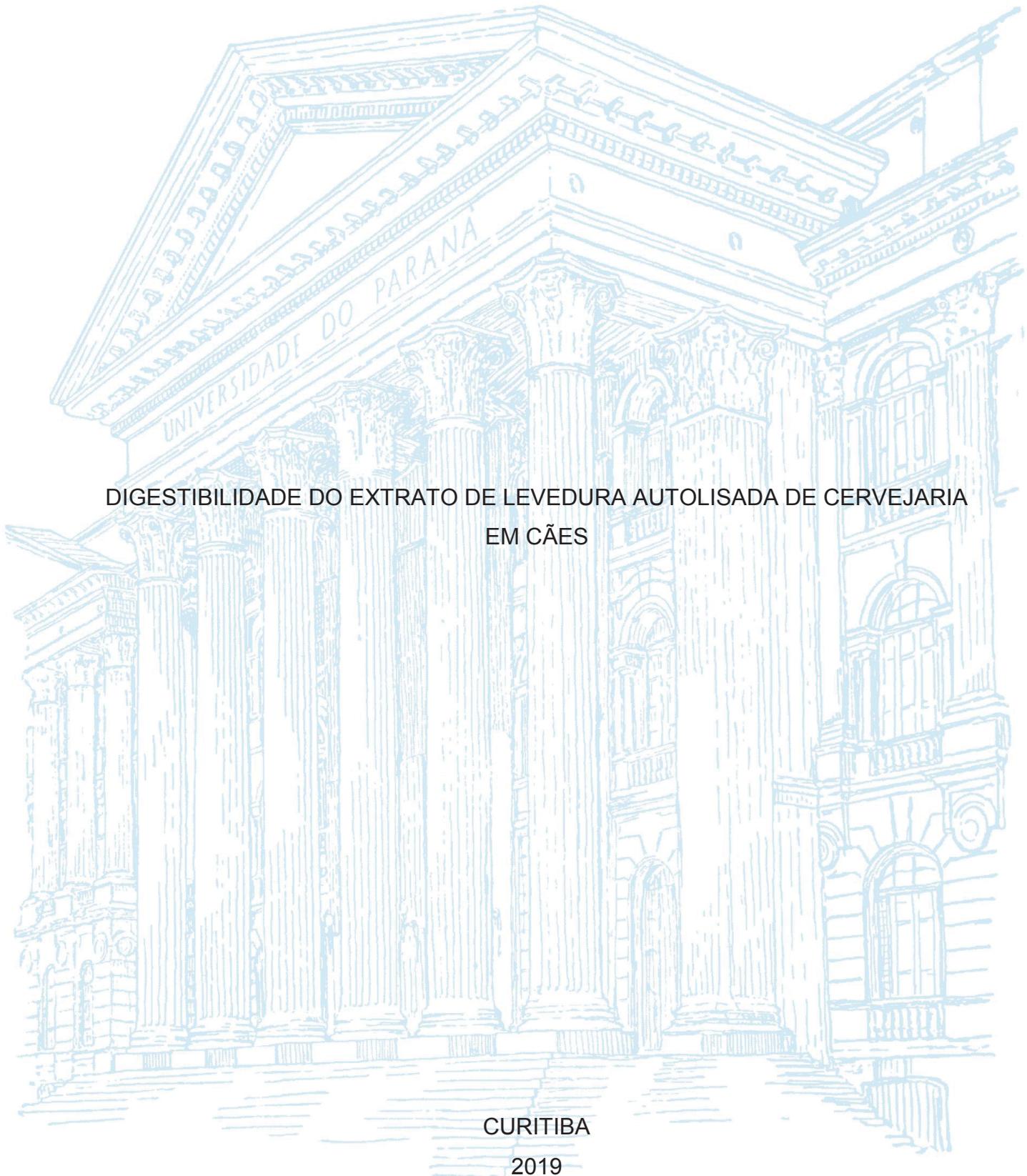


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GISLAINE CRISTINA BILL KAELE



DIGESTIBILIDADE DO EXTRATO DE LEVEDURA AUTOLISADA DE CERVEJARIA  
EM CÃES

CURITIBA

2019

GISLAINE CRISTINA BILL KAELE

DIGESTIBILIDADE DO EXTRATO DE LEVEDURA AUTOLISADA DE CERVEJARIA  
EM CÃES

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ananda Portella Félix

CURITIBA

2019

K11d

Kaelle, Gislaine Cristina Bill

Digestibilidade do extrato de levedura autolisada de cervejaria em cães / Gislaine Cristina Bill Kaelle. - Curitiba, 2019.

68 p.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

Orientadora: Ananda Portella Félix

1. Ácido Glutâmico. 2. Ácidos graxos. 3. Leveduras (Fungos). 4. Proteínas microbianas. 5. Cão – Alimentação e rações. I. Félix, Ananda Portella. II. Título. III. Universidade Federal do Paraná.

CDU 636.7.084



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ZOOTECNIA -  
40001016082P0

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ZOOTECNIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **GISLAINE CRISTINA BILL KAELE** intitulada: **Digestibilidade do extrato de levedura autolisada de cervejaria em cães**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 27 de Fevereiro de 2019.

ANANDA PORTELLA FÉLIX

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

SIMONE GISELE DE OLIVEIRA

Avaliador Interno (UFPR)

LUIS DANIEL GIUSTI BRUNO

Avaliador Externo (UNIOESTE)

*Dedico:*  
*À minha mãe e irmãs*  
*Aos meus amigos*

## AGRADECIMENTOS

*A Deus, por todos os momentos em que pensei que não havia solução e Ele me mostrou o caminho.*

*A Minha família, Ana, Jociana e Jeane, por todo amor, carinho e apoio durante esses dois anos, não teria chego até aqui sem vocês. Aliás, não seria nada sem vocês.*

*A minha professora orientadora, Ananda, pela impecável orientação. Pelo apoio. Por me ajudar no momento que precisei e por ser sempre tão atenciosa e paciente comigo.*

*A Taby, Dani, Cami por me acolherem no grupo e me ensinarem todas as análises e cálculos. Sou extremamente grata pela ajuda e pela paciência que tiveram comigo no início do mestrado.*

*A toda equipe Lenucan, por toda a ajuda durante as coletas e análises do meu experimento. Pelo carinho durante esses anos que estive no grupo. Pelo apoio, amizade e por todo o conhecimento transmitido.*

*Aos meus amigos, que estiveram ao meu lado em todos os momentos aguentando meus surtos e, principalmente, por me darem todo o apoio do mundo.*

*A toda a equipe do Laboratório de Nutrição Animal, pela ajudanas análises.*

*A empresa Alltech pelo apoio na execução dos experimentos.*

*A Capes pela concessão da bolsa de estudos.*

Muito Obrigada!

Gislaine Cristina Bill Kaelle

*“O conhecimento serve para encantar pessoas, não para humilhá-las.”*

Mario Sergio Cortella

## RESUMO

Dentre os alimentos não convencionais com uso potencial em dietas para cães incluem-se as leveduras. Seu perfil nutricional, com alto teor de proteínas, vem despertando interesse da indústria, fazendo assim crescer o número de pesquisas para determinar sua inclusão como fonte proteica. Objetivou-se determinar, por meio do método de regressão, os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes presentes no extrato de levedura autolisada, bem como as características fecais e a preferência alimentar de dietas contendo levedura em cães. Foram avaliadas quatro dietas contendo 0% (Controle), 4%, 8% e 12% de levedura, em substituição à fórmula da dieta controle. Para digestibilidade e características fecais, foram utilizados 12 cães adultos da raça beagle, distribuídos em blocos (períodos) ao acaso. Os cães foram alimentados durante 10 dias com as dietas experimentais, durante dois períodos, totalizando 6 repetições. No teste de preferência alimentar foram utilizados 16 cães, sendo comparada as dietas: 0% vs. 4% levedura. O teste foi realizado por um período de 2 dias, totalizando 32 repetições. Como resultados, o extrato de leveduras autolisada apresentou CDA da matéria seca de 77,3%, da proteína bruta (PB) de 55,7%, do extrato etéreo (EE) de 73,8% e energia metabolizável (EM) de 4947,3 kcal/kg. Houve redução linear no CDA da PB e EE das dietas com a inclusão de levedura ( $P < 0,05$ ). Os demais CDA e a EM das dietas não diferiram ( $P > 0,05$ ). Houve aumento linear dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) totais e redução linear no pH fecal com a inclusão de levedura nas dietas ( $P < 0,05$ ). Para a razão de ingestão, os cães consumiram maior quantidade da dieta com 4% de inclusão de levedura ( $P < 0,01$ ). A inclusão do extrato de levedura autolisada não altera os CDA e a EM das dietas e seus resultados de AGCC e pH mostram um possível efeito prebiótico, com potencial efeito benéfico à saúde intestinal. Além disso, sua inclusão aumenta a palatabilidade da dieta. Entretanto, os crescentes níveis de inclusão reduzem a digestibilidade aparente da PB e EE.

Palavras-chave: Ácido Glutâmico. Ácidos graxos de cadeia curta. Nucleotídeos. Proteína de origem microbiana.

## ABSTRACT

Unconventional foods with potential use in diets for dogs include yeasts. Its nutritional profile, with high protein content, has aroused interest in the industry, thus increasing the number of researches to determine its inclusion as a protein source. The objective of this study was to determine the apparent digestibility coefficients (ADC) of the nutrients present in the autolysed yeast extract, as well as the fecal characteristics and the food preference of diets containing yeast in dogs. Four diets containing 0% (Control), 4%, 8% and 12% of yeast, in substitution to the control formula. For digestibility and fecal characteristics, 12 beagle adult dogs were randomly distributed in blocks (periods). The dogs were fed for 10 days with the experimental diets, during two periods, totaling 6 replicates. In the food preference test, 16 dogs were used, and the diets were compared: 0% vs. 4% yeast. The test was performed for a period of 2 days, totaling 32 replicates. As a result, the autolysed yeast extract presented dry matter CDA of 77.3%, crude protein (CP) of 55.7%, ether extract (EE) of 73.8% and metabolizable energy (ME) of 4947,3 kcal/kg. There was a linear reduction in the CDA of PB and EE of the diets with the inclusion of yeast ( $P < 0.05$ ). The other ADC and MS of the diets did not differ ( $P > 0.05$ ). There was a linear increase of total short chain fatty acids (SCFA) and linear reduction in fecal pH with the inclusion of yeast in the diets ( $P < 0.05$ ). For the intake ratio, dogs consumed more of the diet with a 4% inclusion of yeast ( $P < 0.01$ ). The inclusion of the autolysed yeast extract does not alter the CDA and ME of the diets and its results of SCFA and pH show a possible prebiotic effect, with a potential beneficial effect on intestinal health. In addition, its inclusion increases the palatability of the diet. However, increasing inclusion levels reduce the apparent digestibility of CP and EE.

Key words: Glutamic Acid. Short-chain fatty acids. Nucleotides. Protein of microbial origin.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Divisão das formas de utilização de levedura utilizadas na indústria	16
Figura 2.	Corte longitudinal de uma célula de levedura.....	17
Figura 3.	Principais componentes do sistema de secagem spray-drying.....	20
Figura 4.	Esquema da fabricação de produtos derivados da levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	21
Figura 5.	Obtenção do extrato de levedura após separação da parede celular.....	24
Figura 6.	Representação da parede celular de levedura e seus principais componentes.....	26

## LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I -	DIGESTIBILIDADE DO EXTRATO DE LEVEDURA AUTOLISADA DE CERVEJEIRA EM CÃES	
Tabela 1.	Divisão das formas de levedura utilizados na indústria.....	28
Tabela 2.	Composição química típica de leveduras de cervejaria e destilaria.....	31
Tabela 3.	Valores de aminoácidos presentes no conteúdo celular de leveduras (g/16g n) citados na literatura.....	38
Capítulo II -	AVALIAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE APARENTE, CARACTERÍSTICAS FECALIS E PALATABILIDADE DO EXTRATO DE LEVEDURA AUTOLISADA EM DIETAS PARA CÃES	
Tabela 4.	Ingredientes e composição química analisada da levedura e das dietas experimentais.....	44
Tabela 5.	Perfil de aminoácidos do extrato de levedura.....	45
Tabela 6.	Médias dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) e energia metabolizável (em, kcal/kg) de dietas contendo crescentes inclusões de levedura e características fecais de cães.....	50
Tabela 7.	Médias dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) e nutrientes digestíveis da levedura em cães.....	51
Tabela 8.	Médias (mmol) dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ramificada (AGCR) das fezes de cães alimentados com dietas contendo extrato de levedura.....	51
Tabela 9.	Primeira escolha da dieta a (n) e razão de ingestão (RI $\pm$ erro padrão) das dietas controle (CO) e 4% de extrato de leveduras (EL).....	52

## LISTA DE ABREVIATURAS

- AGCC – Ácido graxo de cadeia curta
- AGCR – Ácido graxo de cadeia ramificada
- CDA – Coeficiente de digestibilidade aparente
- CO – Controle
- EB – Energia bruta
- EE – Extrato etéreo
- EEA – Extrato etéreo em hidrólise ácida
- EL – Extrato de levedura
- EM – Energia metabolizável
- EPM – Erro padrão da média
- MO – Matéria orgânica
- MS – Matéria seca
- MSf – Matéria seca fecal
- NEM – Necessidade de energia metabolizável
- PB – Proteína bruta

## SUMÁRIO

CAPÍTULO I - DIGESTIBILIDADE DO EXTRATO DE LEVEDURA AUTOLISADA DE CERVEJEIRA EM CÃES	
1	INTRODUÇÃO ..... 12
2	REVISÃO DE LITERATURA ..... 13
2.1	FONTES PROTEICAS ..... 13
2.2	LEVEDURAS ..... 14
2.2.1	DESCRIÇÃO DA LEVEDURA ..... 16
2.2.2	OBTENÇÃO DA LEVEDURA ..... 18
2.2.2.1	FRACIONAMENTO DOS COMPONENTES CELULARES ..... 21
2.2.2.1.1	PROCESSO DE AUTÓLISE ..... 22
2.2.2.1.2	PAREDE CELULAR ..... 24
2.2.2.1.3	EXTRATO DE LEVEDURA ..... 27
2.2.2.1.4	NUCLEOTÍDEOS ..... 28
2.2.2.1.5	ÁCIDO GLUTÂMICO ..... 30
2.2.3	COMPOSIÇÃO QUÍMICA ..... 31
2.2.4	USO DA LEVEDURA ..... 32
2.2.5	LEVEDURA COMO INGREDIENTE PROTEICO ..... 36
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS ..... 39
CAPÍTULO II - AVALIAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE APARENTE, CARACTERÍSTICAS FECAIS E PALATABILIDADE DO EXTRATO DE LEVEDURA AUTOLISADA EM DIETAS PARA CÃES	
	RESUMO ..... 40
	ABSTRACT ..... 41
1	INTRODUÇÃO ..... 42
2	MATERIAL E MÉTODOS ..... 43
2.1	DIETAS EXPERIMENTAIS ..... 43
2.2	EXTRATO DE LEVEDURA ..... 44
2.3	EXPERIMENTO I: DIGESTIBILIDADE APARENTE E CARACTERÍSTICAS FECAIS ..... 45
2.3.1	ANIMAIS E INSTALAÇÕES ..... 45
2.3.2	ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE ..... 46
2.3.3	CARACTERÍSTICAS FECAIS ..... 47

