EFEITOS DOS TRATAMENTOS FÍSICO, FÍSICO-QUÍMICO E
TEMPO DE ARMAZENAMENTO SOBRE A COMPOSIÇÃO
DA FRAÇÃO NITROGENADA DA LEVEDURA LÍQUIDA
(*Saccharomyces* spp.) DE DESTILARIAS DE ÁLCOOL

ANTÔNIO FERNANDO BERGAMASCHINE

Zootecnista

Orientador: Prof. Dr. WILSON ROBERTO S. MATTOS

Dissertação apresentada à Escola
Superior de Agricultura "Luiz de
Queiroz", da Universidade de São
Paulo, para obtenção do título de
Mestre em Agronomia - Área de
Concentração: Nutrição Animal e
Pastagens.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Abril - 1986

Ao meu pai

À minha mãe
(in memoriam)

Aos meus irmãos

cunhados , sobrinhos

e sogros,

DEDICO.

À minha esposa Irene
e aos meus filhos Alex
e Aline,

OFEREÇO.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Wilson Roberto Soares Mattos ,
pela orientação e apoio.

Aos Professores Dr. Raul Dantas d'Arce e Dr.
Paulo Fernando Machado, pela cooperação.

Ao Professor Dr. Luiz Eduardo Guitierrez, pelas
valiosas sugestões.

À Técnica de Laboratório Ana Maria Zani de Moura
e ao Auxiliar de Laboratório Sr. José Seghesi, pela amizade.

Ao Departamento de Zootecnia da ESALQ - USP, SP,
por ter permitido a realização deste trabalho.

À Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mes
quita Filho" , por ter possibilitado a realização do curso de
Pós-Graduação.

Ao PICD/CAPES, pela concessão da bolsa de estu
do.

À Companhia Agrícola Santa Bárbara (Usina Santa
Bárbara - S.P.), pela doação da levedura.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	xii
RESUMO	xiv
SUMMARY.....	xvi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Considerações gerais	3
2.2. Tipos de levedura e sua obtenção	4
2.3. Valor nutritivo das leveduras	5
2.3.1. Composição química.....	5
2.3.2. Uso na alimentação.....	11
2.3.3. Efeito tóxico.....	14
2.4. Processos de conservação das leveduras.....	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1. Composição da levedura utilizada	24
4.2. Teores de matéria seca	28
4.3. Teores de nitrogênio total	34
4.4. Teores de nitrogênio solúvel	40
4.5. Teores de nitrogênio amoniacal	48
4.6. Teores de nitrogênio não protéico	52
4.7. Valores do pH.....	58
5. CONCLUSÕES	65

Página

6. LITERATURA CITADA	66
7. APÊNDICES	67

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Composição química de vários tipos de <u>leveduras</u> (%).....	6
2	Composição em aminoácidos de várias <u>leveduras</u> em comparação com o farelo de soja.....	9
3	Composição bromatológica da <u>levedura</u> (<u>médias</u> de duas determinações).....	25
4	Composição em aminoácidos da <u>levedura</u>	26
5	Composição em minerais da <u>levedura</u>	27
6	Teores da matéria seca (105°C) da <u>levedura</u> líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a) em dias (<u>médias</u> de 3 repetições).....	29
7	Análise de variância para os teores da <u>matéria</u> seca da <u>levedura</u> líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de <u>armazenamento</u> (T_a).....	30
8	Equações de regressão, pontos de máximo, <u>mínimo</u> e de inflexão e, coeficientes de <u>determinação</u> (R^2), dos teores da matéria <u>seca</u>	

Tabela

Página

	ca (Y) da levedura líquida, em função dos tempos de armazenamento (x), submetida a diferentes tratamentos (T).....	32
9	Teores de nitrogênio total (NT) da levedu <u>ra</u> líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a) em dias (média de 3 repetições).....	35
10	Análise de variância para os teores de ni <u>tro</u> gênio total da levedura líquida em fun <u>ção</u> dos tratamentos (T) e dos tempos de ar mazenamento (T_a).....	36
11	Equações de regressão, pontos de máximo, m <u>í</u> nimo e de inflexão e, coeficiente de deter <u>mi</u> nação (R^2), dos teores de nitrogênio to <u>tal</u> (Y) da levedura líquida, em função dos tempos de armazenamento (x), submetida a diferentes tratamentos (T).....	37
12	Teores de nitrogênio solúvel (NS) da leve <u>du</u> ra líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a) em dias (média de 3 repetições).....	41

Tabela

Página

13	Análise de variância para os teores de <u>ni</u> <u>trogênio</u> solúvel da levedura líquida em fun ção dos tratamentos (T) e dos tempos de <u>ar</u> mazenamento (T_a).....	42
14	Equações de regressão, pontos de máximo, <u>mí</u> <u>nimo</u> e de inflexão e, coeficientes de deter minação (R^2), dos teores de <u>nitrogênio</u> <u>so</u> <u>lúvel</u> (Y) da levedura líquida, em função dos tempos de armazenamento (x), submetida a diferentes tratamentos (T).....	43
15	Teores de <u>nitrogênio</u> amoniacal (NA) da <u>le</u> <u>vedura</u> líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a) em dias (média de 3 repetições).....	47
16	Análise de variância para os teores de <u>ni</u> <u>trogênio</u> amoniacal da levedura líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a).....	50
17	Equações de regressão, pontos de máximo, <u>mí</u> <u>nimo</u> e de inflexão e, coeficientes de deter minação (R^2), dos teores de <u>nitrogênio</u> <u>amo</u> <u>niacal</u> (Y) da levedura líquida, em função	

Tabela

Página

	dos tempos de armazenamento (x), submetida a diferentes tratamentos (T).....	51
18	Teores de nitrogênio não protéico (NNP) da levedura líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamentos (T _a) em dias (média de 3 repetições).....	53
19	Análise de variância para os teores de <u>ni</u> trogênio não protéico da levedura líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T _a).....	54
20	Equações de regressão, pontos de máximo, <u>mí</u> nimo e de inflexão e, coeficiente de deter <u>mi</u> nação (R^2), dos teores de nitrogênio não protéico (Y) da levedura líquida, em função dos tempos de armazenamento (x), submetida a diferentes tratamentos (T).....	56
21	Valores de pH da levedura líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armaze <u>na</u> mento (T _a) em dias (média de 3 repeti <u>ç</u> ões).....	59

Tabela

Página

22	Análise de variância para os valores de pH da levedura líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a).....	60
23	Equações de regressão, pontos de máximo, mínimo e de inflexão e, coeficientes de determinação (R^2), dos valores de pH da levedura líquida (Y), em função dos tempos de armazenamento (x), submetida a diferentes tratamentos (T).....	61

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Esquema do processo de produção de açúcar e álcool e da recuperação da levedura	21
2	Curvas, equações de regressão e coeficientes de determinação (R^2) dos teores de matéria seca da levedura (Y) em função do tempo de armazenamento (x), submetida a diferentes tratamentos (T).....	33
3	Curvas, equação de regressão e coeficientes de determinação (R^2) dos teores de <u>n</u> itrogênio total da levedura (x) , submetida a diferentes tratamentos (T).....	39
4	Curva, equação de regressão e coeficientes de determinação (R^2) dos teores de <u>n</u> itrogênio solúvel da levedura (Y) em função do tempo de armazenamento (x), submetida a diferentes tratamentos (T).....	44
5	Curvas, equações de regressão e coeficientes de determinação (R^2) dos teores de <u>n</u> itrogênio amoniacal da levedura (Y) em fun	

Figura

Página

	ção do tempo de armazenamento (x), submetida a diferentes tratamentos (T).....	45
6	Curvas, equação de regressão e coeficientes de determinação (R^2) dos teores de nitrogênio não protéico da levedura (Y) em função dos tempos de armazenamento (x), submetida a diferentes tratamentos (T).....	57
7	Curvas, equações de regressão e coeficientes de determinação (R^2) dos valores de pH da levedura (Y) em função dos tempos de armazenamento (x), submetida a diferentes tratamentos (T).....	62

EFEITOS DOS TRATAMENTOS FÍSICO, FÍSICO-QUÍMICO E
TEMPO DE ARMAZENAMENTO SOBRE A COMPOSIÇÃO DA FRAÇÃO
NITROGENADA DA LEVEDURA LÍQUIDA (*Saccharomyces spp*)
DE DESTILARIAS DE ÁLCOOL

AUTOR: ANTÔNIO FERNANDO BERGAMASCHINE

ORIENTADOR: PROF. DR. WILSON ROBERTO S. MATTOS

RESUMO

A pesquisa foi desenvolvida no Departamento de Zootecnia da ESALQ - USP, em Piracicaba - SP.

O objetivo foi estudar a influência dos tratamentos físico (vapor), físico-químico (vapor e amônia) e tempo de armazenamento na composição da fração nitrogenada da levedura líquida de destilaria de álcool.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com parcelas subdivididas, considerando como parcelas os tratamentos, e os tempos de armazenamento, como subparcelas. Os tratamentos foram: T_1 - Testemunha; T_2 - vapor + anaerobiose; T_3 - vapor + 0,3% de amônia; T_4 - vapor + 0,6% de amônia; T_5 - vapor. Os tempos de armazenamento que coincidiram com as épocas de a-

mostragem foram 0, 7, 14, 21 e 28 dias. Analisaram-se os seguintes parâmetros: matéria seca, nitrogênio total, nitrogênio solúvel, nitrogênio amoniacal e nitrogênio não protéico.

Concluiu-se que:

O teor de matéria seca da levedura líquida teve um ligeiro acréscimo; durante os 28 dias de armazenamento, exceto o tratamento dois.

No tratamento testemunha, os teores de nitrogênio solúvel, nitrogênio amoniacal e nitrogênio não protéico, elevaram-se com o passar do tempo, indicando degradação protéica da levedura.

A condição de anaerobiose não influenciou a conservação da levedura.

A adição de 0,3% e 0,6% de amônia aos tratamentos três e quatro, respectivamente, proporcionou elevações nos seus teores de nitrogênio total, solúvel, amoniacal e não protéico, que persistiram durante todo o tempo experimental.

A aplicação exclusiva de vapor foi suficiente para conservar a levedura líquida por 30 dias de armazenamento, embora a aplicação conjunta de vapor e amônia e, vapor e anaerobiose também tenham sido eficientes.

THE EFFECTS OF PHYSICAL, PHYSICO-CHEMICAL AND TIME
OF STORAGE TREATMENT IN THE COMPOSITION OF THE NITROGENOUS
FRACTION OF LIQUID YEAST (*Saccharomyces spp*)
OF ALCOHOL DESTILLERIS

Author: ANTÔNIO FERNANDO BERGAMASCHINE

Adviser: DR. WILSON ROBERTO S. MATTOS

SUMMARY

This reserch was conduced in the Departamento de Zootecnia da ESALQ - USP, Piracicaba - SP.

The purpose of this research was to study the influence of physical (vapor) and physico chemical (vapor and ammonia) treatment and the time of storage in the composition of nitrogenized fraction of liquid yeast of alcohol destillery.

The experimental design was in randomized blocks disposed in split-plots, considering the treatment as plots and the storage time as subplot. The treatments were: T_1 - Control; T_2 - vapor + anaerobiose; T_3 - vapor + 0,3% of ammonia; T_4 - vapor + 0,6% of ammonia; T_5 - vapor; the storage

times coincident with sampling period were 0, 7, 14, 21 and 28 days. The following parameters were analyzed: dry matter, total nitrogen, soluble nitrogen, ammoniacal nitrogen and non-protein nitrogen.

Conclusions:

The dry matter of liquid yeast content was lightly increased during the 28 days of storage except in the treatment 2.

The contents of soluble, ammoniacal and non-protein nitrogen increased with the overtime in control, showing protein degradation of yeast.

The anaerobic condition did not influence the yeast conservation.

The addition of 0,3% e 0,6% of ammonia in treatment 3 and treatment 4, respectively, increased the contents of soluble, ammoniacal and non-protein nitrogen. The increase persisted for the whole experimental period.

The application of vapor only was sufficient to conserve the liquid yeast by 30 days of storage, although the simultaneous application of vapor + ammonia and vapor + anaerobiosis were also efficient.

