

# COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA BIOMASSA DE LEVEDURA INTEGRAL (*Saccharomyces* sp.) E DETERMINAÇÃO DO VALOR NUTRITIVO DA PROTEÍNA EM CÉLULAS ÍNTEGRAS OU ROMPIDAS MECANICAMENTE<sup>1</sup>

CABALLERO-CÓRDOBA, Glenys M.<sup>2</sup>; PACHECO, Maria Teresa B.<sup>2</sup> & SGARBIERI, Valdemiro C.<sup>3</sup>

## RESUMO

Levedura de cerveja foi submetida a estudos analíticos para determinação de sua composição química e a ensaios biológicos em ratos para determinação de seu valor protéico, na forma de células integras e com as paredes celulares rompidas mecanicamente, através de um moinho com esferas de vidro (Dynamill). Na composição da biomassa predominam as proteínas (48,52%), os carboidratos (32,92%), minerais (8,32%), RNA (7,52%) e lípidos totais (3,4%). O perfil de aminoácidos da proteína é adequado para nutrição humana, superando as recomendações da FAO/WHO/UNU de aminoácidos essenciais, sendo particularmente rica em lisina, podendo ser indicada para complementar a proteína de cereais. O valor protéico determinado através de ensaios biológicos (PER e NPUa) representou 70-80% dos valores para caseína, utilizada como referência.

**Palavras-chave:** Levedura de cerveja; biomassa; composição química; valor protéico.

## SUMMARY

CHEMICAL COMPOSITION OF YEAST BIOMASS (*Saccharomyces* sp.) AND PROTEIN NUTRITIVE VALUE OF INTEGRAL OR MECHANICALLY RUPTURED CELLS Brewer's yeast was submitted to analytical studies to determine its chemical composition and through biological assays with rats to determine its protein value in the form of integral cells and after mechanical rupture of the cell walls in a dynamill with glass spheres. The main components of the biomass was protein (48.5%), carbohydrate (32.9%), minerals (8.3%), RNA (7.5%) and total lipids (3.4%). The protein amino acids profile is adequate for human nutrition, supplying all the essential amino acids recommended by FAO/WHO/UNU, being particularly rich in lysine and could be indicated for complementation of cereals protein. The protein value established by biological assays (PER, NPUa) represented 70 to 80% of casein, utilized in this study as reference.

**Key words:** Brewer's yeast, biomass, chemical composition, protein value.

## 1 — INTRODUÇÃO

A biomassa de levedura constitui um subproduto importante das indústrias de cerveja e de álcool etílico. Como o Brasil é um dos maiores produtores mundiais desses dois produtos, a quantidade de biomassa de levedura produzida é muito grande.

Estudos com leveduras têm merecido destaque, não só pelo fato de estarem tradicionalmente associadas à preparação de alimentos e bebidas fermentadas, mas também pela versatilidade e habilidade de crescerem rapidamente em uma ampla variedade de substratos (11, 13, 19, 28, 30). As leveduras como fonte de proteínas têm sido estudadas, principalmente, a partir dos anos 60, sendo que até o momento não se dispõe de tecnologia abrangente e adequada para sua ampla utilização.

A produção de isolados e concentrados protéicos a partir de microorganismos, tais como leveduras, algas e bactérias, tem recebido considerável atenção nas últimas décadas. Devido ao teor elevado de proteínas (45-65%) são considerados ótima fonte protéica não-convencional (15).

As leveduras mais utilizadas como fonte de nutrientes têm sido *Saccharomyces cerevisiae*, *S. fragilis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Candida utilis* e *C. tropicalis*. Até 1970, a levedura *Saccharomyces carlsbergensis* foi considerada uma espécie e, por este motivo, até hoje esta variedade utilizada na indústria cervejeira é denominada desta maneira. De acordo com uma classificação mais atualizada (4), dentre as quatro variedades de *Saccharomyces carlsbergensis*, três são classificadas como *Saccharomyces cerevisiae* e apenas uma variedade como *Saccharomyces pastorianus*. Embora a espécie *Saccharomyces cerevisiae* seja muito usada para estudos científicos e em panificação, no Brasil existem muitos estudos do emprego desta levedura no processo de fabricação de etanol e o seu aproveitamento em rações para animais (1, 26).