2.3.4.	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	48
2.4.	EXPERIMENTO II: ENSAIO DE PALATABILIDADE .....	48
2.4.1.	ANIMAIS E INSTALAÇÕES .....	48
2.4.2.	ENSAIO DE PALATABILIDADE.....	48
2.4.3.	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	49
3.	RESULTADOS.....	49
3.1.	EXPERIMENTO I: DIGESTIBILIDADE APARENTE E CARACTERÍSTICAS FECAIS.....	49
3.2.	EXPERIMENTO II: ENSAIO DE PALATABILIDADE .....	52
4.	DISCUSSÃO .....	52
4.1.	EXPERIMENTO I: DIGESTIBILIDADE APARENTE E CARACTERÍSTICAS FECAIS.....	52
4.2.	EXPERIMENTO II: ENSAIO DE PALATABILIDADE .....	54
5.	CONCLUSÃO .....	55
	REFERÊNCIAS .....	56
	ANEXO .....	68

## **CAPITULO I - DIGESTIBILIDADE DO EXTRATO DE LEVEDURA AUTOLISADA DE CERVEJARIA EM CÃES**

### **1 INTRODUÇÃO**

#### **1.1 CONTEXTO E PROBLEMA**

O excedente de biomassa de levedura gerado, principalmente por indústrias de cerveja e etanol, acarreta na necessidade do desenvolvimento de metodologias para o reaproveitamento deste coproduto. Nos últimos anos, o uso de leveduras tem se tornado cada vez mais frequente, devido às suas características nutricionais, como a presença de enzimas, nucleotídeos e metabólitos de fermentação (VALADARES, 2012). Além disso, esta é rica em lisina e treonina, o que permite a combinação com cereais (COSTA, 2004). Originam-se principalmente em destilarias de álcool, a partir da fermentação para produção de etanol, e em cervejarias, onde são geradas células de levedura excedentes que, termicamente inativas ou não, podem ser utilizadas diretamente ou processadas para obter vários derivados, como o autolisado e o extrato de levedura (VALADARES, 2012).

Na levedura autolisada há apenas a hidrólise da célula, sem a remoção da parede celular, portanto continua a conter componentes solúveis e insolúveis da mesma (AMORIM e LOPES, 2009). Para obtenção do extrato de levedura, é necessária a separação da parede celular por meio de centrifugação (SGARBIERI et al., 1999), resultando na separação da parte solúvel (conteúdo celular) e insolúvel (parede celular).

Em alimentos completos para cães e gatos, as leveduras têm sido utilizadas por diferentes razões, incluindo maior palatabilidade, fonte de nutrientes, melhoria da textura ou digestibilidade da dieta (SWANSON & FAHEY, 2006). Entretanto, é necessário que pesquisas sejam feitas para que seu perfil nutricional e sua interação com os nutrientes das dietas sejam estabelecidos, principalmente no que se refere a digestibilidade isolada da levedura em cães.

#### **1.2 OBJETIVOS**

##### **1.2.1 Objetivo geral**

Avaliar dietas contendo níveis crescentes de extrato de levedura autolisada para cães.

### 1.2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a digestibilidade dos nutrientes, a energia metabolizável e a palatabilidade do extrato de levedura em cães.
- Avaliar as características fecais e produtos de fermentação intestinal em cães alimentados com dietas contendo extrato de levedura.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 FONTES PROTEICAS

Os aminoácidos são importantes nutrientes na alimentação de cães, pois participam dos componentes orgânicos essenciais das células. Cerca de 50% das células são constituídas por proteínas, e um cão possui cerca de 60% do seu peso (em matéria seca) representado por estas, sendo a maioria localizada nos músculos (SEIXAS et al., 2003).

Diferente dos animais de produção, que visam melhores índices zootécnicos, os estudos voltados para a nutrição de cães e gatos, que buscam maior qualidade no perfil de proteínas e maior digestibilidade das mesmas, se deve ao seu maior aproveitamento, evitando assim a fermentação desses compostos no cólon. Uma vez que, quando isso ocorre, promove o crescimento da microbiota proteolítica, ocasionando distúrbios na funcionalidade e integridade intestinal e até mesmo carcinomas.

Sendo assim, cães são exigentes quanto à quantidade e qualidade das proteínas utilizadas em sua dieta. Alguns fatores como teor de proteína, digestibilidade e sua composição ou perfil em aminoácidos essenciais biodisponíveis são determinantes na eficiência de utilização proteica da dieta (CASE et al., 2011).

As fontes de proteína podem ser classificadas em: origem animal, provenientes coprodutos da indústria de carnes de frango, bovinos, suínos, ovinos, peixes, ovos, leite, etc., e origem vegetal, que incluem os grãos e os farelos

provenientes de coprodutos de processos industriais de grãos e vegetais (SEIXAS et al., 2003; ANFALPET, 2008).

As fontes proteicas de origem animal são matérias-primas importantes na dieta. No entanto, deve-se considerar a variabilidade na sua composição e sua qualidade nutricional, relacionadas com a origem das matérias-primas, o conteúdo de cinzas e a temperatura durante o processamento capaz de reduzir a digestibilidade do alimento (CARCIOFI, 2008). Além disso, podem incluir proporções de diferentes tipos de tecidos e vísceras (YAMKA, et al., 2003; KAWACHI et al., 2014), o que pode interferir diretamente na digestibilidade do produto.

As variações da composição química das fontes de origem vegetal existem, mas são relativamente menores quando comparadas às fontes de origem animal. No entanto, estas podem possuir fatores antinutricionais como inibidores de enzimas, lectinas, tanino, fitato, polissacarídeos não-amiláceos, entre outros que, quando presentes, podem influenciar negativamente a disponibilidade de seus nutrientes. Alguns recursos, tais como o tratamento térmico industrial a que são submetidas, a adição de algumas enzimas ou até mesmo a seleção de grãos com baixo tanino podem reduzir e/ou eliminar alguns destes fatores, melhorando significativamente a qualidade dessas matérias-primas (BEDNAR et al., 2000; SEIXAS et al., 2003; CARCIOFI, 2008).

As fontes protéicas de origem vegetal, uma vez associadas às farinhas de origem animal, permitem fornecimento dos níveis de proteínas e aminoácidos desejados, ao mesmo tempo em que moderam os níveis de macrominerais (principalmente cálcio) nas formulações, pois possuem alta relação proteína bruta: matéria mineral (7:1 a 20:1), ao contrário dos coprodutos de origem animal. O excesso de minerais resulta na diminuição da digestibilidade do alimento, interfere na motilidade intestinal, acarretando em ressecamento das fezes e eleva o conteúdo de cálcio, fósforo e magnésio do alimento, dificultando a formulação de dietas 23 nutricionalmente balanceadas. O excesso de cálcio e fósforo predispõe à desordens ósseas classificadas genericamente como osteomegalias, que decorrem não somente de fatores nutricionais, mas também da relação entre a genética e o meio ambiente (Cowell et al., 2000).

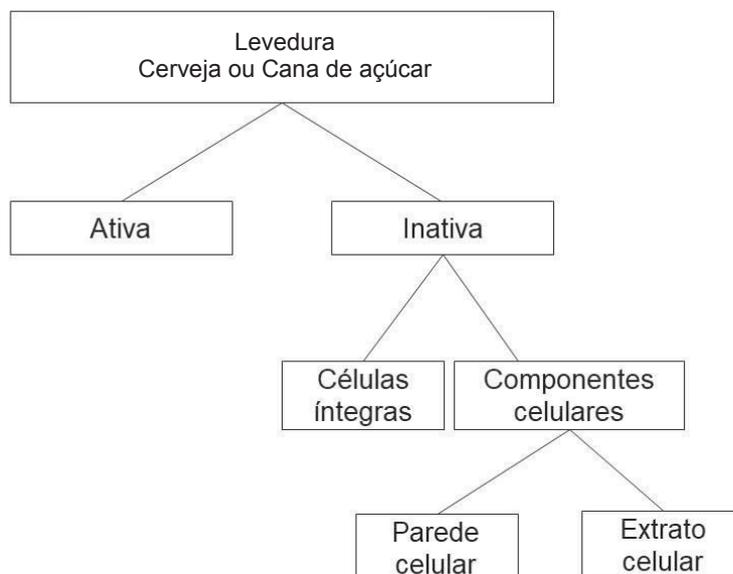
## 2.2 LEVEDURAS

Além das fontes proteicas de origem animal e vegetal supracitadas, proteínas de como as provenientes de leveduras, tem seu uso crescente na nutrição animal. A indústria pet está crescendo rapidamente e isso está gerando uma demanda por pesquisa de fontes de proteínas alternativas nas dietas, que preenchem o requerimento de aminoácidos pelo animal e sejam palatáveis (DUST et al., 2005).

Na nutrição animal, as leveduras podem ser incluídas tanto ativas quanto inativas. As leveduras secas ativas consistem de células vivas que foram desidratadas para interromper o metabolismo, mas que mantém a habilidade de restaurar a atividade fermentativa após a rehidratação. Na forma ativa, ou seja, o fornecimento de leveduras vivas favorece a saúde do trato gastrointestinal dos animais. Por não ser um hospedeiro natural do trato gastrointestinal, as células das leveduras não aderem ao epitélio intestinal, multiplicando-se muito pouco e transitando juntamente com o bolo alimentar, atuando como probióticos, vindo a diminuir a pressão exercida pelos microrganismos patogênicos (COSTA, 2004).

Na forma inativa podem ser utilizadas como células íntegras ou na forma de derivados (BUTOLO, 2002) (Figura 1). Atualmente, a levedura íntegra e alguns derivados do seu processamento, tais como levedura autolisada, polissacarídeos da parede celular e nucleotídeos, estão sendo suplementados em dietas.

FIGURA 1. DIVISÃO DAS FORMAS DE LEVEDURA UTILIZADAS NA INDÚSTRIA.



FONTE: Adaptado de COSTA (2004).

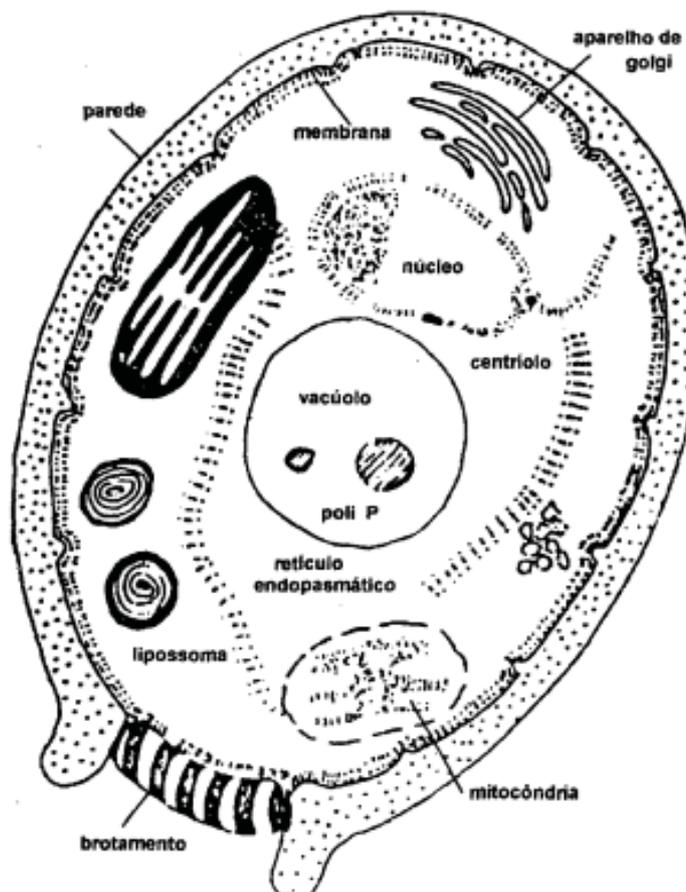
### 2.2.1 DESCRIÇÃO DA LEVEDURA

As leveduras são organismos pertencentes ao grupo dos fungos, as quais se apresentam predominantemente sob a forma unicelular, diferenciando-se dos fungos verdadeiros (ou mofo) que são organismos geralmente multicelulares. Sua reprodução vegetativa se faz, geralmente, por gemulação (brotamento) e, como células simples, as leveduras crescem e se reproduzem mais rapidamente do que os mofo. As espécies variam entre si segundo a morfologia, metabolismo com relação a diferentes substratos, modo de reprodução e onde são encontrados (STONE & MILLS, 2006).

O tamanho das leveduras varia de 2,5 a 10,5  $\mu\text{m}$  de largura e de 4,5 a 21  $\mu\text{m}$  de comprimento (REED e PEPPLER, 1973). Sua forma também é muito variável, indo desde elementos esféricos até células elípticas bastante alongadas, quase filamentosas. Tem membrana citoplasmática lipoproteica, cuja principal função é regular as trocas com o meio ambiente. Possuem também uma parede celular rígida, constituída principalmente de dois polissacarídeos: manana e glucana; além disso, contêm proteínas e lipídeos. No citoplasma, encontram-se, além dos componentes

usuais em solução, um ou mais vacúolos, delimitados por uma membrana (DZIEZAK, 1987) (Figura 2).

FIGURA 2. CORTE LONGITUDINAL DE UMA CÉLULA DE LEVEDURA



FONTE: Dziezak (1987).

A parede celular é uma estrutura exclusiva das leveduras, que não ocorre em células animais, situada em sua superfície exterior (OSUMI, 1998). A espessura da parede pode variar entre 150 e 400 nm, dependendo da espécie e das condições de cultivo do microrganismo. Confere formato único à célula por meio da sua organização macromolecular, sendo este controlado geneticamente (ROBINOW & JOHNSON, 1991).

A parede celular possui várias enzimas associadas, responsáveis pela hidrólise extracelular de nutrientes ou de macromoléculas durante a morfogênese celular. Algumas macromoléculas da parede participam na reação de agregação celular que ocorre durante a reprodução e floculação, servindo tanto como receptores específicos e inespecíficos para outras moléculas, como hormônios de

reprodução. Outras funções desta organela multifuncional incluem interação celular, recepção, ligação e atividade enzimática especializada (FLEET, 1991).