1. INTRODUÇÃO

Além de promover a fermentação alcoólica, a levedura é uma fonte rica de proteínas e vitaminas do complexo B, constituindo-se em uma fonte alternativa de proteínas frente à elevação dos custos de produção de suplementos protéicos convencionais e ao aumento da demanda desse nutriente indispensável à dieta animal e humana.

No Brasil, o cultivo de microorganismos destinados à alimentação animal ou humana, ainda não se estabeleceu industrialmente, embora se possa observar a presença da levedura seca nas prateleiras dos supermercados e como ingrediente em rações para animais.

Nas dornas de fermentação das destilarias de álcool, quando termina a fermentação alcoólica, as células de levedura são separadas do vinho fermentado através de centrifugação para servirem de inóculo em novo mosto, ou para serem enviadas junta

tamente com o vinho às colunas de destilação. Desse material pode-se separar uma certa quantidade para a produção de proteína unicelular.

De acordo com as metas estabelecidas pelo governo para produção de álcool no Brasil, nos anos de 1983/84 a 1986/87 (NOGUEIRA, 1982), considerando-se a obtenção de 2 Kg de levedura seca por 100 litros de álcool DESMONTS (1968) e o teor de 18% de matéria seca da levedura, pode-se estimar que a produção anual de levedura líquida nestes anos atingirá 900.000 toneladas, em média, não considerando a levedura restante no final da safra nem aquela proveniente de fundos de dornas.

A desidratação ou a secagem da levedura facilita seu armazenamento e sua mistura com outros ingredientes da ração. Porém, é um processo que envolve gasto de energia e investimentos em equipamentos de secagem que podem elevar o custo do produto e conseqüentemente diminuir a viabilidade econômica de seu uso. No entanto, o armazenamento da levedura "in natura" (células vivas) pode ocasionar mudanças na sua fração protéica e deterioração, comprometendo seu valor alimentício e tornando-a imprópria como alimento.

O presente trabalho teve como objetivo estudar a influência dos tratamentos físico (vapor), físico-químico (vapor e amônia) e tempo de armazenamento na composição da fração nitrogenada da levedura líquida de destilarias de álcool.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os fungos, leveduras, bactérias e algumas vezes as algas, são correntemente qualificadas como fontes de proteínas novas ou não convencionais. Isto não é totalmente verdade, posto que todas elas são muito antigas e vem sendo utilizadas na alimentação humana desde centenas ou até milhares de anos (SHACKLADY e WALKER, 1973). Em ampla revisão sobre o assunto, LIMA (1966) observou que desde 1756 já se fazia uso dos sedimentos das dornas de fermentação alcoólica na alimentação animal.

2.2. TIPOS DE LEVEDURA E SUA OBTENÇÃO

Basicamente as destilarias de álcool podem produzir dois tipos de levedura (DESMONTS, 1966): As leveduras do gênero *Saccharomyces*, recuperadas dos vinhos da fermentação alcoólica, por centrifugação, denominadas de "levedura de recuperação" e as leveduras do gênero *Candida* ou *Torula* cultiváveis sobre vinhaça, em instalações anexas às destilarias de álcool ou sobre melaço em usinas de açúcar, sendo denominadas de "leveduras de cultura". São também cultivadas em resíduos da extração da celulose (LIMA, 1966), em soro de leite e resíduos de destilarias de petróleo (DESMONTS, 1968), e diversos outros substratos, tais como o bagaço de laranja, resíduos do processamento de frutas, raízes e melaços (VANANUVAT, 1977).

As leveduras de recuperação constituem um subproduto da fermentação alcoólica, enquanto que as leveduras de cultura são obtidas para fins específicos (DESMONTS, 1966). Segundo AMORIN e MATTOS (1982) a recuperação das leveduras no processo da fermentação alcoólica pode ser feita de duas maneiras: do fundo de dornas e através do desvio do leite de levedo, que é a levedura concentrada logo após a centrifugação do mosto. De acordo com esses mesmos autores, o material do fundo das dornas contém além de levedura, bagacilho, terra, areia, sais insolúveis, água e sais minerais. A composição deste

material depende da maneira como a matéria prima foi processada, isto é, se o caldo foi aquecido e clarificado, se o mosto é de melaço mais caldo, ou melaço mais água, ou outra combinação. O uso do melaço e caldos não clarificados pode produzir resíduos de dornas mais impuros. A produção de concentrados protéicos exigirá algumas práticas para melhorar a qualidade, tal como coar o material para depois concentrá-lo e desidratá-lo.

O material obtido através do desvio de uma parte das leveduras centrifugadas, é mais puro e concentrado, sendo mais apropriado para a alimentação animal.

Um outro tipo de levedura empregado na alimentação animal é a utilizada na fabricação de cerveja, que juntamente com a polpa seca de cervejaria, constituem os subprodutos mais importante dessa indústria (MIYADA, 1978).

2.3. VALOR NUTRITIVO DAS LEVEDURAS

2.3.1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA

As leveduras possuem alto teor de proteína, e quanto à composição em aminoácidos estão entre as melhores fontes protéicas de origem vegetal, mas não tão boas como as proteínas de origem animal (ENSMINGER, 1970). A Tabela 1 apresenta vários tipos de leveduras e suas respectivas composições químicas.

O teor de proteína bruta ($N \times 6,25$) é bastante variável (30-60%), constituindo-se de cerca de 80% de aminoáci

Tabela 1 - Composição química aproximada de vários tipos de levedura (%).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Matéria seca	90,70	94,70	100,00	94,15	100,00	95,00	12,08	100,00	95,40
Proteína bruta (Nx6,25)	30,77	51,20	46,74	47,43	47,00-53,00	45,00	53,64	53,00	55,10
Extrato etéreo	1,10	2,0	1,61	1,00-4,84	2,00- 6,00	3,00	0,50	0,70	3,40
Fibra bruta	0,13	-	8,41	0,82	-	<1,00	1,16	4,80	0,10
Cinzas	9,81	7,30	7,87	9,07	5,00- 9,50	9,00	6,95	9,80	7,50
Extrativos não nitrogenados	48,89	-	35,37	-	-	38,00	37,75	31,70	29,30
Fósforo	0,75	-	-	1,92	-	1,53	-	2,06	2,20
Cálcio	1,48	-	-	0,85	-	0,15	-	0,29	0,10
Ácidos nucleicos	-	-	-	-	6,00-12,00	-	-	-	7,90

1- Levedura seca (*S. cerevisiae*) de destilaria de álcool de cana-de-açúcar (MIYADA, 1978).

2- Levedura seca (*S. cerevisiae*) cultivada em substrato de melaço de cana-de-açúcar (COZZOLINO, 1982).

3 - Levedura de cervejaria; (HSU, 1961).

4 - *Tórula* (HSU, 1961) .

5 - Células de levedura (KIHLEBERG, 1972).

6 - Levedura seca - *Tórula* (DESMONTS, 1968).

7 - Levedura líquida (BRAUDE, 1942).

8 - Lodo residual da fabricação de cerveja (STECKLEY *et al.*, 1979a).

9 - Levedura cultivada em hidrocarbonetos (TEGBE e ZIMMERMAN, 1977).

dos , 12% de ácidos nucleicos e 8% de amônia; cerca de 7% do nitrogênio total ocorre como aminoácidos livres, e em outros compostos, tais como glutathione, lecitina, ácido adenílico, vitaminas, enzimas e coenzimas em pequenas quantidades (PEPPLER, 1970).

As células de levedura possuem teor de proteína bruta comparável àqueles encontrados nos suplementos protéicos de origem animal. Todavia, KIHLEBERG (1972) salienta que na determinação da proteína bruta considera-se que todo nitrogênio celular se encontra na forma protéica, mas principalmente no caso dos microorganismos isto não ocorre, pois 20 a 30% do nitrogênio celular é não protéico, e encontra-se presente nos compostos como ácidos nucleicos, glucosamina, galactosamina , etc., sendo que nas leveduras o nitrogênio presente nas bases púricas e pirimídicas dos ácidos nucleicos, representam 10 a 15% do nitrogenio celular.

Quanto à composição em aminoácidos, as leveduras são ricas em lisina e treonina (DESMONTS, 1968), porém pobres em metionina (DESMONTS, 1968; HSU, 1961).

Trabalhando com biomassa protéica de *Saccharomyces cerevisiae* cultivadas em melaço, COZZOLINO (1982) determinou os aminoácidos limitantes deste concentrado protéico e observou, em relação às proteínas do ovo, uma "limitação primária" de sulfurados totais (metionina e cistina), seguida de triptofano e aromáticos totais (fenilalina e tirosina). Por outro lado , quando comparou a biomassa com a caseína, que é uma proteína

deficiente em aminoácidos sulfurados, observou uma "limitação primária" em aromáticos totais seguidos de triptofano e leucina.

A Tabela 2 mostra a composição em aminoácidos de varias leveduras, em comparação com o farelo de soja. Observa-se, de modo geral, que as leveduras em termos de qualidade protéica são semelhantes e até mesmo superiores ao farelo de soja.

Os carboidratos constituem 22% a 34% da matéria seca. Esta variação se deve à composição do meio de cultura e do nível de anaerobiose mantido neste meio. Para um teor de 25% de carboidratos, 94% destes foram recuperados sob quatro frações diferentes: 33% de trealose, que é um dissacarídeo não redutor formado pela ligação de duas moléculas de glicose ; 27% de glucanas que representam a celulose das leveduras e 21% de mananas que representam a goma das leveduras. As glucanas e mananas são polissacarídeos não redutores , presentes na parede celular das leveduras e formados por duas moléculas de glicose, e duas de manose respectivamente e, 12% de glicogênio, que é um polissacarídeo de reserva formado por moléculas de glicose e idêntico ao glicogênio de origem animal (PEPPLER,1970).

A fração lipídica é muito variável: 7% do pêso seco em *S. cerevisiae*, atingindo até 50% em *Rhodotórula gracilis* (ALMEIDA,1962). No entanto, MACHADO (1983) cita que de acordo com a maioria dos autores a fração extrato etéreo varia de 1% a 6% do peso seco. PEPPLER (1970) menciona que os triglicerídeos, lecitina e ergosterol são os maiores constituin

Tabela 2 - Porcentagens de proteína bruta e aminoácidos de vários tipos de leveduras em comparação com o farelo de soja.

Aminoácidos	1	2	3	4	5	6
	%					
PB	30,77	51,20	55,10	46,74	47,43	46,00
Lisina	1,87	4,65	3,60	7,10	-	2,98
Triptofano	-	0,53	0,80	1,20	0,66	0,84
Metionina	1,27	1,00	0,60	2,70	0,84	0,52
Treonina	1,57	2,45	1,90	5,50	2,58	1,99
Histidina	0,47	1,33	1,40	3,30	1,31	1,16
Fenilalanina	1,06	1,99	2,30	4,50	2,41	2,04
Arginina	0,98	2,66	1,80	3,10	3,61	3,06
Leucina	2,02	3,33	3,80	7,30	4,14	3,73
Isoleucina	1,37	2,37	2,80	6,00	3,75	2,67
Valina	1,97	3,11	3,10	5,30	2,89	2,50
Serina	0,94	2,43	-	-	-	-
Prolina	0,90	1,87	-	-	-	-
Glicina	1,45	2,46	-	-	0,22	-
Alamina	1,87	3,17	-	-	-	-
Cistina	-	-	-	1,10	0,68	0,60
Ácido aspártico	3,06	5,40	-	-	-	-
Ácido glutâmico	4,08	10,14	-	-	6,90	-
Tirosina	0,87	1,62	-	3,80	-	0,87

- 1 - Levedura seca (*S. cerevisiae*) de destilaria de álcool (MYIADA, 1978).
- 2 - *S. cerevisiae* cultivada em melaço (COZZOLINO, 1982)
- 3 - Levedura cultivada em hidrocarbonetos (TEGBE e ZIMMERMAN, 1977).
- 4 - Levedura de cervejaria (HSU, 1961).
- 5 - Levedura *Torula* (HSU, 1961).
- 6 - Farelo de soja (CAMPOS, 1981).

tes dos lipídios das leveduras, predominando os triglicerídeos dos ácidos oléico e palmítico.