A levedura de cervejaria tem sido pouco estudada para fins nutricionais, talvez pelo seu sabor amargo que resulta do processo de fermentação da cerveja. Alguns trabalhos realizados com levedura excedente da produção de cerveja utilizaram as células inativas intactas, para testes de funcionalidade, sem abordar o aspecto nutritivo (20, 23, 27). Os dois principais fatores citados como limitantes do aproveitamento biológico dos nutrientes da levedura são o seu alto teor em ácido nucléico (RNA) e a parede celular muito espessa e resistente que interfere com a sua digestibilidade (19).

Neste trabalho, explorou-se a influência do rompimento mecânico das paredes celulares no aproveitamento biológico da proteína da biomassa.

<sup>1</sup> Recebido para publicação em 01/07/96. Aceito para publicação em 11/06/97.

<sup>2</sup> Faculdade de Engenharia de Alimentos-DEPAN/UNICAMP. C.P. 6121 - 13081-970 Campinas/SP.

<sup>3</sup> ITAL/Centro de Química de Alimentos e Nutrição Aplicada. C.P. 139 - 13073-001 Campinas/SP.

## 2 — MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 — Levedura

Levedura *Saccharomyces* sp., procedente da indústria cervejeira, foi obtida na forma de células frescas já desmargadas, em suspensão aquosa.

### 2.2 — Ruptura da parede celular

O rompimento das paredes celulares foi conseguido em moinho Dynamill com 70% da câmara preenchida com esferas de vidro de diâmetro entre 0,6 a 1,0 mm (18).

Após otimização, as condições fixadas para a operação foram: suspensão de levedura (40% v/v) em água, ajustando-se pH 8,0 com solução a 10% de carbonato de sódio; fluxo de 80 mL/min; velocidade do moinho de 2.400 rpm.

A temperatura da massa foi mantida a mais baixa possível (15°C) com o auxílio de líquido refrigerante (água/etilenoglicol), circulando pela camisa dupla ao redor da câmara do moinho. A eficiência do rompimento foi determinada pela dosagem de nitrogênio solúvel na suspensão inicial e no sobrenadante da suspensão de células rompidas, obtida por centrifugação, após passagem pelo moinho. O rendimento de células rompidas foi acima de 95%.

### 2.3 — Métodos analíticos

Composição centesimal - Proteína total, umidade e cinzas foram determinadas de acordo com os procedimentos da AOAC (2). Carboidratos totais, pelo método colorimétrico de DUBOIS *et al.* (8). Lipídios totais foram extraídos pelo procedimento de BLIGHT & DYER (5) e determinado gravimetricamente. Fibras solúveis e insolúveis foram quantificadas pelo método de ASP *et al.* (3).

**Ácido nucléico (RNA)** - Os ácidos nucléicos em levedura, que consistem, principalmente, de RNA, foram determinados pelo método de HEBERT *et al.* (17). O RNA foi extraído com ácido perclórico 0,5M à temperatura de 37°C, por 2 horas. Em seguida, foi hidrolisado com ácido perclórico 0,5M a 100°C, 15 minutos. Fez-se a quantificação da ribose pelo reagente orcinol que produz uma coloração esverdeada e absorve a 670 nm. As leituras foram comparadas com as da curva padrão feita com RNA purificado de levedura (Sigma).

**Elementos minerais** - As amostras foram inicialmente carbonizadas e deixadas na mufla a 450°C por vários dias, até ficarem totalmente brancas. Em seguida, dissolvidas em ácido nítrico a 5%. Alíquotas foram injetadas no espectrofotômetro de plasma de argônio (ICT 2000 BAIRD) versão simultânea. As condições de operação foram: gerador de rádio frequência, 40,68 mhz; nebulizador pneumático concêntrico; fluxo de entrada da amostra a ser nebulizada, 4 mL/min; fluxo de gás de refrigeração, 70 mL/min; posição da tocha vertical, 9,8 mm; potência aplicada, 100W.