Sua composição inclui principalmente polissacarídeos complexados às proteínas. Os principais polissacarídeos que a estruturam são a glicose e a manose, seguidos pela galactose, xilose, N-acetil-D-glucosamina, ácidos urônicos e outros componentes secundários. A composição química qualitativa da parede celular é característica de cada espécie, podendo ser empregada como marcador taxonômico. Já as proporções quantitativas dos componentes da parede celular podem variar de acordo com as condições de cultivo e idade das células (FARKAS, 1989).

Dentre as cepas de levedura, a *Saccharomyces cerevisiae* está amplamente distribuída no meio ambiente. Por isso, é um microrganismo muito estudado, sendo o primeiro genoma eucariótico a ser completamente sequenciado, sendo que apenas cerca de dois terços das seis mil cepas de *S. cerevisiae* identificadas foram caracterizadas (AA et al., 2006). É o agente microbiano responsável pela fermentação do vinho, cerveja e outras bebidas alcoólicas, além de ser utilizada como fermento para pão, sendo o principal organismo utilizado pelas indústrias de fermentação (VILELA et al., 2000).

### 2.2.2. OBTENÇÃO DA LEVEDURA

A fermentação é o processo mais importante dentro da biotecnologia, sendo um processo complexo de transformações bioquímicas, dependendo de fatores microbiológicos, químicos, físicos e mecânicos (SANTIN, 1996). As células de leveduras obtidas na fermentação constituem um colóide hidrofílico apresentando uma quantidade de água que varia de 70 a 98% (STRUMILLO e ADAMIEC, 1991).

As células de leveduras podem ser propagadas pelo processo “*fed-batch*” ou contínuo. O processo *fed-batch* é o método principal de produção de leveduras de panificação, de algumas leveduras alimentares, e de biomassa para a extração de enzimas e para a produção de autolisados. O processo começa com a escolha da cepa específica de levedura e o crescimento ocorre a 30°C em um pouco mais de 2 dias, durante o qual parâmetros como pH, temperatura e aeração são estritamente controlados (DZIEZAK, 1987).

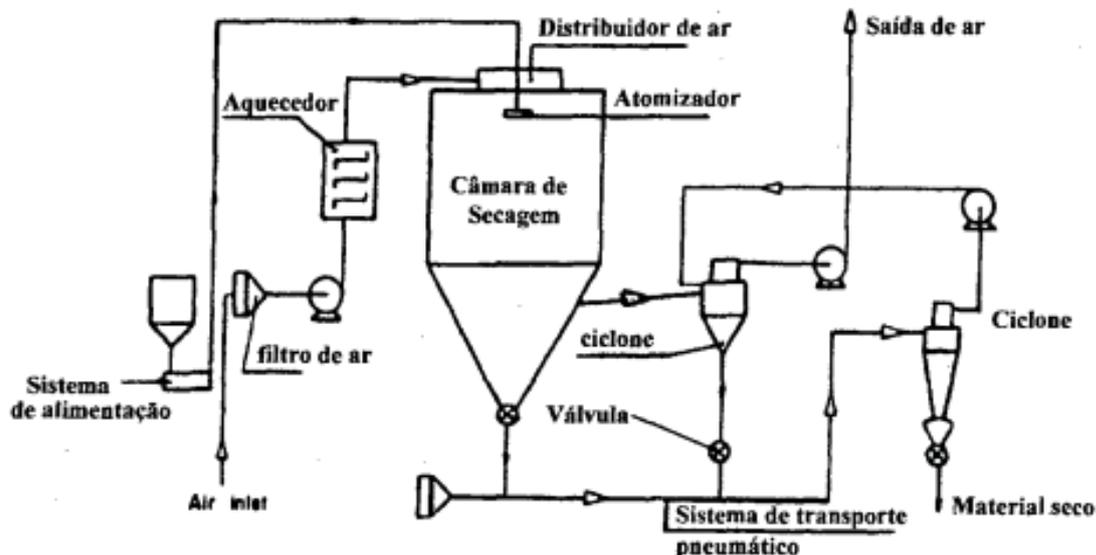
As leveduras resultantes dos processos exclusivamente destinados à sua propagação são correntemente denominadas leveduras primárias, enquanto que as leveduras obtidas como coprodutos de outras indústrias fermentativas são denominadas leveduras secundárias (FALANGHE, 1975). Neste último caso encontram-se as leveduras recuperadas de cervejaria. As leveduras secas e leveduras de crescimento primário podem ser posteriormente processadas para produzir autolisados e extratos, enzimas e outros componentes bioquímicos.

A operação de secagem é de grande importância, devido à alta sensibilidade dos produtos microbiológicos às condições ambientes. A secagem deve impedir a proliferação de microrganismos e a maior parte das reações enzimáticas e químicas de degradação (SANTIN, 1996). Segundo Josic (1982) durante a secagem de biomassa para obtenção de levedura seca ativa, a temperatura não deve exceder 30°C.

Os procedimentos de secagem possíveis de serem aplicados às suspensões ou às massas de levedura são: atomização (spray-drying), secador a tambor (drum dryer), leito-fluidizado, liofilização e secador rotatório com recheio de inertes. A obtenção de levedura seca inativa pode ser conseguida por termolisação e posterior secagem ou unicamente por secagem. A termolisação consiste na inativação das células de leveduras pela ação do calor.

Na secagem em spray-drying, o material no estado líquido é atomizado por meio de um aparelho especial na câmara de secagem com introdução simultânea de ar quente de secagem. A umidade evapora rapidamente das gotas dispersas e um produto seco é obtido na forma de pó, grânulos ou aglomerados (STRUMILLO e KUDRA, 1986). Consiste na dispersão de um soluto mais ou menos concentrado em gotículas extremamente finas cedendo sua água a um gás seco e quente (figura 3).

FIGURA 3. PRINCIPAIS COMPONENTES DO SISTEMA DE SECAGEM SPRAY-DRIYNG



FONTE: Strumillo e Kudra (1986).

A secagem em tambor consiste na secagem por contato, de um fino filme de solução ou suspensão, em um cilindro aquecido interiormente por vapor a uma pressão de 7 a 10 atm, girando em torno de seu eixo inclinado. O produto seco é removido do cilindro sob a forma de película por meio de uma faca (NONHEBEL e MOSS, 1971).

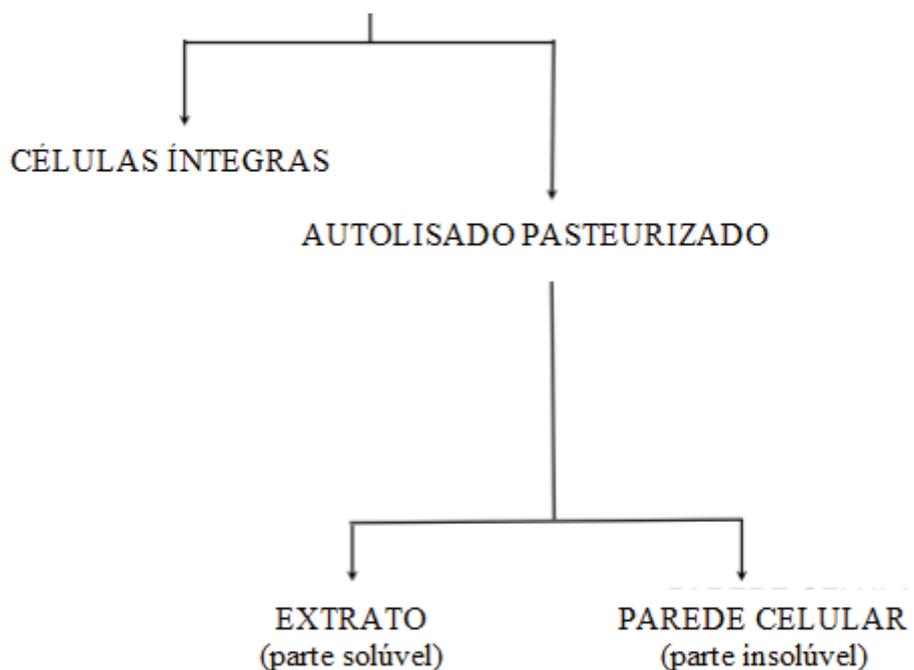
O secador em leito fluizado é o método de secagem baseado na passagem de ar quente através de um leito de material situado em uma grade de sustentação (distribuidor de gás) (SANTIN, 1996).

A secagem por liofilização consiste em congelar o produto a ser seco e em seguida o coloca em condições de temperatura e pressão tais que o gelo sublima, ocorrendo a dessecação primária. No final desta fase, a temperatura do produto se eleva permitindo a dessecção e a evaporação de uma parte de água ligada (SANTIN, 1996).

### 2.2.2.1. FRACIONAMENTO DOS COMPONENTES CELULARES

Considerando que a utilização das células íntegras é limitada pela baixa digestibilidade da parede celular (GALVEZ et al., 1990; VILELA et al., 2000), muitos estudos vêm explorando componentes isolados de leveduras como enzimas, proteínas, polissacarídeos e lipídios (BELEM, 1997; KOLLAR et al., 1992). Dessa forma, vários métodos de processamento da biomassa de levedura foram desenvolvidos para minimizar estes possíveis efeitos indesejáveis, originando derivados, como os extratos (VILELA et al., 2000). Ou seja, a partir do processamento das células íntegras da levedura são originados os seus derivados (figura 4).

FIGURA 4. ESQUEMA DA FABRICAÇÃO DE PRODUTOS DERIVADOS DA LEVEDURA *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*.



FONTE: Adaptado de Robak (2013) / Sgarbieri (1999).

Extratos de levedura representam concentrados de componentes solúveis obtidos das células de levedura que passaram pelo processo de autólise, hidrólise ou plasmólise (KNORR et al., 1979). Para esse processo pode utilizar ácidos ou enzimas para hidrolisar a célula (hidrolisados), ou por ruptura usando pressão osmótica expondo as leveduras a uma solução com elevada concentração de sais

(plasmolisados) (AMORIM & LOPES, 2009). Autolisados incluem todo o conteúdo da lise das células, abrangendo os componentes solúveis, proteínas solubilizadas e a parede celular (DZIEZAK, 1987). Os componentes hidrolisados são preparados enzimaticamente ou pelo aquecimento controlado das leveduras em meio ácido, enquanto que, por plasmólise, ocorre extração dos materiais celulares devido ao aumento da concentração de sal (NaCl), sacarose ou solventes orgânicos como etanol, acetato de etila, clorofórmio e outros (KOLLAR et al., 1992).

A Association of American Feed Control Officials (AAFCO), caracteriza oito produtos derivados de leveduras que são diferenciados de acordo com a cepa, a fração utilizada e características, como concentração de proteína, umidade e atividade fermentativa. Por este motivo, pode haver grande variação entre os produtos de diferentes empresas produtoras (SWANSON & FAHEY JÚNIOR, 2006). Atualmente, a obtenção de produtos derivados de leveduras não é apenas proveniente do aproveitamento de processos industriais, mas é realizada por indústrias que se dedicam exclusivamente à produção de cepas específicas para uso na alimentação humana e animal (ALLTECH, 2003).

#### 2.2.2.1.1. PROCESSO DE AUTÓLISE

Autólise da levedura de cerveja geralmente acontece no período pós-fermentação quando os nutrientes estão esgotados e a concentração de etanol é alta. Durante a autólise, muitas enzimas hidrolíticas são liberadas dos vacúolos, e essas enzimas degradam as organelas e componentes da membrana celular para formar buracos na membrana celular (XU et al. 2013), e uma variedade de componentes intracelulares, incluindo proteínas, ácidos graxos de cadeia curta e polissacarídeos são basicamente liberados para o meio de cultura ao mesmo tempo, através de processos de transporte passivos (ALEXANDRE & GUILLOUX-BENATIER 2006).

Esse processo pode ser tanto induzido quanto natural. O processo de autólise induzida é amplamente utilizada em indústrias de alimentos e cosméticos, em que esta técnica é usada para extrair nucleotídeos, aminoácidos e antioxidantes de células de levedura (RAKOWSKA et al. 2017; ZAMBONELLI et al. 2000). A autólise natural geralmente acontece durante a fermentação alcoólica e processo de

envelhecimento (ALEXANDRE & GUILLOUX-BENATIER 2006; CHARPENTIER & FEUILLAT 1993).

A autólise natural também pode ser causada pela presença de microrganismos que contaminam a cultura, promovendo micrólises nas leveduras e provocando a desestruturação da parede celular, o que leva ao rompimento das células. Terminando o processo de autólise das células, faz-se a centrifugação para a separação da fração solúvel (extrato de levedura) e insolúvel (parede celular).

Esse processo é uma alternativa para extração de proteínas de microrganismos (HISANO et., 2008). Neste processo o microrganismo consome suas reservas de glicogênio e, quando a glicose esgota, o citoplasma passa por mudanças irreversíveis, iniciando proteólises que resultam em acúmulo de polipeptídeos e aminoácidos. Durante a autólise também ocorre aumento da porosidade da parede celular e de sua permeabilidade, sendo este processo mediado por enzimas endógenas, que resulta em hidrólise de proteínas celulares e liberação de peptídeos e aminoácidos para o ambiente extracelular (ZHAO & FLEET 2003; POZO-DENGRÁ et al., 2006).

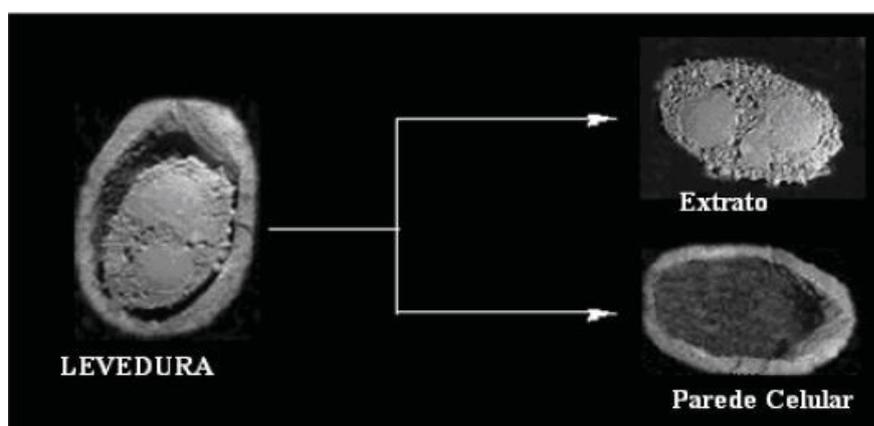
Com o desenvolvimento de tecnologias de microscopia eletrônica de varredura e transmissão, somos capazes de observar as mudanças na estrutura da parede celular da levedura durante a autólise. É possível ver claramente as duas camadas da parede celular no início da autólise (MARTINEZ-RODRIGUEZ et al., 2001; TUDELA et al., 2012). O interior da camada de parede celular é composto principalmente de  $\beta$ -glucanos e pode ser dividida em camada fibrosa e amorfa. Manoproteínas são encontrados principalmente na camada externa mais densa da parede celular (Osumi, 1998). No primeiro estágio da autólise, a estrutura fibrosa que consiste predominantemente de manoproteínas é visível (YAMAGUCHI et al., 2011), ao longo da autólise essa estrutura desaparece lentamente tornando-se mais difusa depois. Por outro lado, a matriz amorfa da camada interna parece ser degradada, resultando na fusão de ambas as camadas (TUDELA et al., 2012).