A cinza representa de 6 a 8% do peso seco, sendo a maior parte constituída de potássio e fósforo, encontrando-se em menores quantidades cálcio, magnésio, sódio, enxofre, zinco, ferro, cobre, chumbo, manganês e iodo (PEPPLER, 1970).

Quanto às vitaminas, as leveduras são praticamente desprovidas das vitaminas A e C (DESMONTS, 1968 e JACQUOT, 1943); contém vários tipos de esteróis, sendo que o ergosterol representa 0,56% do peso seco e pode ser transformado em vitamina D₂ através da irradiação ultravioleta (HSU, 1961). São ricas em vitaminas do complexo B (ENSMINGER, 1970 e HSU, 1961) principalmente niacina e riboflavina (HSU, 1961), mas são pobres em cianocobalamina ou vitamina B₁₂ (COZZOLINO, 1982 e VANANUVAT, 1977).

As leveduras possuem, também fatores ainda não identificados (ENSMINGER, 1977).

Segundo DESMONTS (1968), a composição das leveduras pode variar com a espécie, o substrato em que são cultivadas, o método de fermentação, o momento e as condições de secagem e também com a idade das células; sendo o substrato em que se desenvolvem o fator de maior influência (HSU, 1961).

2.3.2.2. USO NA ALIMENTAÇÃO

O emprego das leveduras na alimentação se justifica como fonte de substância protéica, sais minerais e sobretudo por sua riqueza em vitaminas do complexo B (LIMA, 1966) . Porém, pode-se afirmar que em nossas condições, a proteína é o nutriente de maior interesse nas leveduras.

Sabe-se que os aminoácidos presentes na fração protéica de um alimento, fornece valiosas informações sobre o valor nutricional potencial deste alimento, uma vez que a qualidade da proteína é função do seu balanceamento adequado em aminoácidos, principalmente em aminoácidos essenciais. Porém, KIHLEBERG (1972) salienta que a composição em aminoácidos nem sempre reflete a disponibilidade fisiológica dos mesmos; por isso, os ensaios biológicos são também importantes, pois complementam a análise química na avaliação do valor nutritivo.

A maioria dos ensaios biológicos visando determinar o valor nutritivo das leveduras foi feita com ratos. Assim, analisando-se os trabalhos de SHACKLADY e WALKER (1973) e SALES *et alii* (1977), observou-se que o valor biológico das leveduras sem suplementação com metionina foi de 57%, valor este, inferior ao do farelo de soja (68%). Todavia a suplementação com metionina resultou numa elevação deste índice para 90%, chegando inclusive a ultrapassar o valor biológico da farinha de peixe (80%). Este fato vem comprovar a deficiência das leveduras em aminoácidos sulfurados. Verificou-se também que a digestibili

dade verdadeira do nitrogênio das fontes protéicas estudadas foi igual ou maior a 80%, sendo que a levedura chegou a ser superior a 90%.

COZZOLINO (1982), alimentando ratos com rações cuja fonte protéica era biomassa de *S. cerevisiae* ou caseína, obteve respectivamente os seguintes índices : digestibilidade aparente do nitrogênio 80% e 90% e, valor biológico 79% e 84%. Observa-se que a levedura embora inferior, está bem próxima da caseína, a qual é considerada uma proteína de alta qualidade.

Os trabalhos experimentais com o objetivo de verificar a viabilidade do fornecimento de levedura líquida para ruminantes são escassos. A maioria visa o fornecimento de pequenas quantidades, geralmente sob a forma seca.

GRIEVE (1979), com o objetivo de determinar a aceitabilidade da levedura líquida de cervejaria, por novilhos em crescimento, forneceu a mesma de três maneiras diferentes : a) livre escolha (separada da ração basal); b) pulverizada sobre a ração basal, em quantidade suficiente para suprir as exigências de proteína, segundo NRC, c) misturada na ração basal na mesma quantidade de b. Observou-se que a ingestão de materia seca total foi maior em "c" do que em "b" sendo que em "a" houve alta ingestão de leveduras (8,4 Kg/cab/dia) e conseqüente redução na ingestão de ração basal. Os ganhos de peso médio foram de 0,89 , 0,93 e 1,05 Kg/cab/dia , para os tratamentos a, b e c respectivamente.

Ainda GRIEVE (1979), para avaliar a levedura líquida de cervejaria como suplemento protéico, para novilhas em crescimento, substituiu o farelo de soja pela levedura em dietas com 13% de proteína bruta e não encontrou diferença na ingestão de matéria seca e no ganho de peso.

BRAUDE (1942) verificou que o fornecimento de levedura líquida para vacas em lactação, na quantidade de 11 a 17 Kg/cab/dia, como fonte de proteína, elevou a produção de leite e o teor de gordura, em relação aos animais controle que receberam sementes de colza. Ao fornecerem levedura líquida para vacas em lactação. PETRAITIS e BARANAUSKAS (1971) também observaram aumentos na produção, no teor de gordura e na proteína do leite, porém estes aumentos não foram significativos. Em outros trabalhos (STECKLEY *et alii*, 1979b; STYCZNSKI, 1966, TOMLINSON *et alii*, 1977), o emprego da levedura líquida não teve efeito sobre a produção e teor de gordura do leite.

A inclusão de levedura na dieta parece afetar a digestibilidade dos nutrientes. Assim STECKLEY *et alii* (1979b) e MACHADO (1983) observaram, nas dietas com levedura, um aumento na digestibilidade aparente da matéria seca, energia bruta, proteína bruta e também da fibra (STECKLEY *et alii*, 1979b), enquanto que BEESON e PERRY (1952) e LEGENDRE *et alii* (1957) não observaram diferenças estatísticas nas digestibilidades dos nutrientes.

Quanto à palatabilidade, GRIEVE (1979) classificou a levedura como altamente palatável, já que obteve consumo

de 8,4 Kg/cab/dia . Também STREETER *et alii* (1980) observaram aumentos na ingestão de minerais e no ganho de peso, em bovinos, quando a levedura era adicionada aos blocos de minerais.

Observa-se, pelo exposto, que embora os resultados sejam um pouco discordantes, a levedura pode substituir as fontes protéicas de origem vegetal nas dietas dos ruminantes.

2.3.3. EFEITO TÓXICO DA LEVEDURA

Para que um alimento seja introduzido na alimentação humana e animal, é necessário que se conheça, além de seu valor nutricional, a sua inocuidade.

No caso das leveduras, além da biomassa, deve-se estar atento também aos substratos em que se desenvolvem principalmente os hidrocarbonatos; os quais podem deixar resíduos nas células, tornando-as portanto, impróprias para consumo humano (BUNKER; 1968).

Trabalhando com biomassa de *Saccharomyces cerevisiae*, cultivada em melaço, COZZOLINO (1982) alimentou sucessivas gerações de ratos e não observou problemas de ordem toxicológica.

PEIXOTO e MATTOS (1972), utilizando marrequinhos de um dia, substituíram 0, 1, 2, 4 e 8% da ração comercial por lodo residual das dornas de fermentação alcoólica, e não constatarem sintomas de intoxicação e alterações macroscópicas nos órgãos internos (coração,

pulmões, fígado, intestinos e baço), quatro semanas após aplicação dos tratamentos.

2.4. PROCESSOS DE CONSERVAÇÃO DAS LEVEDURAS

A literatura é muito escassa com referência à tecnologia de conservação da levedura líquida, destinada à alimentação animal.

Sabe-se que o manejo de um alimento sob a forma seca, como por exemplo: transporte, armazenamento, mistura com outros ingredientes, assim como o seu fornecimento para os animais, é menos trabalhoso do que o manejo de um alimento líquido. Todavia, a secagem envolve uso de energia e investimento com equipamentos, o que poderá elevar o custo do produto.

Caso a implantação das microdestilarias fosse concretizada pelo governo, o fator transporte tornar-se-ia menos importante, devido à provável distribuição das microdestilarias a distâncias mais próximas dos usuários da levedura.

Com o objetivo de conservar a levedura úmida para a alimentação animal NAMORY (1975), realizou um ensaio com uma suspensão de células de leveduras, utilizando seis tratamentos: ácido clorídrico, acético, láctico e propiônico, metabissulfito de potássio e formaldeído a 30%, à base de 1; 4; 4; 6; 2 e 2g/litro de levedura, em cada tratamento. No final de oito dias, verificou que o ácido clorídrico e o formaldeído foram

os agentes mais eficazes na conservação, havendo redução do número de células e ausência de odores fétidos. Para prolongar o armazenamento por 15 dias ou mais, foi necessário aumentar as doses dos conservantes utilizados, e observou que o ácido propiônico (10g/l) foi o menos eficaz e o ácido clorídrico (1g/l) foi o mais eficaz.

Em outro experimento, NAMORY (1975) misturou ácido clorídrico (1g/l) com 2g/litro de cada um dos outros produtos (ácido acético, propiônico, butírico, metabisulfito de potássio e formol), formando cinco tratamentos. No final de dois meses de armazenamento, observou uma diminuição pronunciada do número de células vivas, sem o exalamento de odores fétidos e sem o desenvolvimento de fungos. A mistura de ácido clorídrico com formol mostrou-se a mais eficaz.

Trabalhando com levedura de cerveja, e usando como agentes conservantes o ácido clorídrico ou sulfúrico, ou uma mistura de ambos, RAFF (1967) baixou o pH para 2,5 - 3,5 e observou no final de nove semanas de armazenamento, uma diminuição na degradação das proteínas e inibição do crescimento bacteriano.

Um outro método de conservação de leveduras estudado por NAMORY (1975) foi o da ensilagem, ou seja, amostras do creme de leveduras previamente aquecidas a 75°C durante 5 minutos e depois resfriados, foram semeadas com uma cepa de *Lactobacillus plantarum* à base de 3×10^2 germes/ml. Em seguida as amostras foram tratadas com diferentes agentes químicos (ácido clorídrico, acético, láctico ou formol), ou semeadas com bac

térias de contaminação (*Bacillus cereus* e *Clostridium sporogenes*). Ao final de 15 dias observou que a levedura não contaminada havia se conservado bem, apresentando cheiro agradável , além da presença de pelo menos 10^6 bactérias por mililitro. Em presença de ácido clorídrico (1g/l), de ácido acético (2g/l) e ácido lático (2g/l), a multiplicação de *L. plantarum* não foi afetada, apesar do pH 3,0; 3,0 e 3,2 respectivamente. Na presença de formol (1g/l) não encontrou bactérias recuperáveis. Nas amostras contaminadas por *B. cereus* e *C. sporogenes* a ação do *L. plantarum* foi benéfica, não ocorrendo odores desagradáveis.

STECKLEY *et alii* (1979a) estudaram o efeito da temperatura (4,4; 21,0 e 30,0°C) e do tempo de armazenamento (0; 7, 14, 21, 28, e 36 dias) sobre a composição nitrogenada do lodo ou borra da levedura de cervejaria. Os autores observaram que os conteúdos de matéria seca e proteína verdadeira decresceram linearmente aos 35 dias de armazenagem a 4,4°C , enquanto que para as temperaturas mais elevadas houve um decréscimo rápido para matéria seca e proteína verdadeira até os 7 e 14 dias respectivamente, havendo a partir destes dias uma estabilidade em ambos os parâmetros.

A proteína bruta e amônia variaram inversamente com a matéria seca. A solubilidade do nitrogênio permaneceu constante a 4,4°C , enquanto para temperaturas mais altas aumentou linearmente até o 14º dia, depois também estabilizou . Observaram também que a redução do número de células vivas foi rápida à temperaturas mais altas e lenta a 4,4°C .

Em outro experimento STECKLY *et alii* (1979a) estudaram o efeito de uma mistura de ácido acético e propionico (AP) a 1% vol/vol e uma mistura de AP com ácido fórmico e formaldeído (APFF) também a 1% vol/vol e, do tempo de armazenamento (0, 14, 28 e 42 dias) sobre a borra de levedura. Observaram uma menor redução do teor de matéria seca, pela presença dos aditivos, sendo a mistura APFF a mais efetiva. A proteína bruta teve um rápido aumento até os 14 dias e depois permaneceu constante. A proteína verdadeira decresceu bruscamente até o 14º dia, a partir daí a queda foi menos intensa, para todos os tratamentos, e a solubilidade do nitrogênio teve comportamento inverso. O teor de nitrogênio amoniacal foi baixo, mas aumentou linearmente através do tempo para o tratamento APFF e quadraticamente para o controle e AP.