A quantificação dos minerais foi realizada através de curva padrão construída a partir de uma solução (100µg/mL) do padrão analítico BAIRD (solução #2) em ácido nítrico a 5%.

**Aminoácidos** - Determinados em autoanalisador com coluna de troca catiônica e derivatização pós-coluna com ninidrina. As amostras foram previamente hidrolisadas com HCl 6N a 110°C por 22h, com exceção do triptofano, para o

qual a hidrólise foi feita com LiOH 4N por 24h, à mesma temperatura.

**Ácidos graxos** - A composição em ácidos graxos foi determinada por cromatografia gasosa dos ésteres metílicos dos ácidos graxos, obtidos de acordo com o método descrito por HARTMAN & LAGO (16). Foi utilizado um cromatógrafo VARIAM 3400/3300, com detector de ionização de chama (FID), coluna OV 275-15% Carbowax (1/8" x 2m). Os ácidos graxos foram identificados por comparação do tempo de retenção com os padrões (Sigma) e quantificados por cálculo automático de área pelo integrador Perkin-Elmer-100.

### 2.4 — Ensaios biológicos e cálculo dos índices de valor protéico

O valor protéico da biomassa de levedura foi determinado através do PER (quociente de eficiência protéica) e dos índices calculados pelo balanço de nitrogênio, a saber: digestibilidade aparente (Da); valor biológico aparente (VBa); utilização líquida aparente da proteína (NPUa).

O preparo das dietas e a execução dos testes foi, em linhas gerais, como descrito em SGARBIERI (30). Foram utilizados ratos machos com 21 dias da linhagem Wistar, livres de patógenos específicos (SPF), fornecidos pelo Centro de Animais de Laboratório da UNICAMP. Dietas foram preparadas com 10% de proteína proveniente de células de levedura íntegras ou rompidas mecanicamente, além da dieta controle com 10% de caseína. As dietas continham ainda 8% de lipídios, misturas vitamínicas e minerais, segundo AIN-93G-MX e AIN-93-VX (25), respectivamente, fibras e uma mistura de carboidratos (3:1 amido de milho e sacarose) para completar 100%. Os animais, grupos de oito ratos por ensaio, tiveram livre acesso à água e às dietas e as condições de temperatura e luminosidade foram de 21±2°C e 12 h de claro-escuro, respectivamente. A duração do experimento foi de quatro semanas (PER), sendo que na segunda semana foram coletadas fezes e urina para o balanço de nitrogênio e cálculo dos índices nutricionais.

### 2.5 — Análise estatística

Foi realizada pelo programa SANEST (Sistema de Análise Estatística), submetendo os resultados experimentais à análise de variância e ao teste de Tukey ao nível de 95% de confiabilidade (12).

## 3 — RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição centesimal da biomassa de levedura de cervejaria *Saccharomyces* sp., é mostrada na *Tabela 1*. Para o cálculo da proteína bruta (48,5%), utilizou-se o fator de conversão 5,8, calculado após a subtração do nitrogênio não-protéico correspondente ao RNA da biomassa. A composição se caracteriza pelos elevados teores de proteína, de cinzas, de RNA e de fibra solúvel. O teor de lipídios totais é baixo e o de carboidratos totais representa aproximadamente um terço da biomassa.

Para efeito de comparação, na mesma *Tabela 1* são apresentados os resultados de dois outros autores FAR-NUN & CLELAND (10) e GUZMÁN-JUAREZ (13). Os resul-

tados dos dois trabalhos se aproximam bastante dos encontrados no estudo aqui apresentado.

**TABELA 1.** Composição centesimal da biomassa integral de levedura de cervejaria (*Saccharomyces* sp.).

Componentes	<i>Saccharomyces</i> sp. <sup>a</sup>	Levedura cerveja <sup>b</sup>	Levedura <sup>c</sup>
Proteína	48,51	49,80	45-49
RNA	7,52	8,40	8-12
Lipídios	3,44	4,91	4-7
Cinzas	8,33	5,10	5-10
Carboidratos totais	32,86	-	26-27
Fibra solúvel	9,59	-	-
Fibra insolúvel	2,60	-	-

a) Fator de convenção do N para proteína = 5, 8; b) Farnum e Cleland (10); c) Guzmán-Juarez (13).