Para obter a levedura autolisada comercial, o processo pode ser induzido por mecanismos físicos, químicos e enzimáticos (BABAYAN et al., 1981). Os métodos físicos incluem aquecimento, radiação ultravioleta, ruptura mecânica com homogeneização em alta pressão ou com contas de vidro. Quando realizada por aquecimento, é necessária a aplicação cuidadosa do calor, para matar as células sem inativar as enzimas na levedura. Outra forma é a adição de indutores

químicos, que interrompem a estrutura da membrana por dissolução de lipídeos e proteínas e/ou modificam o pH ativando as proteases. Os agentes químicos podem ser detergentes, compostos orgânicos, hidróxido de sódio, ácido clorídrico ou sais inorgânicos. Alguns, além de induzir a autólise, previnem a deterioração por microrganismos (OLIVEIRA & GÓMEZ, 2005).

A parede celular é obtida a partir da produção de extrato de levedura. Após a autólise das células, a fração insolúvel é separada por centrifugação e secada (Figura 5).

FIGURA 5. OBTENÇÃO DO EXTRATO DE LEVEDURA APÓS SEPARAÇÃO DA PAREDE CELULAR.



FONTE: Alltech (2004).

#### 2.2.2.1.2. PAREDE CELULAR

Como um eucariota unicelular, a parede celular da levedura é uma importante estrutura subcelular que é necessária para manter as atividades vitais. A parede celular da levedura protege a célula do choque osmótico, tensões mecânicas e desempenha um papel importante ao estabelecer e manter a morfologia celular e a integridade estrutural (LEVIN, 2011). A parede celular está diretamente em contato com o meio externo, percebe as mudanças das condições ambientais, causando assim uma série de processos biológicos na célula para adaptar-se a essas mudanças.

A parede celular é porosa, com inúmeros poros distribuídos ao acaso. Estes apresentam pequena dimensão, funcionando como um filtro por onde passam apenas substâncias de peso molecular inferior a 4.500 daltons. Por isso, moléculas

de alto peso molecular, como proteínas, dextrana e outros polissacarídeos, entre outros, não são absorvidos pelas leveduras (HORII, 1980). Tanto a porosidade como a carga elétrica da parede podem regular o acesso de moléculas para o protoplasma (FLEET, 1991).

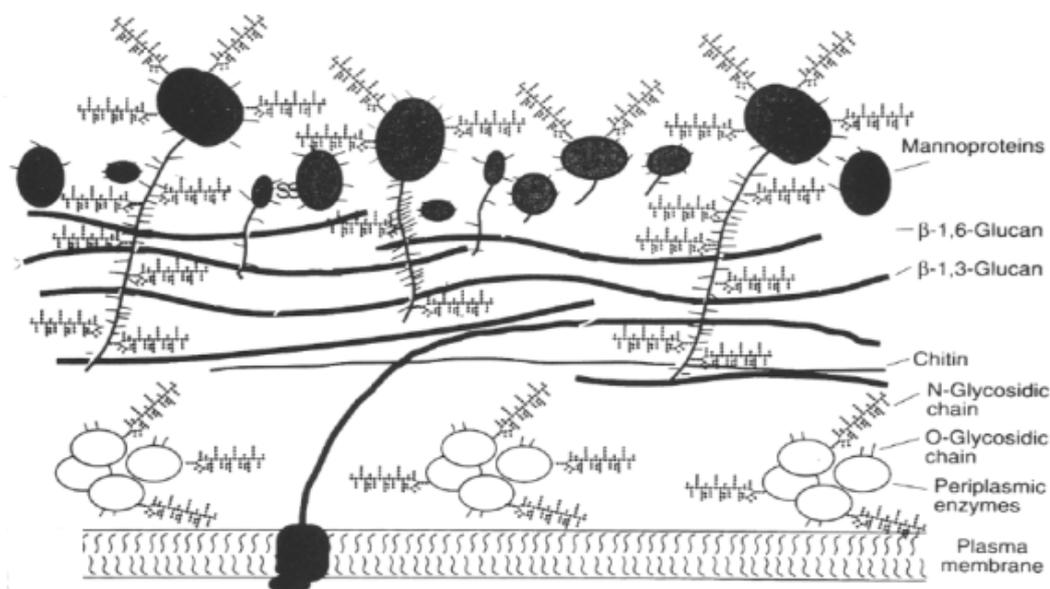
Polissacarídeos ocupam cerca de 90% das composições da parede celular e são esses componentes que fornecem às células de levedura elasticidade e ainda rigidez contra autólise (HURTADO-GUERRERO, et al. 2009;LATGE, 2007).

A parede celular de levedura é responsável por 15 a 30% de seu peso seco, dos quais 50-60% são  $\beta$ -glucanos e 35-40% são mananoproteínas (KLISet al. 2006), unidos por ligações covalentes. A porção de glucanos consiste de cadeias  $\beta(1,3)$ - e  $\beta(1,6)$ -.

Os  $\beta(1,3)$ -glucanos formam o esqueleto interno da célula, sendo os principais componentes estruturais responsável por sua força mecânica. Esta estrutura de glucanos é altamente ramificada e possui múltiplas extremidades não redutíveis que funcionam como locais de ligação para outros componentes da parede celular (KÓLLAR et al., 1997).  $\beta(1,6)$ -glucanos encontram-se principalmente fora da estrutura de sustentação e freqüentemente estão ligados por proteínas da parede celular. Manano polissacarídeos estão unidos a proteínas para formar uma camada de mananoproteínas localizada na superfície externa da parede celular da levedura.

Robinow & Johnson (1991) realizaram levantamento de diversos estudos sobre a composição da parede celular de leveduras e definiram que a parede celular da *Saccharomyces cerevisiae* é composta por 29% de glucanos, 30% de mananos, 13% de proteínas, 8,5% de lipídios e 1% de quitina. Essas estruturas são demonstradas pela figura 6.

FIGURA 6. REPRESENTAÇÃO DA PAREDE CELULAR DE LEVEDURA E SEUS PRINCIPAIS COMPONENTES.



Fonte: Osumi (1998).

Os  $\beta$ -D-glucanos e a quitina são responsáveis pela rigidez da parede celular e definem sua forma, por sua vez, as mananoproteínas e sua porção de carboidrato  $\alpha$ -D-manano são responsáveis pelo reconhecimento e interações célula-célula, interações com o meio-ambiente e determinam a especificidade imunológica de leveduras (GARCIA, 2008).

Segundo Fleet (1991), o conteúdo de lipídios da *Saccharomyces cerevisiae* é de 2-14% da parede celular, os fosfolipídios e esteróis são ausentes e os gliceróis estão presentes com predominância dos insaturados, como palmítico e oleico. Proteínas representam aproximadamente 13% da parede celular da levedura e representam um complexo de moléculas, podendo estar ligadas covalentemente a manana ou polímeros da parede. Na composição de aminoácidos da parede há predominância de ácido glutâmico e aspártico, serina, treonina, glicina, alanina, valina e prolina, com notável deficiência de aminoácidos sulfurosos.

Há um crescente interesse em derivados de levedura nas últimas décadas, e os polissacarídeos das paredes celulares de levedura foram provados ter efeitos saudáveis como alimentos funcionais e nutracêuticos (RAKOWSKA et al.2017). Além disso, esses polissacarídeos também podem ser aplicados na indústria cosmética devido às suas propriedades antioxidantes (BZDUCHA-WROBEL et al. 2014; LI et al. 2015; TANG et al. 2017).

Os polissacarídeos presentes na parede celular da levedura podem servir como fonte de fibra dietética (ABREU, 1994). Oligossacarídeos de manose, derivados de células de levedura (parede celular), têm proporcionado uma melhora na saúde e desempenho de animais monogástricos. Os mananoligossacarídeos podem bloquear a fixação de certas bactérias patogênicas na parede intestinal (NEWMAN, 1993).

As paredes celulares das leveduras podem agir também como substâncias seqüestrantes de micotoxinas, que se ligam às toxinas, promovendo um processo de detoxicação. Smith et al. (2004), estudando o efeito do uso de blends à base de glucanos em dietas contaminadas com *Fusarium* no consumo de ração e no ganho de peso de frangos de corte, verificaram que à medida que se aumentava o nível de contaminação da dieta, o ganho de peso e o consumo de ração caíram linearmente.

#### 2.2.2.1.3. EXTRATO DE LEVEDURA

O extrato de leveduras é originado da autólise da parede celular, liberando assim o conteúdo ou extrato celular (DAWSON, 2002). Portanto, é uma fonte protéica derivada de leveduras vivas, tendo como aminoácido predominante o ácido glutâmico, usado como agente flavorizante, o qual é tradicionalmente utilizado na alimentação humana e o inositol, um importante promotor de crescimento que estimula a síntese da biotina, vitamina essa que participa de uma série de reações de carboxilação (TIBBETTS, 2002; COSTA, 2004), e nucleotídeos.

O extrato de levedura, por não apresentar os componentes estruturais, apresenta maior valor proteico e menor teor fibroso que suas outras formas de utilização na nutrição animal (tabela 1).

TABELA 1. VALORES NUTRICIONAIS (%) DAS PRINCIPAIS FORMAS DE LEVEDURA UTILIZADAS NA NUTRIÇÃO ANIMAL

COMPONENTE	PRODUTOS			
	Células íntegras	Autolisado	Extrato	Parede
Proteína (%)	46,55	43,94	56,42	32,70
Nucleotídeos (%)	5,70	7,90	6,90	1,83
Lipídeos totais (%)	3,15	3,34	0,41	4,54
Cinzas	8,55	8,83	12,50	4,43
Fibra total	24,40	25,03	2,70	55,04
Fibra solúvel (%)	23,58	26,17	2,95	31,59
Fibra insolúvel (%)	1,99	0,29	0,00	23,45

FONTE: Adaptado de Vilela (2000) e Sgarbieri et al. (1999)

Vilela et al. (2000a), ao avaliarem a composição química do extrato de leveduras de cervejaria, encontraram 56,42% de proteína bruta. No entanto, a composição pode variar significativamente de acordo com as matérias-primas e os métodos de industrialização na obtenção do produto, uma vez que o extrato de leveduras pode ser originário da indústria cervejeira ou sucroalcooleira e pode passar por processo de secagem *spray dry* ou rolo rotativo (ALBINO et al., 1992).

#### 2.2.2.1.4. NUCLEOTÍDEOS

Os nucleotídeos consistem de uma base heterocíclica púrica ou pirimídica, um açúcar com cinco átomos de carbono e um ou mais grupos fosfato (LEHNINGER, 1991), que exercem efeitos fisiológicos importantes no organismo e atuam em diversas funções, como armazenamento de energia na forma de ATP, componente de coenzimas (NAD, FAD), mensageiros de processos celulares (AMPc), intermediários de reações de síntese de glicogênio, glicoproteínas e ácidos graxos, dentre outras (VILELA et al., 2000b; FEGAN, 2006). Dessa forma, os nucleotídeos dietéticos podem trazer benefícios, como modular o sistema imunológico, diminuindo assim a ocorrência de infecções por vírus e bactérias; auxiliar no crescimento e na recuperação de tecidos pela síntese de DNA e favorecer o crescimento e o desenvolvimento do intestino delgado (CARVER & WALKER, 1995; FEGAN, 2006).

Segundo Fegan (2006), o extrato de levedura de cepa específica apresenta, em sua composição, cerca de 5% de nucleotídeos, em sua maior parte na forma solúvel (mais facilmente absorvidos que na forma insolúvel) como as

nucleoproteínas. Os nucleotídeos, quando ligados, formam estruturas vitais como o RNA e o DNA. Esses são componentes sintetizados no organismo, não sendo, portanto, nutrientes essenciais. Na ausência de um aporte exógeno de nucleotídeos, o organismo ativa a rota de síntese de novo para garantir o suprimento adequado deste componente (SÁNCHEZ-POZO & GIL, 2002).

Carver e Walker (1995) estudaram o papel dos nucleotídeos na nutrição humana, avaliando os benefícios sobre o sistema imune, crescimento e desenvolvimento do intestino delgado, metabolismo de lipídios e função hepática. A importância dos nucleotídeos no metabolismo celular é indicada pela observação de que quase todas as células podem sintetizá-los de novo e a partir dos produtos de degradação de ácidos nucléicos, processo este denominado via de recuperação (VOET et al., 2000). As bases púricas e pirimídicas são constantemente formadas nas células durante a degradação metabólica dos nucleotídeos pela via de recuperação, sendo os aminoácidos importantes precursores (LEHNINGER, 1991).

Segundo Cosgrove (1998) e Schlimmeet al. (2000), a suplementação da dieta com nucleotídeos aumentou a absorção intestinal de ferro, influenciou positivamente a lipoproteína e o metabolismo das gorduras poliinsaturadas de cadeia longa, havendo efeito trófico na mucosa intestinal e fígado, e reduziu a incidência de diarreia em aves. A suplementação de nucleotídeos promove o desenvolvimento da vilosidade e da atividade enzimática intestinal (UAUY et al., 1990). Carver (1994) observou que uma dieta sem purina resultou na perda quase total da mucosa, e uma dieta sem nucleotídeos provocou reduções do DNA e do RNA do conteúdo protéico e das enzimas da membrana da mucosa intestinal.

Alguns tecidos do organismo, como o tecido linfóide e o intestino, possuem baixa capacidade biosintética, levando os nucleotídeos a se tornarem essenciais em situações específicas nas quais o organismo não consegue produzi-los em quantidades suficientes para a sua demanda. Como exemplo, podem-se citar fases de rápido crescimento, ocorrência de enfermidades, desafios vacinais, injúrias hepáticas e intestinais, entre outros (CARVER & WALKER, 1995; SÁNCHEZ-POZO & GIL, 2002). O papel que os nucleotídeos exercem sobre a imunidade ainda não está totalmente elucidado. No entanto, dados sugerem que a suplementação de nucleotídeos exógenos contribui para a produção de leucócitos devido ao pool de nucleotídeos disponíveis, com um rápido turnover celular. Outros dados sugerem aumento da atividade de células *natural killers*, produção de interleucina-2,

proliferação linfocítica e influência na produção de anticorpos, entre outros (CARVER & WALKER, 1995).