Para que as leveduras possam ser empregadas de modo seguro na alimentação, alguns autores (JACQUOT , 1943 ; JARDIM , 1976; NAMORY,(1975) recomendam que as mesmas devam ser tratadas, com o objetivo de se obter a lise das células, a fim de serem evitadas perturbações digestivas decorrentes de fermentações anormais no aparelho digestivo. DESMONTS (1968) também recomenda a morte e secagem das leveduras, pois leveduras vivas, quando introduzidas no aparelho digestivo, tem a tendência de absorver as vitaminas do bolo alimentar, comportando-se como parasitas, podendo provocar verdadeiras avitaminoses, apesar do teor vitamínico que possuem. Entretanto LEGENDRE (1957) e GRIEVE (1979) não observaram efeitos colaterais ao fornecerem

leveduras vivas para ruminantes.

Sob a temperatura de 71°C por 7 minutos ou 75°C por 1 minuto NAMORY (1975) conseguiu desativar as leveduras. Segundo MARTELLI (1962) as temperaturas de esterilização para as leveduras são: calor seco, 110 a 115°C por 1,5 horas e 115 a 120°C por 1,0 hora, e, calor úmido, de 60 a 70°C por 15 minutos e 100°C por 20 minutos para as formas celular e esporos respectivamente.

3. MATERIAL E METODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ) Piracicaba , Estado de São Paulo.

A levedura utilizada foi obtida na Usina Santa Bárbara em Santa Bárbara D'Oeste, Estado de São Paulo. As leveduras de recuperação, do gênero *Saccharomyces*, foram obtidas pelo desvio de uma parte do leite de leveduras recuperado por centrifugação, e que se destinava às dornas de fermentação. O esquema da Figura 1 ilustra resumidamente o processo de produção de açúcar e álcool bem como a obtenção das leveduras.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso em parcelas subdivididas , sendo que as parcelas representavam os tratamentos e as subparcelas as épocas de amostragens.

Figura 1 - Esquema do processo de produção de açúcar e álcool e da recuperação da levedura (Fonte: AMORIM e MATTOS, 1982).

Os tratamentos foram:

T₁ - Testemunha

T₂ - Vapor e anaerobiose

T₃ - Vapor + 0,3% de amônia

T₄ - Vapor + 0,6% de amônia

T₅ - Vapor.

Para a formação dos tratamentos foram utilizados baldes plásticos, com capacidade para oito litros, exceto o tratamento dois para o qual usou-se galão com tampa, sendo que a quantidade de levedura usada foi de 5 litros por tratamento.

Após aplicação de 10 minutos de vapor aguardou-se o resfriamento do material e então injetou-se CO₂ para completar o tratamento dois e vedou-se hermeticamente; para completar os tratamentos três e quatro, adicionou-se respectivamente 60 ml e 120 ml de hidróxido de amônia (P.A. com 25% NH₃). Este procedimento foi realizado por três semanas consecutivas, constituindo-se, portanto, as três repetições usadas no experimento.

As amostragens que coincidiram com os tempos de armazenamento foram realizadas nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 após aplicação dos tratamentos. As amostras foram embaladas em vidros e armazenadas em Freezer a -20°C.

Para avaliar os efeitos dos tratamentos e dos tempos de armazenamento sobre as leveduras, foram feitas as seguintes determinações: matéria seca a 105°C, nitrogênio total

(NT); nitrogênio solúvel (NS), nitrogênio não protéico (NNP) e nitrogênio amoniacal (NA), segundo os métodos descritos por CROOKER *et alii* (1978) BUTOLO (1979) e BAILEY (1967) respectivamente , além das medidas do pH.

A determinação do NS constou dos seguintes pas sos: Tomou-se uma quantidade de amostra contendo 50 mg de ni trogênio e adicionou-se 200ml de uma solução de NaCl a 0,87% (8,8545 g/litro de água destilada), pré-aquecida a 40°C e com pH ajustado para 6,5 com ácido ortofosfórico 85%. Esta mistura contida em erlenmeyer foi incubada a 40°C sob agitação constan te por uma hora. Em seguida filtrou-se em papel Whatman nº 4 e numa aliquota de 50 ml do filtrado determinou-se o NS pelo mé todo de Kjeldhal e expresso como uma porcentagem do NT.

Para determinação do NNP, foi tomada uma amos tra contendo aproximadamente 5 g de matéria seca ($\pm$ 30 ml) e adicionou-se 50 ml de água destilada e agitou-se durante 10 mi nutos. Após 30 minutos de repouso adicionou-se 50 ml de uma so lução de ácido tricloroacético (TCA) a 10% e deixou-se em re frigerador por 3 horas. Em seguida filtrou-se em papel de fil tro faixa branca e em 10 ml do filtrado foi determinado o NNP pelo método de Kjeldhal e expresso como porcentagem do NT.

O NA foi determinado através da destilação dire ta de 10 ml da amostra, usando-se 15 ml de NaOH a 50% e foi ex presso como uma porcentagem do NT.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 COMPOSIÇÃO DA LEVEDURA UTILIZADA

As Tabelas 3, 4 e 5 apresentam os resultados das análises químicas efetuadas na levedura utilizada neste estudo.

Confrontando-se os dados da Tabela 3 com os dados encontrados na literatura (Tabela 1), observa-se que, apesar do teor protéico elevado da levedura, resíduo da produção de álcool, este valor está abaixo dos encontrados em outros tipos de levedura; os teores de extrato etéreo e de fibra bruta são próximos àqueles encontrados na literatura. Os teores de cinza e extrativo não nitrogenados são mais elevados na levedura em questão. Essas diferenças podem ser devidas à contaminação do meio de cultura e ao tipo de substrato em que se desenvolveu a levedura usada neste experimento, assim como a possíveis variações nas próprias análises.

Quanto à composição em aminoácidos, apresentada

Tabela 3 - Composição bromatológica porcentual da levedura (média de duas determinações).

Parâmetros	Matéria Original	Matéria Seca (100%)
	%	
- Matéria Seca	16,64	100,00
- Nitrogênio Total	0,97	5,83
- Extrato Etéreo	0,20	2,80
- Fibra Bruta	0,47	1,18
- Cinza	2,04	12,24
- Extrativo não nitrogenado	7,87	43,31

Tabela 4 - Composição da levedura em aminoácidos.

Aminoácidos	Quantidade
Essenciais	g/100g de Proteína
Lisina	4,97
Histidina	2,00
Arginina	3,69
Treonina	4,22
Valina	4,76
Metionina	3,57
Leucina	5,44
Isoleucina	3,49
Fenilalanina	3,49
Subtotal *	35,63
Não essenciais	-
Alanina	4,87
Glicina	3,65
Prolina	3,39
Serina	4,24
Asparagina	8,30
Glutamina	10,69
Tirosina	1,50
Subtotal	36,64
Total	72,94

Tabela 5 - Composição da levedura em minerais.

Minerais	%
Nitrogênio	4,42
Fósforo	1,07
Potássio	2,33
Cálcio	0,78
Magnésio	0,29
Enxofre	0,48
	<u>ppm</u>
Ferro	3.477,00
Cobre	39,30
Manganês	102,00
Zinco	699,50
Boro	<5,00
Molibdênio	-
Sódio	148,50
Alumínio	6.590,00
Cobalto	-
Cloro	-

na Tabela 4, observa-se uma ligeira superioridade desta levedura sobre outras encontradas na literatura. Todavia, há uma variação em função do tipo de levedura e do substrato em que se desenvolveu.

Com relação aos minerais (Tabela 5), os teores de ferro, manganês, zinco e alumínio, principalmente, são muito superiores àqueles encontrados por MACHADO (1983), ou seja, ferro 518 ppm, manganês 38 ppm, zinco 95 ppm e alumínio 497 ppm. Os altos teores desses elementos na levedura estudada podem ser devido a alguma ferrugem ocorrida nas dornas de fermentação ou à contaminação em outros equipamentos por onde passa a levedura durante o processo de fabricação do álcool.

4.2 TEORES DE MATÉRIA SECA

Na Tabela 6 estão apresentados os dados sobre os teores de matéria seca da levedura (105°C), referente aos diferentes tratamentos e tempos de armazenamento.

A análise de variância apresentada na Tabela 7 mostra diferenças significativas ($P < 0,01$) para o tempo de armazenamento, bem como para a interação "tratamento x tempos de armazenamento". O desdobramento dos graus de liberdade tempos de armazenamento dentro de tratamento mostra diferenças significativas ($p < 0,01$) para todos os tratamentos, exceto para o tratamento 2.

Tabela 6 - Teores de matéria seca (105°C) da levedura líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a) em dias (Médias de 3 repetições).

T_a	T	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	Médias T_a
0		18,34 a	16,67 a	17,10 a	17,44 a	17,31 a	17,25
7		15,95 a	17,09 a	17,78 a	18,15 a	17,35 a	17,25
14		16,65 a	16,95 a	18,23 a	18,52 a	17,80 a	17,63
21		17,70 a	17,12 a	19,29 a	19,19 a	18,20 a	18,30
28		18,93 ab	16,88 b	20,02 a	19,10 a	18,96 ab	18,78
MÉDIAS							
	Tr	17,50	16,94	18,48	18,48	17,92	--

DMS: T = 2,04; T_a = 0,61; T dentro de T_a = 2,21

Médias seguidas por letras iguais numa mesma linha, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Tabela 7 - Análise de variância para os teores da matéria seca da levedura líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a).

Fontes de variação	G.L.	QM
Bloco	2	4,75 ^{NS}
Tratamento (T)	4	6,56 ^{NS}
Resíduo (A)	8	2,61
Parcela	14	
Tempo de armazenamento (T_a)	4	6,36 ^{**}
Interação T x T_a	16	1,34 ^{**}
T_a dentro de T_1	4	4,54 ^{**}
T_a dentro de T_2	4	0,09 ^{NS}
T_a dentro de T_3	4	4,12 ^{**}
T_a dentro de T_4	4	1,56 ^{**}
T_a dentro de T_5	4	1,40 ^{**}
T dentro de T_0	4	1,13 ^{NS}
T dentro de T_7	4	2,19 ^{NS}
T dentro de T_{14}	4	1,96 ^{NS}
T dentro de T_{21}	4	2,65 [*]
T dentro de T_{28}	4	3,98 ^{**}
Resíduo (B)	40	0,35
Total	74	

IV Caso SATTERTHWAITTE : GL T dentro de T_a = 18

QMR T dentro de T_a = 0,80

C.V. : Resíduo A = 9,05%, Resíduo B = 3,31%

^{**} Significativo ao nível de 1% de probabilidade

^{*} Significativo ao nível de 5% de probabilidade

^{NS} Não significativo.

As equações de regressão, juntamente com os respectivos pontos de máximo, pontos de mínimo, pontos de inflexão e coeficientes de determinação, são apresentados na Tabela 8 e ilustrados na Figura 2. Verifica-se que o teor de matéria seca no tratamento testemunha (T_1) teve um comportamento cúbico ou seja, decresceu inicialmente atingindo um mínimo aos 9 dias e elevou-se novamente, atingindo um valor máximo aos 29 dias de armazenamento. Este resultado também foi observado por STECKLEY *et alii* (1979a) os quais atribuíram o decréscimo inicial à fermentação contínua do substrato remanescente e dos carboidratos das células endógenas, pela levedura viva. O aumento nos últimos dias de armazenamento foi atribuído à evaporação. Quanto ao tratamento dois, o teor de matéria seca manteve-se constante, já que as condições anaeróbicas do mesmo não permitiram variações no seu teor de umidade. Para os tratamentos três, quatro e cinco, o teor de matéria seca aumentou linearmente com o tempo de armazenamento, o que pode ser explicado pela ausência de fermentação e pela perda de água do material.

O desdobramento dos graus de liberdade dos tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento é apresentado na Tabela 7. Observa-se que para os três primeiros tempos de armazenamento (0, 7 e 14 dias) os teores de matéria seca foram estatisticamente iguais nos diferentes tratamentos. Para o tempo de 21 dias houve diferenças ($p < 0,05$) entre os tratamentos, embora tal fato não tenha sido comprovado quando se apli

Tabela 8 - Equações de regressão, pontos de máximo, mínimo e de inflexão e, coeficientes de determinação (R^2), dos teores de matéria seca (Y) da levedura líquida, em função dos tempos de armazenamento (x), submetida a diferentes tratamentos (T).