Na *Tabela 2* estão apresentados os dados da composição em aminoácidos da biomassa de levedura comparada com o padrão de referência da FAO/WHO/UNU (9). Pode-se notar que o perfil de aminoácidos essenciais das células de levedura supera em todos os aminoácidos as quantidades recomendadas pelas três organizações das Nações Unidas, exceto pelo triptofano, em que a quantidade por 100g de proteína é idêntica à do padrão de referência. Deve-se destacar que as concentrações elevadas de lisina (Lys) e de treonina (Thr) na biomassa de levedura, a torna um material excepcional para a complementação de cereais, uma vez que as proteínas dos cereais são comumente deficientes nestes dois aminoácidos e também em triptofano.

**TABELA 2.** Composição de aminoácidos (g de aminoácido/100g de proteína) da biomassa integral de levedura de cervejaria (*Saccharomyces* sp.).

Não essenciais	Essenciais		PR
	BI	PR	
Cys	0,34	Lys 7,13	5,8
Tyr	4,68	Leu 8,84	6,6
Glu	13,15	Ile 5,64	2,8
Asp	11,98	Thr 6,16	3,4
Ser	6,13	Try 1,10	1,1
Pro	4,45	Val 6,20	3,4
Ala	7,07	Met+Cys 2,84	2,5
Gly	4,93	Phe+Tyr 9,98	6,3
Arg	4,11	His 2,06	1,9
Phe	5,30	Met 2,50	

BI = biomassa integral; PR = Padrão de referência da FAO/WHO/UNU (9).

Apesar de nossos resultados não terem mostrado nenhuma deficiência em relação ao padrão da FAO, LYU-

TSKANOV *et al.* (23) encontrou para a *Saccharomyces cerevisiae* 211, um valor biológico de 71,4% e um escore químico para os aminoácidos sulfurados (metionina + cistina) de 63% e para o triptofano de 69%, em relação ao padrão de referência da FAO.

O perfil de ácidos graxos da fração lipídica da biomassa de *Saccharomyces* sp. é ilustrado na *Tabela 3*. Foram identificados 11 ácidos graxos (C8 - C18), entre os quais os ácidos palmítico (31,4%), oléico (10,7%), esteárico (9,2%), cáprico (6,1%), linoléico (4,4%) e palmitoléico (3,8%), portanto, ácidos graxos saturados e mono-insaturados. O teor de ácido linoléico (C18:3) foi baixo.

**TABELA 3.** Composição de ácidos graxos dos lipídios totais da biomassa integral de levedura de cervejaria (*Saccharomyces* sp.).

Ácidos graxos	Estrutura	Concentração (% do total)
Caprílico	C8:0	0,28
Cáprico	C10:0	6,13
Láurico	C12:0	1,29
Merístico	C14:0	0,88
Meristoléico	C14:0	0,44
Palmítico	C16:0	31,37
Palmitoléico	C16:1	3,78
Esteárico	C18:0	9,24
Oléico	C18:1	10,69
Linoléico	C18:2	4,42
Linolênico	C18:3	0,57

Segundo HALÁSZ & LÁSZTITY (14), o conteúdo de lipídios das leveduras varia de 7 a 15% e a composição dos ácidos graxos é caracterizada por um alto conteúdo de ácidos graxos insaturados, sendo que o fluxo de oxigênio durante o cultivo das células é o parâmetro que mais influencia a composição em ácidos graxos.