Vários autores notaram o impacto potencial dos nucleotídeos na imunidade. A investigação com animais demonstrou que a suplementação de nucleotídeos na dieta influenciou a função imune (CARVER ET AL., 1991; CARVER, 1994). Outros estudos fornecem informações adicionais sobre como a suplementação de nucleotídeos pode beneficiar a saúde. Carver (1994) sugeriu que uma fonte exógena de nucleotídeos via dieta pode otimizar a função dos tecidos de rápido crescimento. Metabolismo de nitrogênio melhorado também foi demonstrado (CARVER et al., 1991).

#### 2.2.2.1.5. ÁCIDO GLUTÂMICO

O extrato de levedura de cepa específica contém tanto peptídeos de cadeia curta e aminoácidos livres quanto o ácido glutâmico. Durante o processo de fabricação, o ácido glutâmico é liberado das frações protéicas e reage com o sódio formando o glutamato monossódico. Tais características do ingrediente lhe fornecem grande potencial no favorecimento da palatabilidade do alimento fabricado (ALLTECH, 2004).

Extratos de leveduras apresentam um alto teor de ácido glutâmico, sendo capaz de gerar o efeito umami (do japonês, delicioso), uma das cinco categorias de sensação de gosto, que propicia melhor palatabilidade do alimento aos animais. Os nucleotídeos acentuam os efeitos do ácido glutâmico utilizado para realçar os sabores (EURASYP, 2006).

Durante um estudo de ribonucleotídeos produzidos pela degradação bioquímica do RNA da levedura, KUNINAKA identificou o guanilato como importante substância umami (KUNINAKA, 1960 e 1964, SAKAGUCHI et al. 1958). YAMAGUCHI & NINOMIYA (2000) descreveram que a sensação umami difere dos demais sabores clássicos: doce, azedo (ácido), salgado e amargo. Entretanto, o conceito de sabor umami é ainda controverso (HENDRIKS, 2002; KVAMME, 2003). A seu favor registra-se: o sabor umami difere claramente de outros sabores básicos; não é reproduzido por nenhuma associação de estímulos básicos; é um gosto universal induzido por componentes de vários alimentos e estudos indicam que ele promove, em humanos e cães, estímulos eletrofisiológicos independentes dos outros sabores (KURIHARA & KASHIWAYANAGI, 2000). Este sabor é promovido pelo

glutamato e 5'-ribonucleotídeos, como inosinato e guanilato. Glutamato e nucleotídeos estão presentes em alguns alimentos e possuem importante função no sabor e aceitabilidade do alimento. Quando o glutamato e 5'-ribonucleotídeos são misturados juntos, a sensação umami é intensificada. (YAMAGUCHI & TAKAHASHI, 1984 e YAMAGUCHI & NINOMIYA, 2000).

Ácidos nucleicos polimerizados são uma fonte de 5'-nucleotídeos, dentre os quais guanosina-5-monofosfato (GMP) e inosina-5-monofosfato (IMP) que possuem a capacidade de enaltecer o gosto e o aroma dos produtos alimentares (BÉHALOVÁ et al., 1991). O GMP e o IMP têm a capacidade de sinergismo com o glutamato formado durante a autólise das células, aumentando sua capacidade enaltecadora de sabores e aromas, além de reduzir notas amargas no alimento.

### 2.2.3. COMPOSIÇÃO QUÍMICA

A composição química da biomassa de levedura depende de vários fatores entre os quais a qualidade do substrato, concentração de nutrientes e condições de cultivo. Outro fator importante, no caso de leveduras de fermentação, é o número de ciclos de produção que pode afetar sua composição química devido às sucessivas centrifugações e lavagens (HALÁSZ & LÁSZTITY, 1991).

A Tabela 2 mostra a composição de leveduras de cerveja e de destilaria de álcool.

TABELA 2. COMPOSIÇÃO QUÍMICA TÍPICA DE LEVEDURAS DE CERVEJARIA E DESTILARIA.

Componente (%)	Levedura de cerveja	Levedura de destilaria
Proteína (Nx5,8)	48,74	39,6
Nucleotídeos	7,6	9
Lipídios	3,33	0,5
Cinzas	8,55	4,6
Fibra total	24,4	31,4
Fibra solúvel	22,52	30,3
Fibra insolúvel	1,88	1,1

Fonte: Sgarbieri et al. (1999) e Yamada et al. (2003).

De forma geral estas apresentam cerca de 40 a 48% de proteínas sendo que o teor de nitrogênio na biomassa de fermentação alcoólica é mais baixo, em torno de 5 a 6%, em base seca (BUTOLO, 1996).

Os carboidratos constituem cerca de 45 a 55% do peso seco da biomassa, sendo representados, em média, por 33% de trealose, 27% de glucanas, 21% de mananas e 12% de glicogênio. A fração de extrato etéreo é baixa e compreende, aproximadamente, proporções iguais de triglicerídios e fosfatídeos (SARWAR et al., 1985).

Os ácidos nucléicos são constituídos, em sua maior parte, por RNA e variam quantitativamente de acordo com gênero, espécie e condições de crescimento. De forma geral, situam-se entre de 8 a 12% (BUNKER, 1978).

As leveduras são pobres em vitamina A, mas ricas em vitaminas do complexo B em proporções que variam em cada espécie e em função das condições de fermentação (CAR, 1996).

O teor de minerais pode atingir até 10% do peso seco da célula, sendo os principais componentes o fósforo, potássio, cálcio, magnésio e selênio (HALÁSZ & LÁSZTITY, 1991).

#### 2.2.4. USO DA LEVEDURA

Todo o resíduo proveniente de processos fermentativos contribui para a elevação da carga orgânica do efluente. Por isso, o lançamento direto ao ambiente, sem o devido tratamento dos esgotos (domésticos ou industriais), causa uma série de inconvenientes, tais como aumento da turbidez e pH das águas, depósitos de areia no leito dos rios e contaminação da água com substâncias tóxicas, vírus e bactérias patogênicas, odores nocivos à população, mortandade de peixes, contaminação do lençol subterrâneo e problemas de saúde (MELO, 2010). Dessa forma, houve o direcionamento de todo esse resíduo para a nutrição humana e animal.

Atualmente, o aproveitamento de coprodutos agroindustriais na alimentação animal tem-se mostrado uma alternativa economicamente viável e que visa a redução do impacto ambiental, além de proporcionar maior variedade de opções para o nutricionista durante a formulação de rações, desenvolvendo dietas com menor custo e/ou melhores balanceadas do ponto de vista nutricional (VASCONCELLOS, 2010). No entanto, o uso destes ingredientes na alimentação animal depende basicamente do conhecimento sobre sua composição química, dos

fatores limitantes, benefícios à saúde, entre outros, visando manter os níveis adequados de inclusão na dieta.

Na alimentação de animais de produção, assim como para animais de companhia, busca-se promover efeitos benéficos com o uso de derivados de levedura, como palatabilidade, servir como fonte de nutrientes, melhorar a digestibilidade e a saúde dos animais (SWANSON & FAHEY JÚNIOR, 2006).

O papel das leveduras na nutrição animal, inicialmente, era servir como suplemento nutricional, na proporção de 0,5-1,5%, para fornecimento de vitaminas do complexo B. Alguns estudos avaliaram a utilização da levedura de cana-de-açúcar como fonte protéica na dieta de diferentes espécies de animais como suínos, frangos de corte, novilhos, equinos, peixes e cães (MOREIRA et al, 2002; CASTILHO, 2004; BOONNOP et al 2009, PRADO et al, 2000; PEREIRA, 2001; FURTADO et al, 2010; PEZZATO, 2006; WATANABE et al, 2010; MARTINS, 2009). Os resultados implicam em melhoramento do teor nutricional da ração, especialmente em proteínas, e redução de custos na produção da ração animal, devido a substituição de alimentos base das dietas, como farelos de cereais.

As leveduras são classificadas como alimento funcional por trazer benefícios adicionais aos da nutrição básica, pois são ricas em proteínas e carboidratos, vitaminas do complexo B, enzimas, ácidos graxos de cadeia curta e minerais quelatados. Destacam-se pelo alto teor de lisina, riqueza em leucina e valina, teores adequados de triptofano e treonina (SGARBIERI et al, 1999; FURUYA et al, 2000); porém limitado quanto a aminoácidos sulfurados, metionina e cisteína, sendo estes os fatores limitantes (FURUYA et al, 2000). No entanto, os estudos de Sgarbieri et al (1999) e Yamada et al (2003) não evidenciaram deficiência em aminoácidos sulfurados. Além disso, podem possuir propriedades prébióticas e probióticas, oferecer benefício ao sistema imunológico e melhorar a palatabilidade dos alimentos (FLEMMING, 2005), devido ao composto presente nas leveduras que caracteriza o sabor *umami*.

Os oligossacarídeos presentes nas leveduras são considerados como tendo atividade prebiótica. A principal forma de ação dos prebióticos é sobre a modulação benéfica da microbiota nativa presente no hospedeiro (MACARI & MAIORKA, 2000), estimulando o crescimento e/ou ativando o metabolismo de algum grupo de bactérias do trato intestinal. A alteração da microbiota intestinal consequente ao uso de prebióticos, pode ocorrer basicamente por duas maneiras: pelo fornecimento de

nutrientes para as bactérias desejáveis e por exclusão competitiva. Para que as bactérias indesejáveis consigam colonizar o trato intestinal e criar uma condição de doença precisam inicialmente aderir-se a superfície epitelial dos enterócitos. Esta adesão ocorre através das fimbrias bacterianas, que reconhecem determinados açúcares da superfície do epitélio intestinal. Portanto, se as bactérias se ligarem a um açúcar ou oligossacarídeo dietético, e não à mucosa intestinal, irão passar com a digesta sem causar transtornos para os animais (SILVA, 2006).

Os mananoligossacarídeos (MOS) são capazes de induzir a ativação de macrófagos, por ocupar sítios receptores de manose do macrófago nas glicoprotéínas da superfície celular. Uma vez que três ou mais destes sítios estejam ocupados, inicia-se uma reação em cascata que resulta em ativação dos macrófagos e liberação de citocinas, o que caracteriza ativação da resposta imune adquirida (COLLET, 2000). O bloqueio dos sítios de adesão de bactérias resulta em melhora na imunidade por permitir que os patógenos sejam apresentados às células imunes como antígenos atenuados (FERKET, 2004). Outra forma de atuação do MOS é através do aumento da uniformidade e altura das vilosidades, melhorando a integridade intestinal e, portanto, a absorção dos nutrientes (LODDI, 2003). Estimulam, também, o crescimento das bactérias produtoras de ácido láctico. Estas populações bacterianas produzem substâncias com propriedades imunoestimulatórias, por exemplo lipopolissacarídeos, peptidoglicanas e ácidos lipoteicóicos. Tais substâncias interagem com o sistema imune em vários níveis, incluindo produção de citocinas, proliferação de células mononucleares, fagocitose macrófágica e indução na síntese de grandes quantidades de imunoglobulinas, em especial as imunoglobulinas de classe A (YASUI e OHWAKI, 1995; BRANDTZAEG, 1998; MACFARLANE e CUMMINGS, 1999).

Os estudos em ratos com leveduras e seus derivados foram feitos com o intuito de verificar a viabilidade destes ingredientes na alimentação humana. Vilela et al. (2000a) avaliaram a digestibilidade verdadeira da proteína em ratos alimentados com dietas contendo, como fonte protéica a caseína, células íntegras de levedura, hidrolisado total de levedura e extrato de levedura provenientes de cervejaria. Os resultados encontrados foram uma semelhança estatística para as dietas de caseína e extrato de levedura, com valores de 95,89% e 95,38%, respectivamente e superiores às dietas de células íntegras (83,03%) e de hidrolisado total de levedura (86,49%).

Yamada et al. (2003) realizaram estudo semelhante em ratos, mas com leveduras obtidas de destilarias de álcool e verificaram valores de digestibilidade verdadeira da proteína para a levedura íntegra, hidrolisado total, extrato e caseína de 68,0%, 76,6%, 91,0% e 93,5%, respectivamente. Observaram, dessa forma, em comparação ao estudo de Vilela et al. (2000a), uma diferença acentuada na digestibilidade da proteína das células íntegras de levedura provenientes de destilarias de álcool e cerveja, evidenciando a importância do processamento no perfil nutricional do ingrediente. Vilela et al. (2000b) trabalharam avaliando o efeito de substituições de 4%, 8% e 12% de cada um dos ingredientes (células íntegras, hidrolisado total e extrato de levedura) em relação a uma dieta padrão à base de caseína em ratos. Não foi verificada diferença estatística para nenhum dos parâmetros avaliados: consumo de alimento, proteína ingerida e ganho de peso. No entanto, os autores relataram uma tendência de melhoria no ganho de peso dos animais, à medida que a concentração do hidrolisado e do extrato de levedura aumenta. Os autores sugerem que a existência de fatores funcionais, como os nucleotídeos e os peptídeos nos ingredientes, pode promover um aumento na eficiência da dieta.

A utilização de fontes protéicas de alta digestibilidade em suínos tem destaque, principalmente, para os animais na fase de desmama, pela necessidade de ingredientes de alta digestibilidade e que atenuem a fase crítica de adaptação intestinal do leitão à dieta. Dessa forma, trabalhos são realizados para a avaliação de novas fontes protéicas, dentre elas o extrato de levedura (SCANDOLERA et al., 2008). Tibbetts (2004) concluiu que o extrato de levedura de cepa específica como fonte de nucleotídeos é uma alternativa promissora para sistemas de produção, melhorando o desempenho e a saúde animal. Nos estágios iniciais de produção em suínos são evidenciadas melhoras no crescimento, no consumo de ração e na eficiência alimentar, além de melhoras na morfologia intestinal e na saúde animal, a curto e a longo prazos.

Rutz et al. (2006) trabalharam, em aves de corte, com uma dieta basal e duas dietas fornecendo extrato de levedura de cepa específica, no período de 1 a 7 dias, para um grupo de animais e nos períodos de 1 a 7 dias e de 38 a 42 dias, para o outro grupo. Estes autores verificaram que a utilização do extrato de levedura de cepa específica em aves nas fases de 1 a 7 dias promoveu maior consumo de ração até os 14 dias de idade. Um dos motivos levantados pelos autores foi o incremento

na palatabilidade, devido à existência de glutamato e de ácidos nucleicos. Um maior ganho de peso foi observado nas dietas contendo o extrato de levedura de cepa específica e maior peso final no grupo de animais que receberam o produto no início e ao final do ciclo de vida. Tais fatores podem ser atribuídos à ação de nucleotídeos no favorecimento da saúde intestinal e à melhora na relação vilosidade:cripta, acarretando aumento na capacidade de digestão e absorção de nutrientes.