Tr	Equações	Pontos de máximo		Pontos de mínimo		Pontos de inflexão		R^2
		x	y	x	y	x	y	
$T_1 = Y_1 = 18,3005 - 0,5755x + 0,0417x^2 - 0,0007x^3$ **		29,15	18,92	9,04	15,96	19,10	17,44	98,19
$T_2 = Y_2 = 16,94$		-	-	-	-	-	-	-
$T_3 = Y_3 = 17,0146 + 0,1052x$ **		-	-	-	-	-	-	98,54
$T_4 = Y_4 = 17,6106 + 0,0623x$ **		-	-	-	-	-	-	91,39
$T_5 = Y_5 = 17,0973 + 0,0593x$ **		-	-	-	-	-	-	91,85

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

$$T_1 = Y_1 = 18,3005 - 0,5755x + 0,0417x^2 - 0,0007x^3 \quad R^2 = 98,19$$

$$T_2 = Y_2 = 16,94$$

$$T_3 = Y_3 = 17,0146 + 0,1052x \quad R^2 = 98,54$$

$$T_4 = Y_4 = 17,6106 + 0,0623x \quad R^2 = 91,39$$

$$T_5 = Y_5 = 17,0973 + 0,0593x \quad R^2 = 91,85$$

Figura 2 - Curvas, equações de regressão e coeficientes de determinação (R^2) dos teores de matéria seca da levedura (Y) em função do tempo de armazenamento (x), submetida a diferentes tratamentos (T).

cou o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 6) ; havendo portanto um efeito semelhante dos tratamentos. Aos 28 dias detectaram-se diferenças significativas ($P < 0,01$) entre os tratamentos, evidenciando os tratamentos três e quatro, os quais alcançaram as maiores médias e diferiram apenas do tratamento dois que apresentou a menor média; o que provavelmente se deve à sua condição de anaerobiose. As outras combinações não foram significativas.

4.3. TEORES DE NITROGÊNIO TOTAL

Os teores de nitrogênio total da levedura, submetida aos diferentes tratamentos e tempos de armazenamento, são apresentados na Tabela 9 .

A análise de variância dos dados (Tabela 10) mostra diferenças significativas ($P < 0,01$) para todos os tratamentos dentro dos tempos de armazenamento. Para tempos de armazenamento e interação "tratamento x tempos de armazenamento" não houve diferenças estatísticas, embora o desdobramento dos graus de liberdade, tempos dentro do tratamento quatro tenha mostrado diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade.

As equações de regressão, juntamente com os pontos de máximo, pontos de mínimo, ponto de inflexão e coeficiente de determinação , são apresentados na Tabela 11 e

Tabela 9 - Teores de nitrogênio total (NT) da levedura líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a) em dias (Média de três repetições).

T_a	T	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	Médias T_a
0		4,99 c	4,85 c	6,12 b	7,04 a	4,92 c	5,58
7		5,65 b	4,74 c	5,99 ab	6,41 a	4,73 c	5,50
14		5,27 bc	4,52 d	5,96 ab	6,49 a	4,80 cd	5,41
21		5,17 bc	4,63 c	5,74 ab	6,31 a	4,68 c	5,31
28		5,37 bc	4,58 d	5,94 ab	6,64 a	4,85 cd	5,47
MÉDIAS		5,29	4,66	5,95	6,58	4,80	-

DMS: $T = 0,5$; $T_a = 0,31$; T dentro de $T_a = 0,74$

Médias seguidas por letras iguais numa mesma linha, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Tabela 10 - Análise de variância para os teores de nitrogênio total da levedura líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a)

Fontes de variação	G.L.	QM
Bloco	2	0,22 ^{NS}
Tratamento (T)	4	9,73 ^{**}
Resíduo A)	8	0,15
Parcela	14	
Tempo de armazenamento (T_a)	4	0,16 ^{NS}
Interação T x T_a	16	0,09 ^{NS}
T_a dentro de T_1	4	0,18 ^{NS}
T_a dentro de T_2	4	0,05 ^{NS}
T_a dentro de T_3	4	0,05 ^{NS}
T_a dentro de T_4	4	0,24 [*]
T_a dentro de T_5	4	0,02 ^{NS}
T dentro de T_0	4	2,81 ^{**}
T dentro de T_7	4	1,69 ^{**}
T dentro de T_{14}	4	1,99 ^{**}
T dentro de T_{21}	4	1,54 ^{**}
T dentro de T_{28}	4	2,08 ^{**}
Resíduo (B)	40	0,08
Total	74	

IV Caso SATTERTHWAITE : GL T dentro de T_a = 42

QMR T dentro de T_a = 0,10

C.V. : Resíduo A = 7,26%; Resíduo B = 5,47%

^{**} Significativo ao nível de 1% de probabilidade

^{*} Significativo ao nível de 5% de probabilidade

^{NS} Não significativo.

Tabela 11 - Equações de regressão, pontos de máximo, mínimo e de inflexão e, coeficientes de determinação (R^2), dos teores de nitrogênio total (Y) de levedura líquida, em função dos tempos de armazenamento (x), submetida à diferentes tratamentos (T).

Tr	Equações	Pontos de máximo		Pontos de mínimo		Pontos de inflexão		R^2
		x	y	x	y	x	y	
$T_1 = Y_1 = 5,0088 + 0,1675x - 0,0145x^2 + 0,0003x^3$		7,74	5,58	22,19	5,09	14,97	5,33	89,76
$T_2 = Y_2 = 4,66$		-	-	-	-	-	-	-
$T_3 = Y_3 = 5,95$		-	-	-	-	-	-	-
$T_4 = Y_4 = 7,00 - 0,0808x + 0,0024x^2$ *		-	-	16,68	6,32	-	-	85,26
$T_5 = Y_5 = 4,80$		-	-	-	-	-	-	-

** Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

ilustrados na Figura 3, na qual observa-se que os teores de nitrogênio total do tratamento testemunha (T_1) e do tratamento quatro seguiram as funções cúbica e quadrática, respectivamente. O teor de nitrogênio do tratamento testemunha comportou-se de modo inverso ao teor de matéria seca. Este fato já era esperado, pois o nitrogênio foi expresso em base de matéria seca estando em acordo com as observações de STECKLEY *et alii* (1979a). O efeito quadrático do tratamento quatro possivelmente se deve à perda de nitrogênio amoniacal por volatilização, nos sete primeiros dias do ensaio, tendo em vista o forte odor amoniacal observado nestes dias e também à maior concentração do material, no final do armazenamento, devido à perda de umidade.

Quanto aos tratamentos dois, três e cinco não houve efeito do tempo de armazenamento sobre o teor de nitrogênio total.

O desdobramento dos graus de liberdade dos tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento (Tabela 10) mostra que os tratamentos afetaram o teor de nitrogênio total da levedura em todos os tempos de armazenamento. Aplicando-se o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade às médias dos tratamentos em cada tempo de armazenamento verifica-se (Tabela 9) que em todos os tempos de armazenamento o tratamento quatro apresentou o maior teor de nitrogênio total, porém diferiu do tratamento três apenas no tempo zero de armazenamento; este fato se deve à adição de hidróxido de amônio aos referidos tratamentos. De um modo geral, em todos os tempos de armazenamento,

$$T_1 = Y_1 = 5,0088 + 0,1675x - 0,0145x^2 + 0,0003x^3 \quad R^2 = 89,76$$

$$T_2 = Y_2 = 4,66 \quad -$$

$$T_3 = Y_3 = 5,95 \quad -$$

$$T_4 = Y_4 = 7,0000 - 0,0808x + 0,0024x^2 \quad R^2 = 85,26$$

$$T_5 = Y_5 = 4,80 \quad -$$

Figura 3 - Curvas, equações de regressão e coeficientes de de terminação (R^2) dos teores de nitrogênio total da levedura (Y) em função do tempo de armazenamento (x), submetida a diferentes tratamentos (T).

os tratamentos dois e cinco apresentaram os menores teores de nitrogênio e não diferiram entre si; o tratamento um apresentou valores intermediários entre os demais tratamentos.

4.4 TEORES DE NITROGÊNIO SOLÚVEL

Na Tabela 12 estão apresentados os teores de nitrogênio solúvel da levedura, em função dos tratamentos e do tempo de armazenamento.

A análise de variância dos dados (Tabela 13), mostra diferenças significativas ($P < 0,01$) para tratamentos, tempos de armazenamento, interação "tratamento x tempo de armazenamento" bem como no desdobramento dos graus de liberdade de tempos dentro do tratamento um (testemunha).

A solubilidade do nitrogênio no tratamento testemunha, segue uma função cúbica, a qual é apresentada na Tabela 14, juntamente com seus pontos de máximo, mínimo e inflexão e coeficiente de determinação conforme o ilustrado na Figura 4. Este acréscimo em solubilidade, pode ser devido à produção crescente de amônia (Figura 5). Resultados semelhantes foram observados por STECKLEY *et alii* (1979a) ao estudarem o efeito da temperatura ou de aditivos químicos sobre a composição nitrogenada do lodo residual da fabricação de cerveja, ao longo de um período de armazenamento superior a 30 dias. Observaram também que a mudança em solubilidade estava relacionada com

Tabela 12 - Teores de nitrogênio solúvel (NS) da levedura líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a) em dias (médias de 3 repetições).

T_a	T	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	Médias T_a
0		23,24 c	12,70 d	32,47 b	45,43 a	10,72 d	24,91
7		32,62 b	11,54 c	31,43 b	45,30 a	10,93 c	26,36
14		49,84 a	11,64 d	29,02 c	41,87 b	10,03 d	28,48
21		53,52 a	12,05 d	29,66 c	42,13 b	10,58 d	29,58
28		55,28 a	11,56 d	30,87 c	44,62 b	8,92 d	30,25
MÉDIAS							
T_a		42,90	11,89	30,69	43,87	10,23	-

DMS: T = 4,88; T_a = 2,31 ; T dentro de T_a = 6,21

Médias seguidas por letras iguais numa mesma linha, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Tabela 13 - Análise de variância para os teores de nitrogênio solúvel da levedura líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a).

Fontes de variação	G.L.	QM
Bloco	2	27,59 ^{NS}
Tratamento (T_a)	8	3959,96 ^{**}
Resíduo (A)	4	14,98
Parcela	14	
Tempo de armazenamento (T_a)	4	74,97 ^{**}
Interação T x T_a	16	136,79 ^{**}
T_a dentro de T_1	4	604,70 ^{**}
T_a dentro de T_2	4	0,73 ^{NS}
T_a dentro de T_3	4	5,69 ^{NS}
T_a dentro de T_4	4	9,06 ^{NS}
T_a dentro de T_5	4	1,96 ^{NS}
T dentro de T_0	4	623,70 ^{**}
T dentro de T_7	4	660,94 ^{**}
T dentro de T_{14}	4	944,79 ^{**}
T dentro de T_{21}	4	1049,26 ^{**}
T dentro de t_{28}	4	1228,43 ^{**}
Resíduo (B)	4	4,91
Total	74	

IV Caso SATTERTHWAITE : GL T dentro de T_a = 32

QMR T dentro de T_a = 6,92

C.V. : Resíduo A = 13,86% Resíduo B = 7,94%

^{**} Significativo ao nível de 1% de probabilidade

^{NS} Não significativo.

Tabela 14 - Equações de regressão, pontos de máximo, mínimo e de inflexão e, coeficientes de determinação (R^2), dos teores de nitrogênio solúvel (Y) da levedura líquida, em função dos tempos de armazenamento (x), submetida à diferentes tratamentos (T).