Os resultados reportados no presente trabalho estão em desacordo com as afirmações de HALÁSZ & LÁSZTITY (14), tanto sob o aspecto quantitativo como qualitativo. Na *Tabela 1*, o teor de lipídios totais é de 3,44% inferior à faixa de 7-15%, por outro lado, na *Tabela 3*, predominam ácidos graxos saturados e mono-insaturados e não os poli-insaturados. É provável que esta diferença reflita as diferentes condições fisiológicas e nutricionais das diferentes biomassa. No caso dos resultados reportados neste trabalho, tem-se uma biomassa mais exaurida, depois de várias reciclagens no processo fermentativo. No exemplo da literatura, trata-se de biomassa cultivada em condições ideais de concentração de nutrientes no meio e de suprimento de oxigênio.

A composição mineral da biomassa é apresentada na *Tabela 4*. Considerando o elevado teor de ácido nucléico da levedura (*Tabela 1*), o que limita sua ingestão diária a um máximo de 20-30g de levedura seca por dia, a levedura não poderá contribuir com quantidades muito significativas de

macroelementos. Com relação aos microelementos, ela pode ser considerada uma fonte excelente de selênio, cromo, níquel e lítio.

**TABELA 4.** Composição mineral (macro e microelementos) da biomassa integral de levedura de cervejaria (*Saccharomyces* sp.).

Macro elementos	mg/100g	Micro elementos	mg/100g
Fósforo	16,94	Selênio	24,21
Potássio	13,56	Manganês	15,91
Sódio	8,95	Chumbo	9,69
Magnésio	2,10	Cromo	9,63
Alumínio	0,95	Níquel	7,22
Cálcio	0,73	Lítio	5,89
Ferro	0,10	Zinco	4,56
		Cobre	4,54
		Vanádio	0,63
		Cádmio	0,29

A levedura de cerveja é considerada excelente fonte de selênio e cromo, sendo sua ingestão recomendada como suplemento alimentar para prevenir estados carenciais desses elementos, caracterizados por queda de cabelos, retardo de crescimento, deficiência reprodutiva, cardiopatias, necrose e degeneração do fígado e do pâncreas (22).

Os índices indicativos do valor protéico da biomassa de levedura *Saccharomyces* sp., com as células íntegras (CLI) ou células com paredes celulares rompidas mecanicamente (CLR), são apresentados na Tabela 5. Pode-se notar que para o PER não houve diferença entre as duas preparações de levedura, que apresentaram índices entre 65-70% da caseína. O balanço de nitrogênio (BN) também não diferiu entre CLI e CLR, sendo que para CLI foi estatisticamente inferior ao da caseína, enquanto que CLR e caseína não diferiram estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ). A digestibilidade da proteína em CLR foi superior à da CLI, e ambas preparações foram inferiores à caseína. O valor biológico não diferiu estatisticamente entre as duas preparações de levedura, tendo sido ambos inferiores à caseína. O índice de utilização líquida aparente da proteína (NPUa) foi superior para a biomassa com células rompidas, porém, tanto CLI como CLR foram inferiores à caseína. Em relação à caseína, a utilização biológica da CLR foi da ordem de 88%.

O quociente de eficiência protéica (PER) de células de levedura pode ser elevado de 2,02 para 2,5 com a adição de 0,5% de metionina à proteína da dieta (7).

De acordo com a "Food and Drug Administration" (FDA), somente células secas das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Candida utilis* podem ser utilizadas como aditivos em alimentos para consumo humano, por já terem sido submetidas aos testes de toxicidade e de segurança exigidos por este órgão (6).

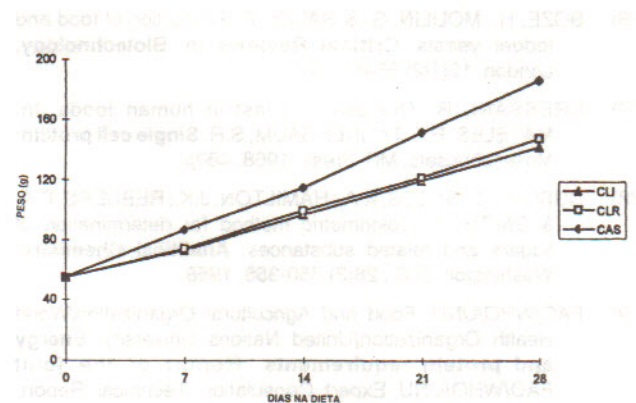
As curvas de crescimento (ganho de peso) para ratos em dietas contendo 10% de caseína e de proteína de células de levedura, íntegras ou rompidas, aparecem na Figura 1.

