Letras devem ser comparadas nas colunas (P < 0,05)

Ou seja, a medida que aumentou o tempo de armazenamento, houve um aumento paralelo nesta relação, indicando transformação da proteína em formas solúveis de nitrogênio.

Entre as análises químico-bromatológicas, a de N-NH<sub>3</sub> (quadros 5 e 6), é que produziu os resultados mais conclusivos quanto à eficiência dos aditivos na conservação da fração protéica. Foi detectado efeito significativo de aditivo, concentração e tempo de armazenamento, bem como interações significativas entre dosagem\*tempo e aditivo\*tempo (quadro 2). As análises de regressão mostraram significância entre N-NH<sub>3</sub> e tempo de armazenamento (P < 0,001), sendo esta correlação positiva. Outro resultado importante foi que a variação na concentração de N-NH<sub>3</sub> foi mais

**Quadro 4. Efeito de aditivo e do tempo de armazenamento da levedura na relação nitrogênio solúvel/nitrogênio total**

Tempo semanas	Aditivo				
	temunha	Formol	HCl	Ác. Fórmico	EBAH
0	*3,69 b	3,56 b	3,53 c	3,55 c	2,46 b
3	5,52a	5,05a	4,62 b	4,67 b	3,09 b
6	5,34a	3,99 b	5,59a	5,42a	5,22a
dms	0,843	0,745	0,718	0,586	0,870

\* Letras devem ser comparadas nas colunas (P < 0,05).

**Quadro 5. Efeito de aditivo e do tempo de armazenamento do leite de levedura na concentração de nitrogênio amoniacal**

Tempo semanas	Aditivo				
	temunha	Formol	HCl	Ác. Fórmico	EBAH
0	*2,26 b	0,48 b	1,36 b	1,66 c	1,01 b
3	0,52 b	0,24 b	1,55 b	2,86 b	3,24 b
6	20,48a	5,34a	9,20a	11,03a	16,41a
dms	2,527	0,733	1,609	0,799	3,363

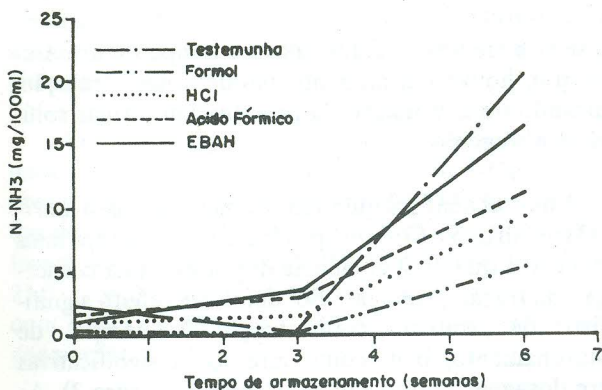
\* Letras devem ser comparadas nas colunas (P < 0,05).

**Quadro 6. Efeito da dosagem e do tempo de armazenamento do leite de levedura na concentração do nitrogênio amoniacal**

Tempo semanas	Dosagem			
	temunha	Baixa	Média	Alta
0	*2,26 b	1,44 b	1,12 c	0,82 b
3	0,52 b	2,16 b	2,10 b	1,67 b
6	20,48a	13,65a	10,13a	7,70a
dms	3,857	1,913	0,977	1,769

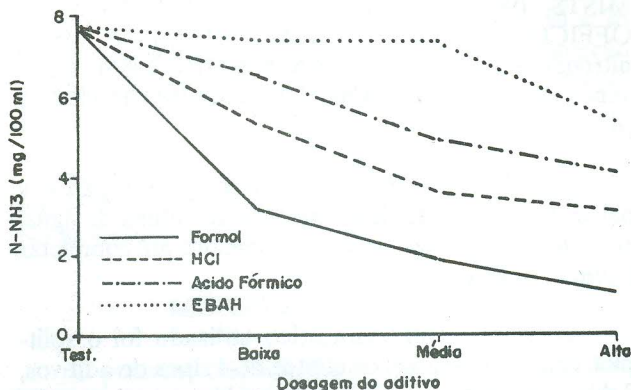
\* Letras devem ser comparadas nas colunas (P < 0,05).

intensa após 3 semanas de armazenamento (figura 1), portanto, houve maior degradação da fração proteica e maior efeito do uso de aditivos após este período.