Tr	Equações	Pontos de máximo		Pontos de mínimo		Pontos de inflexão		R^2
		x	y	x	y	x	y	
$T_1 = Y_1 = 22,7748 + 1,3884x + 0,0577x^2 - 0,0002x^3$ *		24,25	56,54	-8,04	16,57	08,10	36,56	98,06
$T_2 = Y_2 = 11,89$		-	-	-	-	-	-	-
$T_3 = Y_3 = 30,69$		-	-	-	-	-	-	-
$T_4 = Y_4 = 43,87$		-	-	-	-	-	-	-
$T_5 = Y_5 = 10,23$		-	-	-	-	-	-	-

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

$$\begin{aligned}
 T_1 = Y_1 &= 22,7748 + 1,3884x + 0,0577x^2 - 0,0002x^3 \quad R^2 = 98,06 \\
 T_2 = Y_2 &= 11,89 \quad - \\
 T_3 = Y_3 &= 30,69 \quad - \\
 T_4 = Y_4 &= 43,87 \quad - \\
 T_5 = Y_5 &= 10,23 \quad -
 \end{aligned}$$

Figura 4 - Curvas, equações de regressão e coeficiente de determinação (R^2) dos teores de nitrogênio solúvel da levedura (Y) em função do tempo de armazenamento (x), submetida a diferentes tratamentos (T).

$T_1 = Y_1 = 9,2933 + 0,1833x$	$R^2 = 94,95$
$T_2 = Y_2 = 10,60$	-
$T_3 = Y_3 = 28,11$	-
$T_4 = Y_4 = 37,3823 - 0,4032x + 0,0104x^2$	$R^2 = 92,22$
$T_5 = Y_5 = 10,13$	-

Figura 5 - Curvas, equações de regressão e coeficientes de determinação (R^2) dos teores de nitrogênio amoniacal da levedura (Y) em função do tempo de armazenamento (x), submetida a diferentes tratamentos (T).

atividade proteolítica, diminuição da integridade celular e extravasamento de constituintes nitrogenados para fora da célula.

Considerando-se o tratamento testemunha, os teores de nitrogênio amoniacal encontrados neste trabalho (Tabela 15) superam em até 50% aqueles observados por STECKLEY *et alii* (1979a). Esta diferença provavelmente é devido ao tipo de material estudado e às condições experimentais. Todavia BECKER (1961) salienta que um teor de amônia acima do normal indica uma decomposição bacteriana da proteína.

A solubilidade do nitrogênio nos demais tratamentos não se modificou ao longo dos 28 dias de armazenamento (Tabela 13). Porém verifica-se que o tratamento com vapor reduziu a solubilidade do nitrogênio; isto pode ser observado comparando-se os valores médios atingidos pelos tratamentos dois e cinco com o testemunha, no tempo "zero" de armazenamento (Tabela 12).

Os valores mais altos observados para os tratamentos três e quatro são devidos à aplicação de hidróxido de amônio.

O desdobramento dos graus de liberdade dos tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento (Tabela 13) mostra efeito significativo dos tratamentos em todos os tempos de armazenamento.

Aplicando-se o teste Tukey às médias dos tratamentos em cada tempo de armazenamento (Tabela 12), verifica-se que no tempo "zero" o tratamento quatro apresentou o maior te

Tabela 15 - Teores de nitrogênio amoniacal (NA) da levedura líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a) em dias (médias de de 3 repetições).

T_a	T	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	Médias T_a
0		9,47 c	9,72 c	29,19 b	37,63 a	9,32 c	19,07
7		9,93 c	10,28 c	27,31 b	34,38 a	10,66 c	18,51
14		12,50 c	11,01 c	28,60 b	34,31 a	10,29 c	19,34
21		13,08 c	11,00 c	28,17 b	33,49 a	10,07 c	19,16
28		14,31 c	10,99 cd	27,28 b	34,19 a	10,34 d	19,42
MÉDIAS							
	T	11,86	10,60	28,11	34,80	10,13	-

DMS : T = 3,40; T_a = 1,26; T dentro de T_a = 4,02

Médias seguidas por letras iguais numa mesma linha, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste Tukey.

or de nitrogênio solúvel, superando a todos os outros tratamentos; o tratamento três, embora tenha apresentado valores inferiores ao quatro, também superou os demais tratamentos. Este fato deve-se à adição de diferentes doses de hidróxido de amônio aos tratamentos três e quatro. O tratamento um (testemunha) também diferiu dos demais tratamentos, sendo inferior ao três e quatro e superior ao dois e cinco, os quais apresentaram os menores teores de nitrogênio solúvel e não diferiram entre si. Observa-se portanto que o tratamento com vapor reduziu em aproximadamente 50% a solubilidade do nitrogênio da levedura. Aos sete dias de armazenamento os tratamentos três e quatro comportaram-se de maneira idêntica ao tempo "zero", porém no tratamento um a solubilidade aumentou e não diferiu do tratamento três ($P < 0,05$). Os tratamentos dois e cinco foram iguais entre si, porém inferiores aos demais. Para os tempos de 14, 21 e 28 dias de armazenamento, o tratamento um apresentou os maiores teores de nitrogênio solúvel e diferiu ($p < 0,05$) de todos os outros tratamentos, indicando uma provável degradação das proteínas da levedura. Os tratamentos três e quatro, embora diferentes entre si, superaram os tratamentos dois e cinco, que foram estatisticamente iguais.

4.5 TEORES DE NITROGÊNIO AMONIAL

Os teores de nitrogênio amoniacal da levedura

líquida, em função dos tratamentos e dos tempos de armazenamento, são apresentados na Tabela 15.

A análise de variância (Tabela 16) mostra diferenças significativas ($P < 0,01$) para tratamentos, interação "tratamento x tempos de armazenamento" e para o desdobramento dos graus de liberdade, tempos de armazenamento dentro do tratamento um e quatro.

As equações de regressão e coeficientes de determinação são apresentados na Tabela 17 e ilustrados na Figura 5. Verifica-se que o teor de nitrogênio amoniacal aumentou linearmente para o tratamento testemunha; isto comprova a hipótese anteriormente proposta, na qual se considerava que o aumento na solubilidade do nitrogênio era devido à produção crescente de nitrogênio amoniacal pela levedura, devido à degradação bacteriana de suas proteínas, e esta é de acordo com as observações de STECKLEY *et alii* (1979a). Para o tratamento quatro a variação do teor de nitrogênio amoniacal segue uma função quadrática, sendo possível as mesmas explicações dadas para o teor de nitrogênio total, o qual apresentou comportamento idêntico. Os tratamentos três e quatro apresentaram os maiores teores de nitrogênio amoniacal, devido a adição do hidróxido de amônio. Os tratamentos dois e cinco apresentaram os teores mais baixos, ou seja, aqueles que fazem parte da composição da levedura (Tabela 15).

O desdobramento dos graus de liberdade dos tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento (Tabela 16), re

Tabela 16 - Análise de variância para os teores de nitrogênio amoniacal da levedura líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a).

Fontes de variação	G.L.	QM
Bloco	2	8,44
Tratamento (T)	4	1997,97**
Resíduo (A)	8	7,29
Parcela	14	
Tempo de armazenamento (T_a)	4	1,92 ^{NS}
Interação T x T_a	16	5,70**
T_a dentro de T_1	4	13,00**
T_a dentro de T_2	4	1,02 ^{NS}
T_a dentro de T_3	4	2,06 ^{NS}
T_a dentro de T_4	4	7,89**
T_a dentro de T_5	4	0,75 ^{NS}
T dentro de T_0	4	541,34**
T dentro de T_7	4	399,31**
T dentro de T_{14}	4	380,86**
T dentro de T_{21}	4	354,59**
T dentro de T_{28}	4	344,67**
Resíduo (B)	40	1,70
Total	74	

IV Caso SATTERTHWAITE : GL T dentro de T_a = 26

QMR T dentro de T_a = 2,82

C.V. : Resíduo A = 14,13% ; Resíduo B = 6,84%

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade

^{NS} Não significativo.

Tabela 17 - Equações de regressão, pontos de máximo, mínimo e de inflexão e , coeficientes de determinação (R^2), dos teores de nitrogênio amoniacal (Y) da le vedura líquida, em função dos tempos de armazenamento (x), submetida à diferentes tratamentos (T).

Tr	Equações	Pontos de máximo		Pontos de mínimo		Pontos de inflexão		R^2
		x	y	x	y	x	y	
$T_1 = Y_1 = 9,2933 + 0,1833x^{**}$		-	-	-	-	-	-	94,95
$T_2 = Y_2 = 10,60$		-	-	-	-	-	-	-
$T_3 = Y_3 = 28,11$		-	-	-	-	-	-	-
$T_4 = Y_4 = 37,3823 - 0,4032x + 0,0104x^2^*$		-	-	19,32	33,48	-	-	92,22
$T_5 = Y_5 = 10,13$		-	-	-	-	-	-	-

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade

vela significância ($P < 0,01$) para os tratamentos em todos os tempos de armazenamento. Através do Teste de Tukey aplicado aos dados da Tabela 15, verifica-se que em todos os tempos de armazenamento o tratamento quatro apresentou os maiores teores de nitrogênio amoniacal, diferindo dos demais tratamentos ($P < 0,05$). O tratamento três foi superior ($P < 0,05$) aos tratamentos um, dois e cinco. Os maiores teores de nitrogênio amoniacal, encontrados para os tratamentos três e quatro, devem-sea adição do hidróxido de amônio aos mesmos. Os tratamentos um, dois e cinco a-presentaram os menores teores de nitrogênio amoniacal em todos os tempos de armazenamento e não diferiram entre si. Embora aos 28 dias o tratamento cinco apresentou o menor teor e o tratamento um o maior teor de nitrogênio amoniacal.

4.6. TEORES DE NITROGÊNIO NÃO PROTÉICO

Na Tabela 18 são apresentados os teores de nitrogênio não protéico da levedura submetida a diversos tratamentos e vários tempos de armazenamentos.

A análise de variância (Tabela 19) mostra diferenças significativas ($P < 0,01$), para tratamentos, tempos de armazenamento, bem como para sua interação. O desdobramento dos graus de liberdade, tempos dentro de tratamento, mostra significância ($P < 0,01$) apenas para o tratamento um (testemunha).

As equações de regressão, juntamente com os res

Tabela 18 - Teores de nitrogênio não protéico (NNP) da levedura líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a) em dias (médias de 3 repetições).

T_a	T	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	Médias T_a
0		25,08 c	14,94 d	33,11 b	45,84 a	13,30 d	26,46
7		34,30 b	1519 c	33,59 b	43,68 a	13,95 c	28,14
14		53,17 a	14,82 d	32,52 c	44,78 b	12,54 d	31,57
21		58,00 a	14,01 d	34,34 c	46,14 b	12,31 d	32,96
28		60,05 a	14,86 d	34,74 c	47,19 b	12,67 d	33,90
MÉDIAS							
	T	46,12	14,76	33,66	45,52	12,95	-

DMS: T = 4,24; T_a = 1,76; T dentro de T_a = 5,10

Médias seguidas por letras iguais numa mesma linha, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Tabela 19 - Análise de variância para os teores de nitrogênio não protéico da levedura líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a).

Fontes de variação	G.L.	QM
Bloco	2	56,80*
Tratamento (T)	4	3881,47**
Resíduo (A)	8	11,31
Parcela	14	
Tempo de armazenamento (T_a)	4	152,31**
Interação T x T_a	16	145,71**
T_a dentro de T_1	4	725,40**
T_a dentro de T_2	4	0,59 ^{NS}
T_a dentro de T_3	4	2,42 ^{NS}
T_a dentro de T_4	4	5,41 ^{NS}
T_a dentro de T_5	4	1,33 ^{NS}
T dentro de T_0	4	545,60**
T dentro de T_7	4	508,47**
T dentro de T_{14}	4	963,41**
T dentro de T_{21}	4	1191,16**
T dentro de T_{28}	4	1255,65**
Resíduo (B)	40	2,87
Total	74	

IV Caso SATTERTHWAITTE : GL T dentro de T_a = 27

QMR T dentro de T_a = 4,56

C.V. : Resíduo A = 10,99% ; Resíduo B = 5,54%

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade

^{NS} Não significativo:

pectivos pontos de máximo, de mínimo e de inflexão e, coeficiente de determinação, são apresentados na Tabela 20 e ilustrados na Figura 6.