Pode-se notar que os grupos de ratos em dietas contendo biomassa de levedura, células íntegras ou rompidas, cresceram na mesma velocidade e proporção e representou 80% do crescimento dos ratos em dieta de caseína.

**TABELA 5.** Balanço nitrogenado (BN), digestibilidade aparente (Da), valor biológico aparente (VBa), utilização líquida aparente da proteína (NPUa) e quociente de eficiência protéica (PER) de ratos alimentados com dietas à base de levedura.

Índices	CLI	CLR	CAS	Coefficiente de variação
BN (g)	1,69b	1,94ab	2,08a	9,55
Da (%)	82,66c	85,37b	92,13a	0,86
VBa (%)	85,29b	88,02b	92,47a	2,86
NPUa (%)	69,34c	75,10b	85,18a	3,33
PER	2,14b	2,16b	3,27a	5,89

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de significância. CLI = células de levedura íntegras; CLR = células de levedura rompidas e CAS = caseína.



**FIGURA 1.** Curvas do ganho de peso de ratos alimentados com dietas contendo 10% de proteína proveniente de células de levedura rompidas (CLR), células de levedura íntegras (CLI) e caseína (CAS).

#### 4 — CONCLUSÕES

- Conclui-se que a biomassa da levedura de cervejaria *Saccharomyces* sp. constitui uma fonte abundante de proteína de bom valor nutritivo (70 a 80%) em relação à caseína, levando-se em consideração os vários índices de avaliação biológica.
- Por apresentar elevado conteúdo de lisina, essa fonte protéica apresenta interesse especial como complemento para proteínas de cereais.
- O rompimento mecânico da parede celular melhorou significativamente a digestibilidade e a utilização líquida da proteína da biomassa.
- A levedura revelou-se ainda uma excelente fonte de alguns microelementos como selênio, cromo, níquel e lítio.
- Constitui ainda boa fonte de fibra alimentar, particularmente de fibras solúveis.

O conteúdo de lipídios revelou-se baixo, com predominância de ácidos graxos saturados e mono-insaturados com 10, 16 e 18 átomos de carbono.