**Figura 1. Efeito do tipo de aditivo e do tempo de armazenamento na concentração de nitrogênio amoniacal do leite de levedura conservado.**

Em qualquer dosagem analisada, os menores valores de N-NH<sub>3</sub> foram obtidos com formol, sendo este o mais eficiente nestas condições para interromper a degradação da fração proteica da levedura (figura 2).



**Figura 2. Efeito da dosagem e do tipo de aditivo na concentração de nitrogênio amoniacal do leite de levedura conservado.**

Ao contrário do que ocorreu com as demais variáveis, o pH da levedura não variou com o tempo de armazenamento e sim com a dosagem e tipo de aditivo utilizado (quadro 7). Com exceção do EBAH, os outros aditivos tiveram efeito no abaixamento do pH com o aumento da dosagem.

**Quadro 7. Efeito de aditivo e dosagem no pH do leite de levedura armazenado**

Dosagem	Aditivo			
	Formol	HCl	Ác. Fórmico	EBAH
Testemunha	4,14	-	-	-
Baixa	-	4,16 c	3,63 c	3,69 c
Média	-	4,09 b	3,43 b	3,45 b
Alta	-	3,99a	3,12a	2,28a
dms	-	0,061	0,037	0,220

\* Letras devem ser comparadas nas colunas (P < 0,05).

Para a variável teor de MS, apenas foi detectado efeito do tempo de armazenamento e interação aditivo\*dosagem (quadros 2 e 8). Além de ter sido observado efeito significativo nas análises de regressão (P < 0,001), os resultados de MS no tempo foram diferentes significativamente, mostrando que há diminuição no teor de MS com o tempo de armazenagem, concordando com os dados obtidos por BERGAMASCHINI (1986).

Além das análises químico-bromatológicas, a determinação da produção de gases foi de grande importância para a avaliação do processo de armazenamento.

Estes resultados (quadros 2 e 9), mostraram que houve efeito significativo de tipo e dosagem de aditivo,

Quadro 8. Efeito do tempo de armazenamento do leite de levedura no teor de matéria seca

Tempo	Teor de MS
semanas	%
0	22,96a
3	21,60 b
6	17,27 c
dms	1,007

\* Letras devem ser comparadas nas colunas ( $P < 0,05$ ).

tempo de armazenamento e interação aditivo\*dosagem. Nos tratamentos com menor efeito na conservação da levedura (testemunha e EBAH, 1% e 2%), houve correlação linear positiva significativa entre produção de gás e tempo de armazenamento ( $P < 0,001$ ). Para esta variável, formol e HCl, tiveram efeito semelhante nas diferentes dosagens (figura 3).

Quadro 9. Efeito de tipo e dosagem de aditivo na produção de gases, na conservação do leite de levedura

Dosagem	Aditivo					
	Formol	HCl	Ác. Fórmico	EBAH	dms	
	ml/h					
Testemunha	2,33	-	-	-	-	
Baixa	-	0,69 b	0,79 b	2,31a	2,16a	1,341
Média	-	0,70 c	0,70 c	1,03 b	1,79a	0,278
Alta	-	0,76 b	0,72 b	0,69 b	0,89a	0,112

\* Letras devem ser comparadas nas linhas ( $P < 0,05$ )