O teor de nitrogênio não protéico do tratamento testemunha segue uma função do terceiro grau (Figura 6). Este resultado provavelmente se deve à produção de compostos nitrogenados não protéicos, tais como, amônia, peptídeos e aminoácidos livres, devido à decomposição bacteriana das proteínas da levedura. Os resultados de STECKLEY *et alii* (1979a), embora expressos em proteína verdadeira, são semelhantes aos observados neste trabalho. Os tratamentos dois e cinco apresentaram os menores teores de nitrogênio não protéico, sendo inclusive inferiores aos 25% citados por ROSE e HARRISSON (1970) e KIHLEBERG (1972). Os tratamentos três e quatro apresentaram os maiores teores devido a adição do hidróxido de amônio.

O desdobramento dos graus de liberdade dos tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento (Tabela 19) mostra efeito significativo para tratamento ($P < 0,01$) em todos os tempos de armazenamento.

O Teste de Tukey aplicado aos dados da Tabela 18 aponta os tratamentos três e quatro com os maiores teores de nitrogênio não protéico, porém foram diferentes entre si e os demais tratamentos, no tempo zero de armazenamento. Os tratamentos dois e cinco apresentaram os menores teores e foram estatisticamente iguais entre si, em todos os tempos de armazenamento. No tempo zero esperava-se igualdade estatística para

Tabela 20 - Equações de regressão, pontos de máximo, mínimo e de inflexão e , coeficientes de determinação (R^2), dos teores de nitrogênio não protéico (Y) da levedura líquida, em função dos tempos de armazenamento (x), submetida a diferentes tratamentos (T).

Tr	Equações	Pontos de máximo		Pontos de mínimo		Pontos de inflexão		R^2
		x	Y	x	Y	x	Y	
$T_1 = Y_1 = 24,5873 + 1m2213x + 0,0856x^2 - 0,0030x^3^{**}$		24,39	61,45	-5,51	20,96	9,44	41,20	98,18
$T_2 = Y_2 = 14,76$		-	-	-	-	-	-	-
$T_3 = Y_3 = 33,66$		-	-	-	-	-	-	-
$T_4 = Y_4 = 45,52$		-	-	-	-	-	-	-
$T_5 = Y_5 = 12,95$		-	-	-	-	-	-	-

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

$$T_1 = Y_1 = 24,5873 + 1,2213x + 0,0856x^2 - 0,0003x^{3**} \quad R^2 = 98,19$$

$$T_1 = Y_2 = 14,76$$

$$T_3 = Y_3 = 33,66$$

$$T_4 = Y_4 = 45,52$$

$$T_5 = Y_5 = 12,95$$

Figura 6 - Curvas, equações de regressão e coeficientes de determinação (R^2) dos teores de nitrogênio não protéico da levedura (Y) em função dos tempos de armazenamento (x), submetida a diferentes tratamentos (T).

os tratamentos um, dois e cinco. Entretanto, o tratamento um foi superior. Isto possivelmente se deve à algum processo degradativo que tenha ocorrido no material não tratado, mesmo que armazenado a baixa temperatura (-20°C), condição em que as amostras de todos os tratamentos permaneceram durante vários meses, antes de serem analisadas.

Aos 7 dias de armazenamento os tratamentos apresentaram valores semelhantes à aqueles do tempo zero, exceto o tratamento um, que apresentou um aumento de 50% no teor de nitrogênio não proteico. A partir dos 14 dias de armazenamento, o tratamento um superou os demais, quanto ao teor de nitrogênio não protéico (Tabela 18), indicando que houve degradação das proteínas da levedura não tratada.

4.7. VALORES DO PH

Os valores médios de pH da levedura, observados nos diversos tratamentos em cada tempo de armazenamento, são apresentados na Tabela 21.

A análise de variância (Tabela 22) mostra diferenças significativas ($P < 0,01$) para tratamentos, tempo de armazenamento, bem como para suas interações. O desdobramento dos graus de liberdade, tempos de armazenamento dentro de tratamento mostra diferenças significativas ($P < 0,01$) para os tratamentos dois, três e quatro.

As equações de regressão, juntamente com os respectivos pontos de máximo, mínimo, inflexão e coeficientes de determinação, são apresentados na Tabela 23, e ilustrados na Figura 7.

Tabela 21 - Valores de pH da levedura líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a) em dias (médias de 3 repetições):

T_a	T	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	Médias T_a
0		3,83 b	4,26 b	9,00 a	9,60 a	4,36 b	6,21
7		4,23 c	4,23 c	5,06 b	7,93 a	4,06 c	5,10
14		4,23 bc	3,76 c	4,63 ab	5,20 a	3,73 c	4,31
21		4,33 abc	3,63 c	4,59 ab	4,96 a	3,90 bc	4,28
28		4,36 b	3,60 c	4,76 ab	5,23 a	4,20 bc	4,43
MÉDIAS							
	T	4,20	3,90	5,61	6,58	4,05	-

DMS: T = 0,48; T_a = 0,29; T dentro de T_a = 0,71

Médias seguidas por letras iguais numa mesma linha, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Tabela 22 - Análise de variância para os valores de pH da levedura líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a).

Fontes de variação	G.L.	QM
Bloco	2	0,30 ^{NS}
Tratamento (T)	4	20,83 ^{**}
Resíduo (A)	8	0,15
Parcela	14	
Tempo de armazenamento (T_a)	4	10,13 ^{**}
Interação T x T_a	16	3,58 ^{**}
T_a dentro de T_1	4	0,13 ^{NS}
T_a dentro de T_2	4	0,31 ^{**}
T_a dentro de T_3	4	10,85 ^{**}
T_a dentro de T_4	4	12,95 ^{**}
T_a dentro de T_5	4	0,18 ^{NS}
T dentro de T_0	4	24,07 ^{**}
T dentro de T_7	4	7,95 ^{**}
T dentro de T_{14}	4	1,14 ^{**}
T dentro de T_{21}	4	0,85 ^{**}
T dentro de T_{28}	4	1,12 ^{**}
Resíduo (B)	40	0,08
Total	74	

IV Caso SATTERTHWAITTE : GL T dentro de T_a = 42

QMR T dentro de T_a = 0,09

C.V. : Resíduo A = 7,93% ; Resíduo B = 5,86%

^{**} Significativo ao nível de 1% de probabilidade

^{NS} Não significativo.

Tabela 23 - Equações de regressão, pontos de máximo, mínimo e de inflexão e , coeficientes de determinação (R^2), dos valores de pH da levedura líquida (Y), em função dos tempos de armazenamento (x), submetida à diferentes tratamentos (T).

Tr	Equações	Pontos de máximo		Pontos de mínimo		Pontos de inflexão		R^2
		x	y	x	y	x	y	
$T_1 = Y_1 = 3,9666 + 0,0166x^*$		-	-	-	-	-	-	74,69
$T_2 = Y_2 = 4,2866 - 0,0276x^{**}$		-	-	-	-	-	-	88,06
$T_3 = Y_3 = 8,9585 - 0,8165x + 0,0462x^2 - 0,00008x^{3**}$		24,65	4,90	13,76	4,38	19,21	4,64	99,17
$T_4 = Y_4 = 9,6795 - 0,2666x - 0,0067x^2 + 0,0003x^{3**}$		-10,49	11,29	22,24	4,62	5,87	7,96	97,43
$T_5 = Y_5 = 4,3961 - 0,0765x + 0,0024x^{3**}$		-	-	15,44	3,80	-	-	94,16

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade

$T_1 = Y_1 = 3,9666 + 0,166x^*$	$R^2 = 74,69$
$T_2 = Y_2 = 4,2866 - 0,0276x^{**}$	$R^2 = 88,06$
$T_3 = Y_3 = 8,9585 - 0,8165x + 0,0462x^2 - 0,0008x^3^{**}$	$R^2 = 99,17$
$T_4 = Y_4 = 9,6795 - 0,2666x - 0,0067x^2 + 0,0003x^3^{**}$	$R^2 = 97,43$
$T_5 = Y_5 = 4,3961 - 0,0765x + 0,0024x^2^{**}$	$R^2 = 94,16$

Figura 7 - Curvas, equações de regressão e coeficientes de determinação (R^2) dos valores de pH da levedura (Y) em função dos tempos de armazenamento (x), submetida à diferentes tratamentos (T).

Verifica-se que no tratamento testemunha o pH aumentou linearmente, em pequena escala. Este resultado contrasta com o de STECKLEY *et alii* (1979a) os quais trabalhando com lodo residual da fabricação de cerveja à temperatura de 4,4°C; 21,0°C e 30,0°C, observaram uma queda do pH nos primeiros 14 dias de armazenamento e uma elevação nos últimos dias, para as temperaturas mais altas. Eles atribuíram o declínio inicial ao resultado da fermentação contínua com formação de produtos finais ácidos, enquanto o aumento final foi atribuído a outros processos degradativos que ocorreram após a atividade fermentativa ter cessado.

A queda linear do pH no tratamento dois, possivelmente se deve à adição de CO₂, efetuada por ocasião de cada amostragem, com o fim de manter a anaerobiose. A adição de hidróxido de amônia aos tratamentos três e quatro proporcionou um aumento de pH, nos mesmos. Todavia, a partir do 14º dia de armazenamento os valores se reduziram, aproximando-se dos outros tratamentos, e depois elevaram-se novamente no final do experimento, havendo portanto um comportamento cúbico para ambos. A queda inicial possivelmente se deve à perda de amônia por volatilização, e o aumento no final do experimento pode ser consequência de algum processo degradativo.

Quanto ao tratamento cinco, a resposta foi quadrática e semelhante à encontrada por STECKLEY *et alii* (1979a), os quais atribuíram a queda inicial à formação de produtos ácidos devido à fermentação, e o aumento no final do experimento foi de

vido à ocorrência de algum processo degradativo.

O desdobramento dos graus de liberdade, tratamento dentro de tempo de armazenamento apresenta efeitos significativos ($P < 0,01$) em todos os tempos de armazenamento (Tabela 22).

Pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 21), verifica-se que os tratamentos três e quatro tiveram os maiores valores de pH no tempo zero de armazenamento. Esta superioridade provavelmente se deve à adição de hidróxido de amônio. Os demais tratamentos apresentaram valores estatisticamente iguais.

Com sete dias de armazenamento o tratamento quatro foi o que apresentou maior pH, diferindo ($P < 0,05$) de todos os outros tratamentos. Numa posição intermediária se situou o tratamento três e por último os tratamentos um, dois e cinco, os quais não diferiram entre si. Aos 14 dias de armazenamento os tratamentos três e quatro apresentaram os maiores valores de pH e os tratamentos dois e cinco os menores, ficando o tratamento um em posição intermediária.

Quando transcorridos 21 dias de armazenamento, os tratamentos três e quatro apresentaram os maiores valores de pH, os quais não diferiram do tratamento um (testemunha), que foi estatisticamente igual aos tratamentos dois e cinco. Já aos 28 dias de armazenamento, os tratamentos três e quatro apresentaram os maiores valores de pH, sendo que o tratamento três foi semelhante aos tratamentos um e cinco, sendo este último igual ao tratamento dois que apresentou o menor valor de pH.

5. CONCLUSÕES

O teor de matéria seca da levedura líquida teve um ligeiro acréscimo, durante os 28 dias de armazenamento, exceto o tratamento dois.

No tratamento testemunha, os teores de nitrogênio solúvel, amoniacal e não protéico, elevaram-se com o passar do tempo, indicando degradação protéica da levedura.

A condição de anaerobiose não influenciou a conservação da levedura.

A adição de 0,3% e 0,6% de amônia aos tratamentos três e quatro, respectivamente, proporcionou elevações nos seus teores de nitrogênio total, solúvel, amoniacal e não protéico, que persistiram durante todo o tempo experimental.

A aplicação de vapor exclusiva foi suficiente para conservar a levedura líquida por 30 dias de armazenamento, embora a aplicação conjunta de vapor e amônia e, vapor e anaerobiose também tenham sido eficientes.

6. LITERATURA CITADA

- AMORIM, H.V. e W.R.S. MATTOS (1982) Novas Matérias Primas. Os subprodutos da Agroindústria. O Próalcool e a Produção de Levedura e Vinhaça. Perspectivas do momento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA INDÚSTRIA DE RAÇÕES, 1, São Paulo - SP. Anais...São Paulo, p.191-203.
- BAILEY, J.L. 1967. Techniques in protein chemistry. 2nd ed. Elsevier Publishing Company, Amsterdam, 346p.
- BECKER, M. 1961. Análisis y valoración de piensos y forrajes Ed. Acribia, Zaragoza, España, 209p.
- BEESE, W.M. e T.W. PERRY, 1952. Balancing the nutritional deficiencies of roughages for beef steers. J. Anim. Sci., 11: 501-515.