## 5 — REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) ANFAR. Associação Brasileira dos Fabricantes de Rações. **Matérias-primas para alimentação animal**. 4ª ed., São Paulo, 1985, 65p.
- (2) AOAC. Association of Official Agricultural Chemists. **Official Methods of Analysis**. HORWITZ, W., Washington, D.C., 1975.
- (3) ASP, N.G.; JOHANSSON, C.G.; HALLMER, H. & SILYSTRON, M. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, 31(3):476-482, 1983.
- (4) BARNETT, J.A. The taxonomy of the genus *Saccharomyces* Meyer ex Fress: a short review for non-taxonomists. **Yeast**, Chichester, 8(1):1-23, 1992.
- (5) BLIGHT, E.G. & DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, 37(7):911-917, 1959.
- (6) BOZE, H.; MOULIN, G. & GALZY, P. Production of food and fodder yeasts. **Critical Reviews in Biotechnology**, London, 12(1/2):65-83, 1992.
- (7) BRESSANI, R. The use of yeast in human foods. In: MATELES, R.I.; TANNENBAUM, S.R. **Single cell protein**, Massachusetts, MIT Press, 1968, 480p.
- (8) DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBBERS, P.A. & SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, D.C., 28(3):350-356, 1958.
- (9) FAO/WHO/UNU. Food and Agricultural Organization/World Health Organization/United Nations University. **Energy and protein requirements**. Report of the joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation Technical Report. Series nº 724 FAO/WHO and the United Nations University, Geneva, 1985.
- (10) FARNUN, C. & CLELAND, J. Extration of protein from mechanically disrupted freeze-dried brewer's yeast. **Journal of Milk and Food Technology**, Orange, 38(2):219-222, 1975.
- (11) GIEC, A. & SKUPIN, J. Single cell protein as food and feed. **Die Nahrung**. Berlin, 32(3):219-229, 1988.
- (12) GOMES, P.F. **Curso de estatística experimental**. 10ª ed., São Paulo, Nobel, 1982, 430p.
- (13) GUZMÁN-JUAREZ, M. In: HUDSON, B.J.F. **Development in Food Proteins 2**. London, Applied Science Publishers, 1983, 339p.
- (14) HALÁSZ, A. & LÁSZTITY, R. **Use of yeast biomass in food production**. Boca Raton, CRC Press, 1991, 312p.
- (15) HALÁSZ, A.; BARÁTH, A. & MÁTRI, B. Yeast as a human protein source. **Acta Alimentaria**. Budapest, 17(4):374-375, 1988.
- (16) HARTMAN, L. & LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, London, 22(3):475-476, 1973.
- (17) HERBERT, D.; PHIPPS, P.J. & STRANGE, R.E. Chemical analysis of microbial cells. In: NORIS, J.R. & RIBBORS, P.W. **Methods of microbiology**. London, Academic Press, 1971, 695p. v.5B.
- (18) HENDENSKOG, G. & MOGREN, H. Some methods for processing of single cell protein. **Biotechnology & Bioengineering**. New York, 15(1):129-142, 1973.
- (19) KIHLEBERG, R. The microbe as a source of food. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, 26(4):426-465, 1972.
- (20) KOIVURINTA, J.; JUNILA, M. & KOIVISTOINIEN, P. Functional properties of brewer's grain, brewer's yeast and distiller's stillage in food systems. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, London 13(3):118-122, 1980.
- (21) KOIVURINTA, J.; KURKELA, R. & KOIVISTOINIEN, P. Functional properties of brewer's grain, brewer's distiller's stillage in food systems. Part 2. Application to sausages and meat balls. **Fleishwirtschaft**. Frankfurt, 61(7):1024-1026, 1981.
- (22) LEVANDER, O.A. Selenium, chromium and manganese. In: SHIIS, M.D. & VERMON, R.Y. **Modern Nutrition in Health and Disease**, 7ª ed., Philadelphia, Lea & Febger, 1989, p.263-267.
- (23) LYUTSKANOV, N.; KOLEVA, L.; STATEVA, L.; VENKOV, P. & HADJIOLOV, A. Protein extraction for nutritional purposes from fragile strains of *Saccharomyces cerevisiae*: reduction of the nucleic acid content and applicability of the protein extracts. **Journal of Basic Microbiology**, 30(00):523-528, 1990.
- (24) PENY, C. Rising prospects for yeast products. **Food Ingredients & Processing International**, Hertfordshire, (10):18,20-21, 1991.
- (25) REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.. FAHEY Jr. G.C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad hoc writing Committee on the reformulation of AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, Bethesda, 123(10):1939-1951, 1193.
- (26) RHEINBOLD, P.H.H.; LEIMER, K.H. & ROSSEL, G.G.V. Sangria e processo de secagem de levedura. Processo CTC. **Boletim Técnico da Copersucar**, São Paulo, 39(1):8-12, 1987.
- (27) ROSHKOVA, Z.; DUKIANDJIEV, S.; PAVLOV, K. Biochemical characterization of yeast protein isolates. **Die Nahrung**, Berlin, 30(1):3-4, 1986.
- (28) SANEST. Programa Estatístico Desenvolvido pelo CIAGRE. Centro de Informática na Agricultura da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz. USP - Piracicaba, SP.
- (29) SATERLEE, L.D. Proteins for use in foods. **Food Technology**, Chicago, 35(6):53-70, 1981.
- (30) SGARBIERI, V.C. **Alimentação e Nutrição - Fator de Saúde e Desenvolvimento**. São Paulo, Almed, 1987, 387p.
- (31) SNYDER, H.E. & KNOW, T.W. **Soybean utilization**. New York, Van Nostrand Reinold, 1987, 345p.

## AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa foi financiada, em parte, pela FAPESP, (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) à qual os autores agradecem.