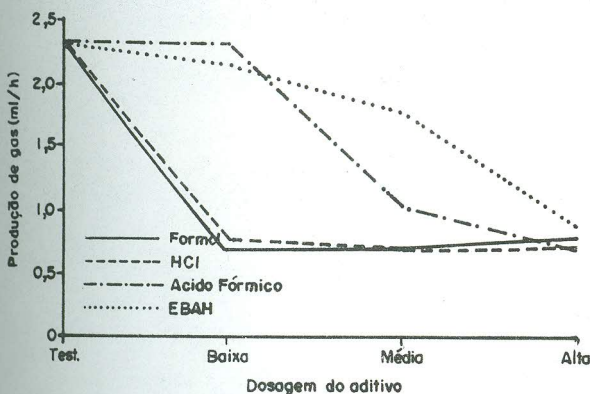


Figura 3. Efeito da dosagem e do tipo de aditivo na produção de gás do leite de levedura conservado.

A produção de gás foi superior para os tratamentos com EBAH e inferior com formol e HCl.

### CONCLUSÕES

1. É possível armazenar, até 3 semanas, o leite de levedura sem o uso de aditivos. Acima deste período há perda do valor nutritivo de sua fração proteica.

2. Entre os aditivos utilizados, o formol foi o que

teve maior efeito conservante, minimizando a degradação da fração proteica e da produção de gases.

3. O ácido fórmico e o HCl tiveram efeito conservante semelhante ao formol apenas em dosagens superiores.

4. O extrato de bagaço de cana auto-hidrolisado, teve efeito conservante apenas em dosagens acima de 4%.

5. Maior período de armazenamento do leite de levedura, maior dosagem de extrato de BAH e avaliação da degradabilidade ruminal da levedura conservada com estes aditivos, devem ser melhor estudados para se recomendar seu uso em condições práticas.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. Official methods of analysis 10 ed. Washington, DC., 1965. 957p.

BERGAMASCHINI, A.F. Efeitos do tratamento físico, físico-químico e tempo de armazenamento sobre a composição da fração nitrogenada da levedura líquida (*Saccharomyces* spp.) de destilarias de álcool. Tese de Mestrado. Piracicaba, SP, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz/USP. 1986. 79f.

CHANEY, A.L. & MARBACH, E.P. Modified reagents for determination of urea and ammonia. J. Clin. Chem., 8:130-2, 1962.

HARRISON, G.A.; HEMKEN, R.W.; DAWSON, K.A.; HARMON, R.J. & BARKER, K.B. Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. J. Dairy Sci., Champaign, Ill., 71(11):2967-75, 1988.

KIHLBERG, R. The microbe as a source of food. Ann. R. Microb., Palo Alto, Ca, 26:427-66, 1972.

MACHADO, P.F.; LIMA, U.A.; d'ARCE, R.D.; MATTOS, W.R.S. & MACHADO, M.A.F.T. Valor nutritivo da levedura (*Saccharomyces* sp), para vacas em lactação. R. Soc. Bras. Zoot., Viçosa, MG., 13(4):509-19, 1984.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of dairy cattle. 6.ed revised. Washington, DC., National Academic Sciences, 1988. 157p. (Nutrient Requirements of Domestic Animals).

REICHERT, R.H.; VELLOSO, L.; PACOLA, L.J.; PINOTTI, R. & PROCKNOR, M. Utilização da levedura desidratada de cana-de-açúcar na alimentação de vacas leiteiras. B. Industr. anim., Nova Odessa, SP, 41(único):73-7, 1984.

SAS, Institut, Inc. SAS User's guide: statistics. Cary, NC, 1986. s.n.p.

STECKLEY, J.D.; GRIEVE, D.G.; MACLEOD, G.H. & MORAN, Jr., E.T. Brewer's yeast slurry, I. Composition as affected by length of storage, temperature, and chemical treatment. J. Dairy Sci., Champaign, Ill., 62:(6):941-6, 1979a.

\_\_\_\_\_ ; \_\_\_\_\_ ; \_\_\_\_\_ & \_\_\_\_\_ ; Brewer's yeast slurry, II. A source of supplementary protein for lactating dairy cattle. J. Dairy Sci., Champaign, Ill., 62(6):947-53, 1979b.