BRAUDE,R. 1942. Dried yeast as fodder for livestock.

J.Inst.Brew. 39: 206-217.

BUNKER,H.J. 1968. Sources of simple cell protein: perspective and prospect. In: MATELES,R.I. e TANNENBAUM,S.R. Single-cell protein, Massachussets, M.I.T. Pres, p.67-78.

BUTOLO,J.E. 1977. Determinação do nitrogênio não protéico. Análise de alimentos - UNESP, roteiro de aulas práticas (mimeografado).

CAMPOS,J. 1981. Tabelas para cálculos de rações. Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária, 2ª ed. 64p.

COZZOLINO,S.M.E. 1982. Valor Nutricional da Biomassa de *Saccharomyces cerevisiae*. Estudos em gerações sucessivas de ratos. Sao Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas USP, 147p. (Tese de Doutorado).

CROOKER,B.A.; C.J. SNIFFEN,; W.H. HOOVER e L.L.JOHNSON, 1978. Solvents for soluble nitrogen meassurements in feedstuffs. J. Dairy Sci., 61: 437-447.

DESMONTS,R. 1966. Tecnologia da Profução dos Fermentos Secos de Destilarias. Boletim Informativo da A.P.M. - Piracicaba, 8(2): 1-11,

- DESMONTS,R. 1968. Utilização do levedo na alimentação da criança. Pediatria prática, 39(7): 7-18.
- ENSMINGER,M.E. 1970. Swine Science 4ª ed., Danville. The Interstate Printers e Publishers, Inc. 882p.
- GRIEVE,D.G. 1979. Feed intake and growth of cattle fed liquid Brewer's yeast. Can. J. Anim. Sci., 59: 89-94
- HSU,W.C. 1961. Protein from Sugar on Taiwan. Sugar y Azucar. New York, 56(7): 33-36.
- JACQUOT,R. 1943, Valor nutritivo das leveduras. Sua Utilização prática para a alimentação humana. In: PAIVA,B.C., Ed. 1966. Boletim Informativo da A.P.M.: Piracicaba-8(1): 1-13
- JARDIM,W.R. 1976. Alimentos e Alimentação do Gado Bovino. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres. 338p.
- KIHLBERG,R. 1976. The Microbe as a Source of Food. Annual Review of Microbiology, California, 26: 427-457.
- LE GENDRE,G.R.; R. TOTUSEK e W.D. GALLUP, 1957. Effect of live cell yeast on nitrogen retention and digestibility of rations by beef cattle. J.Anim.Sci. 16: 671-673.

- LIMA,O.G. de, 1966. Desenvolvimento da Indústria da Levedura Alimentar e a Contribuição Brasileira. Brasil Açucareiro, 87: 24-45.
- MACHADO,P.F. 1983. Valor nutritivo da levedura, resíduo da produção de álcool, para vacas em lactação. Piracicaba, ESALQ-USP, 67p. (Tese de Doutorado).
- MARTELLI,H.L. 1962. Leveduras. In: ALMEIDA,J.R.; 1962. Fermentação do caldo de cana, curso sobre fermentação alcoólica. 1ª ed. Instituto Zimotécnico, Piracicaba, USP 1: 104-161.
- MIYADA,V.S. 1978. Uso da Levedura Seca (*Saccharomyces cerevisiae*) de Destilaria de Álcool da Cana-de-Açúcar na alimentação de Suínos em Crescimento e Acabamento. Piracicaba, ESALQ-USP, 106p. (Tese de Mestrado).
- NAMORY,M. 1975. Conservation de crème de levure pour l'alimentation animale. Ann. Techbol. Agri., 24(1): 35-45.
- NOGUEIRA,S.L.C. 1982, Produção e demanda de álcool no período 82/83 a 85/86. Saccharum 23: 29.32.

- PEIXOTO, A.M. e W.R.S. MATTOS. 1972. Observações sobre o valor Alimentar do Lodo Residual das Dornas de Fermentação Alcoólica em Usinas de Açúcar. O Solo. Piracicaba, 64: 33-39.
- PEPPLER, H.J. 1970. Food Yeasts. In: ROSE, A.H. e J.S. HARRISON. The yeasts. Academic Press. London and New York. p.421-457.
- PETRAITIS, I. w S. BARANAUSKAS. 1971. Effect of liquid brewer's yeast on milk yield and mil quality. Dairy Sci. Abstr., 34: 1844.
- RAFF, W. 1967. Essais de laboratoire sur la conservation des levures de viú et de bière por voie chinique. Przem. Ferment. Rolny, 11(6): 214-217.
- SALES, A.;.; T.J.B. MENEZES; M. OKADA, T. ARAKAKI e P.R. LAMO. 1977. Produção em melaço. Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos. Campinas, 8: 443-455.
- SHACKLADY, C.A. e T. WALKER. 1973. Leveduras cultivadas sobre alcanos, seguridade, empleo y utilizacion in alimentacion animal. Zootechnia, Madrid, 22(1-2): 31-42.

STECKLEY, J.D.; D.G. GRIEVE, G.K. MacLEOD e E.T. MORAN JR.

1979 a. Brewer's yeast shurry. I Composition as Affected by Length of Storage, Temperature and Chemical Treatment. J. Dairy Sci. 62(6): 941-946

STECKLEY, J.D.; D.G. GRIEVE; G.K. MacLEOD e E.T. MORAN JR.m

1979 b. Brewer's yeast shurry. II. A source of supplementary protein for lactating dairy cattle. J. Dairy Sci., 62(6): 947-953.

STREETER, C.L.; G.W. HORNE J.E. McCLUNG, 1980. Adding yeast to mineral blocks increased intake. Feedstuffs, 52(53): 11.

STYCZNSKI, H. 1966. Effect of feeding live yeast on rumen volatile fatty acid levels and milk fat content in cows. Dairy Sci. Abstr., 31: 2292.

TEBGE, S.B. e D.R. ZIMMERMAN, 1977. Evaluation of a yeast single-cell protein in pigs diets. J. of. Animal Sci, 45(6) 1309-1315.

TOMLINSON, J.E.; W.H. McGEE e J.W. FUQUAY. 1977. Brewers condensed solubles and liquid brewers yeast as feedstuffs for lacting dairy cows. Dairy Sci. Abstr., 39: 6170

VANANUVAT, P. 1977. Value of yeast Protein for Poultry Feeds.
Critical Reviews in Food Science an Nutrition, 9: 325-343.

7. APÊNDICES

Apêndice 1- Teores de matéria seca da levedura líquida em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a), em três repetições (R).

T_a	T ₁			T ₂			T ₃			T ₄			T ₅		
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
0	17,80	18,16	19,06	15,00	17,32	17,70	16,63	16,23	18,14	17,20	17,86	17,77	16,49	18,10	17,30
7	16,32	15,94	15,46	16,29	17,47	17,52	16,85	18,08	18,41	17,94	18,35	18,16	16,02	17,79	18,24
14	17,40	16,99	15,57	15,95	17,54	17,36	17,46	18,44	18,81	18,15	19,15	18,28	16,58	18,50	18,33
21	18,79	17,43	16,88	16,27	17,95	17,15	18,34	19,48	20,07	18,70	19,96	18,92	17,28	18,62	18,71
28	20,96	18,76	17,08	15,98	17,43	17,23	18,75	20,23	21,09	19,14	18,16	20,01	17,88	19,18	19,84

Apêndice 2 - Teores de nitrogênio total da levedura líquida, em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a), em três repetições (R).

T_a	T ₁			T ₂			T ₃			T ₄			T ₅		
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
0	4,95	4,84	5,18	4,83	4,70	5,03	6,50	5,74	6,14	7,34	6,84	6,96	5,21	4,43	5,13
7	5,21	5,87	5,88	4,38	4,86	4,98	5,84	5,88	6,26	5,98	6,22	7,03	4,87	4,40	4,94
14	4,79	5,16	5,87	4,11	4,28	5,12	5,79	5,85	6,24	6,56	6,19	6,73	4,72	4,58	5,11
21	4,96	5,36	5,21	4,52	4,65	4,73	5,90	5,92	5,42	6,61	6,15	6,18	4,72	4,74	4,60
28	5,01	5,57	5,54	4,59	4,78	4,38	6,10	6,26	5,48	7,10	6,44	6,38	4,90	5,01	4,64

Apêndice 3 - Teores de nitrogênio solúvel da levedura líquida, em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a), em três repetições (R).

T_a	T ₁			T ₂			T ₃			T ₄			T ₅		
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
0	26,53	23,71	19,50	14,70	12,10	11,30	33,80	30,00	33,61	41,95	44,66	49,70	11,08	10,16	10,93
7	28,81	36,36	32,69	13,53	10,16	10,93	36,82	28,26	29,22	45,08	47,15	43,67	11,10	11,30	10,40
14	51,03	55,10	43,40	12,90	11,24	10,78	28,72	30,17	28,18	37,65	44,14	43,82	9,17	10,94	10,00
21	56,79	55,78	47,99	12,50	13,06	10,59	29,74	31,25	27,99	42,77	41,69	41,94	10,00	11,18	10,56
28	54,84	59,34	51,67	13,27	11,64	9,78	31,28	32,30	29,05	45,66	46,42	41,80	8,38	9,66	8,72

Apêndice 4 - Teores de nitrogênio amoniacal da levedura líquida, em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a), em três repetições (R).

T_a	T_1			T_2			T_3			T_4			T_5		
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
0	9,60	9,61	9,20	9,61	9,38	10,17	31,20	27,52	28,87	38,07	38,34	40,50	8,14	9,33	10,51
7	9,92	9,56	10,32	9,83	10,63	10,38	28,05	25,88	28,00	31,96	37,44	33,76	11,27	10,40	10,31
14	12,87	12,56	12,08	11,07	11,37	10,59	28,69	27,79	29,32	29,79	33,83	39,31	10,58	10,18	10,12
21	12,87	13,46	12,91	10,99	10,77	11,26	28,13	26,63	29,76	31,19	31,84	37,46	10,11	10,30	9,81
28	12,52	15,07	15,35	10,89	11,45	10,65	28,44	25,95	27,46	32,02	34,30	36,26	10,57	10,47	9,98

Apêndice 5 - Teores de nitrogênio não protéico da levedura líquida, em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a), em três repetições (R).

T_a	T_1			T_2			T_3			T_4			T_5		
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
0	32,22	23,10	19,94	17,05	14,17	13,62	34,00	33,09	32,26	46,13	46,45	44,95	13,80	13,70	12,42
7	32,30	37,25	33,35	16,24	15,04	14,31	34,74	33,92	32,12	42,39	47,80	40,85	13,45	15,39	13,02
14	56,04	54,93	48,55	15,79	15,82	12,86	32,12	34,46	31,00	42,37	47,37	44,61	12,52	13,31	11,81
21	60,72	59,81	53,49	15,91	13,57	12,57	35,82	34,10	33,33	47,24	45,61	45,57	12,47	12,46	12,00
28	62,92	63,36	53,87	16,72	14,67	13,19	36,58	35,26	32,40	46,73	48,35	46,50	11,40	13,28	13,35

Apêndice 6 - Valores de pH da levedura líquida, em função dos tratamentos (T) e dos tempos de armazenamento (T_a), em três repetições (R).

T_a	T ₁			T ₂			T ₃			T ₄			T ₅		
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
0	3,9	3,8	3,8	4,6	3,8	4,4	9,1	9,0	8,9	9,6	9,6	9,6	4,4	4,4	4,3
7	4,3	4,4	4,0	4,7	4,2	3,8	5,4	5,0	4,8	8,0	8,6	7,2	3,9	4,0	4,3
14	4,2	4,6	4,5	3,8	3,8	3,7	4,7	4,7	4,5	5,2	5,1	5,3	3,9	3,6	3,7
21	4,1	4,4	4,5	3,6	3,7	3,6	4,6	4,8	4,4	4,9	5,2	4,8	4,4	3,6	3,7
28	4,3	4,0	4,8	3,5	3,6	3,7	5,0	4,8	4,5	5,5	5,6	4,6	5,0	3,9	3,7