Os estudos utilizando extrato de levedura para animais de companhia abrangem características de digestibilidade e, principalmente, de palatabilidade para estas espécies (SWANSON & FAHEY JÚNIOR, 2006). Estudo de digestibilidade em cães utilizando o ingrediente extrato de levedura de cepa específica, pela metodologia de substituição de Matterson et al. (1965), revelou valores de coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca de 70,59%, matéria orgânica de 71,49%, proteína bruta de 72,44% e energia bruta de 69,04%. A avaliação da qualidade fecal demonstrou que a inclusão de 30% de extrato de levedura de cepa específica na dieta tornou as fezes enegrecidas e com pior escore fecal que a ração referência, indicando a necessidade de se caracterizar um limite de inclusão (TESHIMA et al., 2007). Teshima et al. (2007), também realizaram ensaio de palatabilidade, avaliando uma dieta controle versus uma dieta com 2% de extrato de levedura de cepa específica em rações extrusadas para cães. Os resultados demonstraram haver preferência pela dieta contendo o extrato de levedura de cepa específica, em uma proporção de 67%:33%. O autor argumenta que tal preferência pode ser atribuída à presença de ácido glutâmico no extrato de levedura de cepa específica que sensibiliza os receptores umami e torna a dieta mais palatável. Em um estudo realizado pelo Dr. Wouter Hendriks, na Universidade de Massey (Nova Zelândia), o extrato de levedura de cepa específica aumentou a palatabilidade para felinos com a inclusão de 0,3% no leite e em snacks secos, com efeito positivo sobre o consumo ( $p < 0,0001$ ) (ALLTECH, 2003).

#### 2.2.5. LEVEDURA COMO INGREDIENTE PROTEICO

O valor nutritivo da levedura de cerveja depende de fatores como o substrato utilizado, o tratamento da massa fluida, as concentrações de sais e o meio de cultura de onde provém a levedura (BUTOLO, 1996). A qualidade nutricional ou biológica de uma proteína reflete a biodisponibilidade de aminoácidos essenciais, e na presença

destes, em quantidades necessárias ao crescimento e à manutenção do organismo (COZZOLINO, 2007). O valor nutritivo, ou biológico, das proteínas da levedura é considerado bom, representando de 70-85% (CABALLERO-CÓRDOBA et al., 1997). Equiparando-se às melhores proteínas de origem vegetal, como a soja, e constituindo-se em um excelente complemento para alimentos formulados à base de cereais (KINSELLA, 1987).

O fator limitante são os aminoácidos sulfurados, metionina mais cistina (KINSELLA & SHETTY, 1978). Entretanto, a quantidade equilibrada de aminoácidos essenciais aproxima-se dos valores recomendados pelo padrão de referência da FAO, destacando-se o fato de apresentar alto teor de lisina, treonina e triptofano (HALÁSZ & LÁSZTITY, 1991).

A tabela 3 apresenta os valores de aminoácidos presentes no conteúdo celular de leveduras, encontrados por alguns autores.

TABELA 3. VALORES DE AMINOÁCIDOS PRESENTES NO CONTEÚDO CELULAR DE LEVEDURAS (G/16G N) CITADOS NA LITERATURA.

Aminoácidos (g/16g N <sub>2</sub> )	Pádua (1997)	Peppler (1970)	NRC (1983)	Miyada (1987)	Embrapa (1991)
Triptofano	1,40	-	0,55	0,81	0,52
Arginina	4,97	-	2,35	3,40	1,36
Isoleucina	5,08	-	2,37	4,19	1,48
Leucina	7,83	-	3,45	6,16	2,17
Lisina	8,29	-	3,33	5,72	2,07
Metionina	2,52	1,63	0,79	1,18	0,43
Cistina	0,85	1,60	0,53	0,84	0,39
Fenilalanina	4,81	-	1,96	3,16	1,18
Treonina	5,75	5,20	2,27	4,41	1,58
Valina	5,36	6,67	2,52	4,46	1,78
Histidina	2,47	-	1,17	-	0,69
Alanina	5,97	-	-	5,56	2,00
Ácido Aspártico	9,18	-	-	9,31	3,21
Ácido Glutâmico	10,37	-	-	11,68	3,42
Glicina	4,34	-	1,87	3,41	1,12
Prolina	3,57	-	-	2,88	1,04
Serina	2,55	-	-	4,59	1,68
Tirosina	3,56	4,87	1,60	-	0,88

FONTE: Adaptado de Pádua (1997).

Peppler (1970) analisou, ainda, a composição de nitrogênio da proteína de levedura, verificando nesta 80% do nitrogênio como aminoácidos, 12% como ácidos nucleicos e 8% como amônia e enzimas.

A maior parte das proteínas da levedura está relacionada com os MOS, o que forma o complexo mananoproteínas. O extrato de levedura é um ingrediente proteico que apresenta peptídeos e aminoácidos livres, decorrente da hidrólise sofrida pela proteína durante o processo de fabricação, o que pode favorecer a digestibilidade da proteína.

As células de levedura apresentam teor proteico de 45% a 65%, sendo que essa composição varia por diversos motivos, tais como a natureza do substrato e espécie da levedura. Os aminoácidos encontrados em concentração mais elevada são o glutâmico, aspártico, leucina, alanina e lisina (SGARBIERI et al., 1999). Porém, possuem menor quantidade de aminoácidos sulfurados, como metionina e a cisteína (ROEPCKE, 2007). Por isso, os produtos de levedura podem ser utilizados

para misturas com cereais, para completar aminoácidos essenciais que geralmente são deficientes em grãos de cereais utilizados na nutrição animal (SGARBIERI et al., 1999).

Esse ingrediente proteico apresenta uma característica peculiar em relação aos outros ingredientes. Apresenta, majoritariamente, peptídeos e aminoácidos livres, devido ao processamento que sofreu durante a fabricação, podendo este fator trazer melhoras na digestibilidade da proteína. Devido ao trato intestinal curto e à velocidade do trânsito intestinal dos carnívoros, a digestibilidade e a absorção podem ser aumentadas quando aminoácidos e peptídeos prontamente disponíveis são oferecidos na dieta (ALLTECH, 2003).

Poucos são os trabalhos que avaliaram a digestibilidade dos ingredientes e de dietas contendo leveduras para cães. Martins (2009) encontrou coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) para a Proteína Bruta (PB) de 86,18% na levedura de cervejaria autolisada e 81,45% na inclusão de levedura de cana de açúcar autolisada. Por sua vez, Teshima et. al (2007), avaliando a levedura em dieta para cães, encontrou CDA da PB inferior, 72,44%.

### **3 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

As leveduras, sejam elas provenientes do processamento da cana de açúcar ou da indústria cervejeira, apresentam um perfil nutricional interessante para sua inclusão na formulação de dietas para cães. Sua parede celular apresenta características interessantes que beneficiam a microbiota intestinal, favorecendo a integridade da mucosa intestinal, contribuindo para saúde de todo o meio. Por sua vez, o conteúdo celular, tem propriedades nutricionais que permitem sua utilização como fonte proteica, além de ser altamente palatável.

## **CAPÍTULO II – AVALIAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE APARENTE, CARACTERÍSTICAS FECAIS E PALATABILIDADE DO EXTRATO DE LEVEDURA AUTOLISADA EM DIETAS PARA CÃES**

### **RESUMO**

Objetivou-se avaliar o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes e energia metabolizável (EM) do extrato de levedura autolisada em dietas para cães. Além disso, avaliou-se as características fecais e a preferência alimentar de dietas contendo levedura. Foram avaliadas quatro dietas contendo 0%; 4%, 8% e 12% de extrato de levedura autolisada, incluída na massa em substituição à fórmula da dieta 0%. Para digestibilidade e características fecais, foram utilizados 12 cães adultos da raça Beagle, distribuídos em blocos (períodos) ao acaso. Os cães foram alimentados durante 10 dias com as dietas experimentais, durante dois períodos, totalizando 6 repetições. No teste de preferência alimentar foram utilizados 16 cães, sendo comparada as dietas: 0% vs. 4% levedura. O teste foi realizado por um período de 2 dias, totalizando 32 repetições. Como resultados, o extrato de levedura autolisada apresentou CDA da matéria seca de 77,3% e da proteína bruta (PB) de 55,7%, do extrato etéreo (EE) de 73,8% e EM de 4947,3 kcal/kg. Houve redução linear no CDA da PB e do EE das dietas com a inclusão de levedura ( $P < 0,05$ ). Os demais CDA e a EM das dietas não diferiram ( $P > 0,05$ ). Houve aumento linear dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) totais e redução linear no pH fecal com a inclusão de levedura nas dietas ( $P < 0,05$ ). Para a razão de ingestão, os cães consumiram maior quantidade da dieta com 4% de inclusão de levedura ( $P < 0,01$ ). A inclusão do extrato de levedura autolisada não altera a maioria dos CDA e a EM das dietas e seus resultados de AGCC e pH mostram um possível efeito prebiótico, com potencial efeito benéfico à saúde intestinal. Além disso, sua inclusão aumenta a palatabilidade da dieta. Entretanto, os crescentes níveis de inclusão reduzem a digestibilidade aparente da PB.

**Palavras-chave:** Fonte proteica microbiana. Preferência alimentar. Funcionalidade intestinal. Ácidos graxos de cadeia curta.

## **EVALUATION OF APPARENT DIGESTIBILITY, FAECAL CHARACTERISTICS AND PALATABILITY OF BREWER'S AUTOLYSED YEAST EXTRACT IN DIETS FOR DOGS**

### **ABSTRACT**

The objective of this study was to evaluate the apparent digestibility coefficient (ADC) of nutrients and metabolizable energy (ME) of the yeast extract autolysed in diets for dogs. In addition, fecal characteristics and feed preference of diets containing yeast were evaluated. Four diets were evaluated containing 0%, 4%, 8% and 12% of autolysed yeast extract, included in the body instead of the 0% diet formula. For digestibility and fecal characteristics, 12 adult beagle dogs were randomly distributed in blocks (periods). The dogs were fed for 10 days with the experimental diets, during two periods, totaling 6 replicates. In the food preference test, 16 dogs were used, and the diets were compared: 0% vs. 4% yeast. The test was performed for a period of 2 days, totaling 32 replicates. As a result, the autolysed yeast extract had dry matter CDA of 77.3% and crude protein (CP) of 55.7%, ether extract (EE) of 73.8% and ME of 4947.3 kcal/kg. There was a linear reduction in the ADC of the CP and EE of the diets with the inclusion of yeast ( $P < 0.05$ ). The other ADC and ME of the diets did not differ ( $P > 0.05$ ). There was a linear increase of total short chain fatty acids (SCFA) and linear reduction in fecal pH with the inclusion of yeast in the diets ( $P < 0.05$ ). For the intake ratio, dogs consumed more of the diet with a 4% inclusion of yeast ( $P < 0.01$ ). The inclusion of the autolysed yeast extract does not alter the majority of the ADC and the ME of the diets and their results of SCFA and pH show a possible prebiotic effect, with a potential beneficial effect on the intestinal health. In addition, its inclusion increases the palatability of the diet. However, increasing inclusion levels reduce the apparent digestibility of PB and EE.

Keywords: Microbial protein source; Food Preference; Intestinal health; Short-chain fatty acids

## 1. INTRODUÇÃO

O mercado pet absorve ampla gama de ingredientes e coprodutos, empregados na produção de alimentos variados, com densidades nutricionais e digestibilidades distintas (Carciofi, 2008). Vê-se no mundo uma explosão do número de marcas de dietas comerciais prontas para o consumo, com formulações cada vez mais sofisticadas e específicas (Steiff & Bauer, 2001). Com isso, os nutricionistas têm buscado fontes altamente biodisponíveis e, além disso, apresentem benefícios sobre o animal ou dieta, como alternativas às fontes convencionais em dietas para cães. Dentre elas, encontram-se as leveduras. Esse interesse se deve, também, pelo crescimento contínuo de indústrias de fermentação que produzem a biomassa de microrganismo como coproduto (FERREIRA et al., 2009), podendo substituir proteínas convencionais de alto custo (YAMADA, 2010).

A partir da levedura, variadas formas, com diferentes finalidades, podem ser incorporadas na dieta, seja ela viva ou inativa, de forma íntegra ou a separação dos seus componentes, como a utilização da parede ou do extrato celular. Para obter esses produtos, a levedura precisa passar por um processo de autólise, onde há o rompimento da parede celular através de enzimas ou ácidos liberando assim o conteúdo ou extrato celular (DAWSON, 2002).

O extrato celular é uma fonte protéica derivada de leveduras vivas, tendo como aminoácido predominante o ácido glutâmico, usado como agente flavorizante, que possui efeito positivo sobre a palatabilidade da dieta (TIBBETTS, 2002, COSTA, 2004). Vilela, Sgarbieri e Alvim (2000) mostraram que a composição de aminoácidos essenciais da proteína de levedura proveniente de cervejaria não apresentou nenhuma deficiência em relação ao padrão de referência da FAO/OMS (1985), e o valor nutritivo das proteínas representaram de 80 a 85% do valor biológico da caseína, mostrando ser de boa qualidade nutricional.

Com base nessas informações, o presente estudo tem o objetivo de avaliar a digestibilidade aparente dos nutrientes e energia do extrato de levedura autolisada em cães. Além disso, objetiva-se avaliar as características fecais, produtos de fermentação e preferência alimentar das dietas contendo o extrato de levedura autolisada em cães.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi aprovado pela Comissão de ética no uso de animais do setor de Ciências agrárias da Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, Brasil (054/17).

### **2.1. DIETAS EXPERIMENTAIS**

Foram avaliadas quatro dietas contendo crescentes níveis de inclusão de extrato de levedura autolisada: 0, 4, 8 e 12%, em substituição à formulação da dieta controle (0%). Os ingredientes das dietas e a composição química das dietas e do extrato de levedura autolisado encontra-se na estão apresentados na Tabela 4.

TABELA 4. INGREDIENTES E COMPOSIÇÃO QUÍMICA ANALISADA DA LEVEDURA E DAS DIETAS EXPERIMENTAIS

<b>Ingredientes</b>	0	4%	8%	12%	
Milho	35,65	34,22	32,80	31,37	
Farinha de Vísceras de aves	27,65	26,54	25,44	24,33	
Farelo de Soja	20,50	19,68	18,86	18,04	
Óleo de vísceras de aves	5,00	4,80	4,60	4,40	
Palatabilizante líquido	1,00	0,96	0,92	0,88	
Farelo de Gluten de milho 21%	3,56	3,42	3,28	3,13	
Farinha de peixe	2,00	1,92	1,84	1,76	
Farelo de trigo	2,00	1,92	1,84	1,76	
Polpa de Beterraba	1,00	0,96	0,92	0,88	
Cloreto de sódio	0,43	0,41	0,40	0,38	
Premix	0,40	0,38	0,37	0,35	
Acidificante	0,20	0,19	0,18	0,18	
Acido propiônico	0,18	0,17	0,17	0,16	
Hexametáfosfato de sódio	0,10	0,10	0,09	0,09	
Cloreto de Colina	0,10	0,10	0,09	0,09	
DL- Metionina	0,10	0,10	0,09	0,09	
Adsorvente de micotoxinas	0,05	0,05	0,05	0,04	
Antioxidante	0,04	0,04	0,04	0,04	
Suplemento mineral orgânico	0,04	0,04	0,04	0,04	
Extrato de levedura	0,00	4,00	8,00	12,00	
<b>Composição química</b>					
Item	Levedura	Dietas contendo levedura (%)			
		0	4	8	12
Matéria Seca	93,17	89,06	91,26	92,18	92,99
Matéria mineral	7,53	8,34	8,13	8,02	7,97
Proteína Bruta	34,65	28,76	29,16	29,17	29,48
Extrato etéreo ácido	3,44	14,91	15,03	14,49	13,98
Energia Bruta	5216,3	4868,7	4872,3	4952,3	5004
Fibra bruta	0,76	3,12	2,60	2,52	2,51
Nitrogênio Não-Proteico	3,77	1,48	1,53	1,58	1,62
Ca	0,21	2,04	2,03	2,04	1,97
P	1,08	1,31	1,28	1,29	1,26

FONTE: O autor (2018).

## 2.2. EXTRATO DE LEVEDURA

O extrato de levedura utilizado apresenta forma de pó de coloração bege a marrom claro, composto por extrato de levedura de cerveja autolisada. As leveduras

utilizadas foram obtidas de estabelecimento comercial. O teor dos aminoácidos do extrato de leveduras autolisada está apresentado na tabela 5, segundo dados disponibilizados pelo fabricante do produto.

TABELA 5. PERFIL DE AMINOÁCIDOS DO EXTRATO DE LEVEDURA

Níveis de Aminoácidos (%)	
Ácido Aspártico	3,93
Ácido Glutâmico	5,13
Alanina	2,53
Arginina	2,35
Cistina	0,33
Fenilalanina	1,53
Glicina	2,11
Histidina	0,83
Isoleucina	1,61
Leucina	2,63
Lisina	2,60
Metionina	0,57
Prolina	1,78
Serina	2,09
Taurina	0,06
Tirosina	1,22
Treonina	1,72
Triptofano	0,42
Valina	1,90

Fonte: O autor (2018)

## **2.3. EXPERIMENTO I: DIGESTIBILIDADE APARENTE E CARACTERÍSTICAS FECAIS**

### **2.3.1. ANIMAIS E INSTALAÇÕES**

Foram utilizados 12 cães adultos (seis machos e seis fêmeas) da raça Beagle com dois anos de idade, pesando  $10,3 \pm 1,07$  kg. Os animais foram alojados em

baías de alvenaria com solário de 2 x 5 m. Os cães foram vacinados, desverminados e previamente submetidos à exames clínicos que atestaram seu estado de higidez.

### 2.3.2. ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE

O ensaio de digestibilidade foi conduzido pelo método da coleta total de fezes, considerando as recomendações da AAFCO (2003). As dietas foram oferecidas por um período de adaptação de cinco dias seguidos por cinco dias de coleta total de fezes, durante cada período, totalizando dois períodos com 10 dias cada.

Os alimentos foram oferecidos duas vezes ao dia (8:30 e 16:00 horas), em quantidade suficiente para atender as necessidades de energia metabolizável (NEM) de cada animal segundo o NRC (2006). A água foi fornecida à vontade.

As fezes foram colhidas e pesadas duas vezes por dia e armazenadas em potes plásticos individuais, previamente identificados, tampados e armazenados em freezer a -21°C, para análises posteriores. Ao final de cada período de coleta, o composto de fezes de cada animal foi seco em estufa a 55°C (320-SE, Fanem, São Paulo, Brazil), por 72 horas. As fezes foram moídas com peneiras de crivos de 1 mm em moinho de martelos Willey (Arthur H. Thomas Co., Philadelphia, PA).

Assim como as dietas, as fezes foram submetidas a análises químicas de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato etéreo em hidrólise ácida (EEA), segundo a AOAC (1995). A energia bruta foi determinada em bomba calorimétrica. Com base nos resultados laboratoriais obtidos foram calculados os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes e energia e a energia metabolizável (EM) das dietas, segundo a AAFCO (2004):

$$\text{CDA (\%)} = \left[ \frac{\text{g nutriente ingerido} - \text{g nutriente excretado}}{\text{g nutriente ingerido}} \right] \times 100.$$

$$\text{EM (kcal.g}^{-1}\text{)} = \left\{ \text{kcal.g}^{-1} \text{ EB ingerida} - \text{kcal.g}^{-1} \text{ EB excretada nas fezes} - \left[ (\text{g PB ingerida} - \text{g PB excretada nas fezes}) \times 1,25 \text{ kcal.g}^{-1} \right] \right\} / \text{g ração ingerida}.$$

Para determinação da digestibilidade isolada dos nutrientes do extrato de leveduras foi utilizada a equação:

$$\text{CDADTi (\%)} = \text{CDAT} + (\text{CDAB} - \text{CDAT}) \times \text{CONTB}, \text{ na qual:}$$

$$\text{CDADTi} = \text{CDA (\%)} \text{ do nutriente na dieta teste } i;$$

CDAB= CDA (%) do nutriente na dieta basal;

CDAT = CDA (%) do nutriente no ingrediente teste;

CONTB= contribuição (%/100) do nutriente da dieta basal na dieta teste.

### 2.3.3. CARACTERÍSTICAS FECAIS

As características das fezes foram avaliadas pelo teor de matéria seca (MSf), escore fecal, concentração de amônia, pH fecal, ácido siálico e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ramificada (AGCR).

O escore fecal foi avaliado sempre pelo mesmo pesquisador, atribuindo-se notas de 1 a 5, sendo: 1 = fezes pastosas e sem forma; 2 = fezes macias e mal formadas; 3 = fezes macias, formadas e úmidas; 4 = fezes bem formadas e consistentes; 5 = fezes bem formadas, duras e secas, de acordo com CARCIOFI et al. (2009).

O pH fecal foi mensurado por meio de um pHmêtro digital (331, Politeste Instrumentos de Teste Ltda, São Paulo, SP, Brasil) utilizando 3,0 g de fezes frescas diluídas com 30 mL de água destilada. A concentração de amônia nas fezes foi determinada de acordo com Brito et al. (2010). Ambos mensurados em fezes coletadas no máximo 15 minutos após a defecação.

Para determinação dos AGCC e AGCR, as fezes dos animais foram coletadas frescas, no máximo 15 minutos após a defecação. Em um recipiente plástico devidamente identificado e com tampa, 10 g de amostra de fezes foram pesadas e misturadas com 30 mL de ácido fórmico 16%. Esta mistura foi homogeneizada e armazenada em geladeira a 4°C por um período de 3 a 5 dias. Após, estas soluções foram centrifugadas a 5000 rotações por minuto em centrífuga (2K15, Sigma, Osterodeam Hans, Alemanha) por 15 minutos. Ao final da centrifugação o sobrenadante foi separado e submetido a nova centrifugação. Cada amostra passou por três centrifugações e ao final da última, parte do sobrenadante foi transferida para um eppendorff devidamente identificado para posterior congelamento. Posteriormente, as amostras foram descongeladas e passaram por uma nova centrifugação a 14000 rotações por minuto por 15 minutos (Rotanta 460 Robotic, Hettich, Tuttlingen, Alemanha). Os AGCC e AGCR fecais foram analisados por cromatografia gasosa (SHIMADZU, modelo GC-2014, Quioto, Japão). Utilizou-se uma coluna de vidro (Agilent Technologies, HP INNO wax – 19091N, Santa Clara,

EUA) de 30 m de comprimento e 0,32 mm de largura. O nitrogênio foi o gás transportador, com uma taxa de fluxo de 3,18 ml / min. As temperaturas de trabalho foram 200°C na injeção, 240°C na coluna (na velocidade de 20°C/min) e 250°C no detector de ionização de chama.

Para análise de ácido siálico, as fezes foram secas em liofilizador (Alpha 1-4 LO plus, Christ, Osterodeam Hans, Alemanha) e a análise feita de acordo com Jourdian et al. (1971).

### **2.3.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS**

O experimento de digestibilidade foi analisado segundo delineamento em blocos (períodos) ao acaso, sendo que cada três cães consumiram uma das dietas em cada período (total de dois períodos), totalizando seis repetições por tratamento. Foi realizada análise de regressão, em função dos níveis de inclusão de levedura e os CDA e EM.

Os dados foram previamente analisados quanto à normalidade pelo teste Shapiro-Wilk. Os dados com distribuição normal foram submetidos à análise de regressão. Quando os dados não apresentaram distribuição normal, foram analisados pelo teste Kruskal Wallis, à 5% de probabilidade.

## **2.4. EXPERIMENTO II: ENSAIO DE PALATABILIDADE**

### **2.4.1. ANIMAIS E INSTALAÇÕES**

Foram utilizados 16 cães adultos (oito machos e oito fêmeas) da raça Beagle com dois anos de idade, pesando  $10,3 \pm 1,07$  kg. Os animais foram alojados em baias de alvenaria com solário de 2 x 5 m. Os cães foram vacinados, desverminados e previamente submetidos à exames clínicos que atestaram seu estado de higidez.

### **2.4.2. ENSAIO DE PALATABILIDADE**

Foram comparadas as dietas Controle vs. 4% inclusão de levedura. A cada alimentação, os animais receberam as necessidades energéticas diárias mais 30%, com base na fórmula para cães adultos em manutenção do NRC (2006), assegurando assim a presença de sobras.

O teste de palatabilidade foi realizado durante dois dias consecutivos, nos quais os alimentos foram fornecidos uma vez ao dia às 08h30min. Cada animal recebeu dois potes, cada um contendo uma das dietas avaliadas. Assim que uma das dietas era consumida completamente, ambos os potes eram retirados e as sobras quantificadas. A posição relativa dos comedouros foi alternada no segundo dia de experimento para que não houvesse o condicionamento do animal ao local de alimentação.

A primeira escolha foi definida pelo registro do primeiro pote que o animal se aproximou durante a oferta simultânea dos alimentos. A razão de ingestão foi calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{Razão de ingestão ( g/Kg )} = \left[ \frac{\text{g ingeridas da dieta A ou B}}{\text{g totais consumidas (A + B)}} \right] \times 100$$

### **2.4.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA**

O delineamento adotado foi inteiramente casualizado. Foram utilizados 16 animais totalizando 32 repetições (16 cães x 2 dias). Os dados de primeira escolha foram submetidos ao teste de Qui-quadrado e a razão de ingestão ao teste t-Student, ambos a 5% de probabilidade.

## **3. RESULTADOS**

### **3.1. EXPERIMENTO I: DIGESTIBILIDADE APARENTE E CARACTERÍSTICAS FECAIS**

A inclusão de níveis crescentes de extrato de levedura não alterou os CDA e a EM das dietas ( $P > 0,05$ ), com exceção do CDA da PB e EE, o qual diminuiu linearmente ( $P < 0,05$ ) com a inclusão de levedura. Para características fecais, não houve alteração nos parâmetros avaliados, exceto no pH fecal, o qual também diminuiu linearmente ( $P < 0,05$ , tabela 6).

TABELA 6. MÉDIAS DOS COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE (CDA, %) E ENERGIA METABOLIZÁVEL (EM, KCAL/KG) DE DIETAS CONTENDO CRESCENTES INCLUSÕES DE LEVEDURA E CARACTERÍSTICAS FECAIS DE CÃES.

Item	Levedura (%)				EPM <sup>1</sup>	Probabilidade <sup>2</sup>	
	0	4	8	12		L	Q
<b>CDA</b>							
Matéria Seca	79,4	79,8	80,8	79,2	0,3900	0,999	0,827
Matéria orgânica	84,5	84,9	84,6	84,2	0,2400	0,827	0,697
Proteína Bruta	83,7	82,3	80,8	79,5	0,5100	<0,001	0,982
Extrato etéreo	91,5	91,5	90,1	89,7	0,2000	<0,001	0,367
Energia Bruta	93,7	94,1	94,3	93,9	0,1800	0,974	0,736
EM	4100,2	4109,4	4202,7	4194,5	18,6000	0,121	0,995
<b>Características fecais</b>							
pH	6,71	6,72	6,55	6,35	0,0590	0,021	0,351
MS (%)	34,1	33,4	33,2	31,8	0,3900	0,297	0,978
Produção fecal	0,61	0,61	0,58	0,64	0,0150	0,954	0,781
Amônia (%)	0,043	0,053	0,054	0,046	0,0024	0,963	0,074
Ácido siálico (mg)	1,471	1,468	1,331	1,474	0,0561	0,607	0,197
Escore Fecal	4	4	4	4	-	-	-

FONTE: O autor (2018)

NOTA: <sup>1</sup>EPM = erro padrão da média; <sup>2</sup>Probabilidades para efeitos linear (L) e Quadrático (Q); <sup>3</sup>Produção fecal = g fezes produzidas na matéria natural/g matéria seca consumida/dia; <sup>4</sup>Medianas de escore fecal analisado por Kruskal Wallis (P >0,05); CDAPB (%) = 83,635 – 0,333 x % inclusão de levedura (r<sup>2</sup>=0,657); pH = 6,770 – 0,031 x % inclusão levedura (r<sup>2</sup> = 0,86)

Os CDA, EM e teor de nutrientes digestíveis da levedura estão apresentados na tabela 7.

TABELA 7. MÉDIAS DOS COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE (CDA, %), ENERGIA METABOLIZÁVEL (EM, KCAL/KG) E NUTRIENTES DIGESTÍVEIS DA LEVEDURA EM CÃES.

Item	CDA	Nutriente digestível <sup>1</sup> (%)
Matéria Seca	77,3	77,3
Matéria orgânica	81,7	75,5
Proteína Bruta	55,7	19,3
Extrato etéreo	73,8	2,54
Energia Bruta	94,2	4913,7
EM	4947,3	-

FONTE: O autor (2018)

NOTA: <sup>1</sup>Nutriente digestível=(Nutriente/100)\*Coeficiente de digestibilidade do ingrediente teste

Houve aumento linear no ácido propiônico e nos AGCC totais e redução linear no ácido isovalérico fecal com a inclusão da levedura na dieta ( $P<0,05$ ). O ácido butírico apresentou aumento quadrático à inclusão de levedura ( $P<0,05$ , Tabela 9).

TABELA 8. MÉDIAS (MMOL) DOS ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA (AGCC) E RAMIFICADA (AGCR) DAS FEZES DE CÃES ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO EXTRATO DE LEVEDURA.

Item	Levedura (%)				EPM	Probabilidade	
	0	4	8	12		L	Q
Acético	24,878	30,466	30,033	30,062	1,1339	0,152	0,251
Propiônico	14,670	17,876	17,662	18,441	0,4774	0,005	0,142
Isobutirico	0,654	0,626	0,674	0,576	0,0217	0,362	0,373
Butirico	3,546	4,396	4,375	4,313	0,1140	0,013	0,019
Isovalérico	1,035	1,074	0,992	0,569	0,0942	0,030	0,105
Valérico	0,573	0,556	0,481	0,427	0,1363	0,564	0,838
Total AGCC	43,225	52,902	52,147	53,022	1,5552	0,037	0,141
Total AGCR	2,432	2,335	2,366	1,685	0,2128	0,168	0,373

FONTE: O autor (2018)

NOTA: EPM: erro padrão da média; L = linear; Q = quadrático; Ácido propiônico (Mmol) =  $15,601 + 0,275x$  ( $R^2 = 0,779$ ); Ácido butírico (Mmol) =  $3,605 + 0,232x - 0,014x^2$  ( $R^2 = 0,931$ ); Isovalérico (Mmol) =  $1,253 - 0,045x$  ( $R^2 = 0,662$ ); Total AGCC (Mmol) =  $46,522 + 0,699x$  ( $R^2 = 0,606$ ).

### 3.2. EXPERIMENTO II: ENSAIO DE PALATABILIDADE

Para o teste de palatabilidade, a razão de ingestão foi maior para a dieta contendo 4% de inclusão de levedura, quando comparado ao tratamento controle ( $P < 0,001$ ). Entretanto, não houve diferença para a primeira escolha (Tabela 9).

TABELA 9. PRIMEIRA ESCOLHADA DIETA A (N) E RAZÃO DE INGESTÃO ( $RI \pm$  ERRO PADRÃO) DAS DIETAS CONTROLE (CO) E 4% DE EXTRATO DE LEVEDURA (EL).

Dieta A x B	n <sup>a</sup>	RI da dieta A <sup>b</sup>	P <sub>RI</sub>
CO x 4%EL	17	0,39±0,29	<0,001

FONTE: O autor (2018)

NOTA: Primeira escolha analisada pelo teste de qui-quadrato e RI teste t-Student; <sup>a</sup>Número de visitas ao pote com a dieta B é obtida é obtida como  $36 - n$ ; <sup>b</sup>RI:  $[\text{g da dieta A ou B/g total da dieta oferecida (A + B)}] \times 10$ .

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. EXPERIMENTO I: DIGESTIBILIDADE APARENTE E CARACTERÍSTICAS FECAIS

O fato da inclusão da levedura não ter alterado a maioria dos CDA e a EM das dietas permite inferir que a sua adição não alterou o aproveitamento dos nutrientes da dieta padrão utilizada, independente dos níveis de substituição. Esses resultados são semelhantes aos obtidos por Martins et al. (2014), também em estudo com cães, quando a substituição de até 15% da proteína alimentar por levedura de cana-de-açúcar ou de cerveja não alterou a digestibilidade dos nutrientes.

O CDA da PB do extrato de levedura (55,7%) foi menor em relação a algumas fontes proteicas de origem vegetal, como farelo de soja e o glúten de milho 60% (84% e 92%, respectivamente), conforme demonstrado por Sá-Fortes (2005). Teshima (2007) também encontrou em seu estudo menor digestibilidade aparente da PB do extrato de leveduras em cães (72,4%). Isto pode ter ocorrido em virtude do alto teor de ácidos nucleicos (cerca de 5% a 7%), presente no ingrediente analisado, pois esses compostos possuem nitrogênio em sua molécula (quantificado como PB

pelo método de Kjeldhal). Uma vez que essa análise determina o nitrogênio total das fezes e não os aminoácidos, dessa forma o resultado pode ter sido mascarado.

Outros dados que evidenciam a influência dos ácidos nucleicos sobre a digestibilidade aparente da proteína são os resultados de amônia e AGCR. A fermentação de proteínas não digeridas no cólon resulta na formação de AGCR (formados a partir de aminoácidos de cadeia ramificada), amônia, compostos indólicos e fenólicos, aminas biogênicas, sulfeto de hidrogênio e óxido nítrico (SMITH & MACFARLANE, 1997). Estes metabolitos de fermentação proteica têm sido associados com um possível comprometimento da saúde intestinal e piora do odor fecal. Outro importante dado foi o encontrado por Russel et al. (2011), em que humanos consumindo dieta com alto teor proteico apresentaram maiores concentrações fecais de AGCR isovalérico e isobutírico comparado com humanos consumindo dieta com menor teor proteico. No presente estudo a inclusão do extrato de levedura autolisada não aumentou os teores de amônia e a produção de AGCR, e inclusive reduziu a concentração do ácido isovalérico nas fezes dos cães. Esses resultados mostram que, com o aumento dos níveis de inclusão de extrato de levedura autolisada, não houve um excesso de proteína indigestível no cólon e por fim, sua fermentação e produção de compostos finais de fermentação. Todas essas informações dão suporte à hipótese de que a baixa digestibilidade aparente da proteína pode não representar corretamente a digestibilidade verdadeira dos aminoácidos da levedura.

Em relação às características fecais, Teshima et al. (2007) relataram que a inclusão de 30% de extrato de levedura tornou as fezes enegrecidas e com pior escore fecal que a ração controle em cães, indicando a necessidade de se caracterizar um limite de inclusão. No presente estudo, a inclusão máxima de 12% não teve efeito sobre o escore e a matéria seca fecal, o qual manteve-se em 4, estando, portanto, dentro da faixa considerada ideal (FÉLIX et al., 2009).

Os resultados de AGCR e AGCC, associados ao baixo pH encontrado, podem ser indicativos de saúde intestinal (ZENTEK et al., 2002; SWANSON et al., 2002; FÉLIX et al., 2009; PINNA et al., 2017). O efeito se dá por meio da redução do pH intestinal. Essa redução auxilia na melhora da saúde da mucosa intestinal, reduzindo bactérias com potencial patogênico (ZENTEK et al., 2013). Além disso, cria um ambiente favorável para espécies microbianas não patogênicas (MCQUAID, 2005) dos quais especialmente o butirato tem sido relacionado à melhoria da

barreira epitelial (HAMER et al., 2008; HUANG et al., 2015) e redução no pH (CHEN et al., 2015; PIEPER et al., 2014).

Vários estudos com ratos, cães e humanos citam outros benefícios dos AGCC produzidos no intestino grosso, como a preservação da integridade da mucosa; desempenham importante papel na manutenção celular; reduzem o risco de carcinomas colônicos (BERDANI & ROSSI, 2009); indução da diferenciação dos colonócitos e enterócitos; recuperação do epitélio intestinal após injúria; proteção contra colonização por microrganismos patogênicos; aumento do fluxo sanguíneo na mucosa intestinal, produção de mucina e redução da severidade de colite (CHAPMAN et al., 1994; SCHEPPACH et al., 1996; HAGUE et al., 1997).

A falta de alteração na concentração de ácido siálico fecal é indicativa que a levedura não apresenta efeito irritante sobre a mucosa intestinal. A concentração de ácido siálico no intestino tende a ser maior quando há infecções bacterianas ou fragilidade osmótica no intestino (PIRGOZLIEV et al., 2007). Desse modo, é possível inferir que a inclusão de levedura não alterou a produção de mucina no intestino dos cães.

Venturini (2016) demonstrou em seu estudo com extrato de levedura de cana-de-açúcar na dieta de cães e gatos, que um limite de inclusão de 5% pode ser utilizado como fonte proteica sem alterar a digestibilidade dos nutrientes. No presente estudo, esta inclusão seria de 4% de levedura, uma vez que inclusões superiores influenciam negativamente na digestibilidade da proteína. Além disso, com essa inclusão houve possível efeito prebiótico, observado pela queda do pH fecal e aumento dos AGCC totais. Assim como, efeito positivo sobre a preferência alimentar dos cães.

#### **4.2. EXPERIMENTO II: ENSAIO DE PALATABILIDADE**

O resultado encontrado no ensaio de digestibilidade corroboram com Teshima et al. (2007) utilizando uma dieta controle versus uma dieta com 2% de extrato de levedura. Os autores encontraram preferência pela dieta contendo o extrato de levedura, em uma proporção de 67%:33%, em relação a dieta controle. Martins et al. (2014) também verificaram preferência por alimentos com 7,5% de inclusão de levedura seca ou levedura autolizada de cana-de-açúcar, sem diferença entre estas duas formas de apresentação. Os autores argumentam que tal preferência pode ser

atribuída à presença de ácido glutâmico no extrato de levedura, que sensibiliza os receptores *umami* e torna a dieta mais palatável.

Além disso, durante o processo de fabricação, o ácido glutâmico reage com o sódio formando o glutamato monossódico que lhe fornecem grande potencial no favorecimento da palatabilidade do alimento fabricado (ALLTECH, 2004). Da mesma forma, os nucleotídeos presentes nesse ingrediente acentuam os efeitos do ácido glutâmico (EURASYP, 2006).

## **5. CONCLUSÃO**

A inclusão de níveis crescentes de extrato de levedura não altera a maioria dos CDA das frações nutritivas e a EM da dieta, entretanto reduz o CDA da PB. A limitação do método de mensuração de proteína fecal subestima a digestibilidade isolada da proteína do extrato de levedura, evidenciada pelos resultados de amônia e AGCR. Para isso, a análise que quantifica os teores de nitrogênio não proteico foi realizada, mostrando assim que sua quantidade foi suficiente para mascarar os resultados finais de PB. Em contrapartida, apresentam efeitos positivos sobre o intestino e consumo, sendo eles o aumento dos AGCC totais produzidos e importante efeito como palatabilizante, respectivamente. Esses resultados mostram que o extrato de levedura apresenta benefícios quando incluído na dieta para cães.

## REFERÊNCIAS

AA, E. et al. Population and gene evolution in *Saccharomyces cerevisiae*. **Federation of European Microbiological Societies Yeast Research**, Amsterdam, v.6, n.5, p. 702-715, 2006.

AAFCO, 2004. Dog and Cat Nutrient Profiles. Official Publications of the Association of American Feed Control Officials Incorporated (AAFCO), Oxford, IN, USA.

ABREU, J.; MILLÁN N. Effect of addition of brewer's yeast to soy protein and casein on plasma cholesterol levels of rabbits. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. v. 44, n. 1, p. 18-22, 1994.

ALEXANDRE, H.; GUILLOUX-BENATIER M. Yeast autolysis in sparkling wines – a review. **Australian Journal of Grape and Wine Research**. v. 12, p. 119-127, 2006.

ALBINO, L.T.F. et al. Determinação dos valores de energia metabolizável aparente e verdadeira de alguns alimentos para aves, usando diferentes métodos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 21, n. 6, p. 1047-1058, 1992.

ALLTECH. The NuPro™ Times. **Boletim técnico**, v. 1, n. 2, 2003

ALLTECH. Nupro™. **Boletim Técnico**, n. 36, 2006.

AMORIM, H.V.; LOPES, M.L. Tecnologia, sobre processamento de leveduras vivas, inativas e seus derivados: conceitos básicos. In: I CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE USO DA LEVEDURA NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2009, Campinas. **Anais...** Campinas:CBNA, 2009. p. 5-20.

ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 1995. **Official Methods of Analysis**, 16th ed. AOAC, Washington, DC, USA.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS FABRICANTES DE ALIMENTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO (ANFALPET). **Manual do programa integrado de qualidade pet**. 2.ed. São Paulo: 2008. 238p.

BABAYAN, T. L. et al. Unduced autolysis of *Saccharomyces cerevisiae*: morphological effects rheological effects and dynamics of acumulation of extracelular hydrolysis products. **Current Microbiology**, New York, v. 5, n. 3, p. 163-168, 1981.

BEDNAR, G.E. et al. Selected animal and plant protein sources affect nutrient digestibility and fecal characteristics of ileally cannulated dogs. **Archives of Animal Nutrition**, v.53, n.2, p.127-140, 2000.

BERDANI, R.; ROSSI, E. Microbiota intestinal e probióticos: implicações sobre o câncer de cólon. **Jornal Português de Gastreterologia**, Lisboa, v. 15, p. 19-28, 2009.

BELEM, M. A. F.; LEE, B. H. Production of RNA derivatives by *Kluyveromyces marxianus* grown on whey. **Food Science and Technology International**, v. 3, n. 6, p. 437-444, 1997.

BOONNOP, K. et al. Enriching nutritive value of cassava root by yeast fermentation. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.66, n.5, p.629-633, 2009.

BRANDTZAEG, P. Development and basic mechanisms of human gut immunity. **Nutrition Review**, New York, v.56, n.1, p.5-18, 1998.

BUNKER, H. J. Sources of single-cell protein. In: MATHELES, R.I. TANEMBAUM, S.R. (ed.). **Single-cell protein**, Cambridge: M.I.T., v.3, p. 67-78, 1978.

BUTOLO, J. E. Uso de biomassa de levedura em alimentação animal: propriedades, custo relativo a outras formas de nutrientes. In: workshop produção de biomassa de levedura em alimentação animal e humana; Agosto, Campinas. **Anais...** Campinas: ITAL; 1996. p.70-89.

BUTOLO, J. Novos padrões de produção avícola. In: SINPOSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA 2000. Chapecó. **Anais...** Chapecó. 2002. p. 50-54.

BZDUCHA-WROBEL A.; BLAZEJAK S, KAWARSKA A.; STASIAK-ROZANSKA L.; GIENKA I.; MAJEWSKA E. Evaluation of the efficiency of different disruption methods on yeast cell wall preparation for beta-glucan. **Molecules**, v. 19, p. 20941–20961. 2014.

CABALLERO-CÓRDOBA, G.M., PACHECO, M.T.B., SGARBIERI, V.C. Composição química de biomassa de levedura integral (*Saccharomyces cerevisiae*) e determinação do valor nutritivo da proteína, em células íntegras ou rompidas mecanicamente. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n.2, p.102-106, 1997.

CAR, P. R. N. Leveduras como fonte de micronutrientes. Composição e análise de vitaminas. In: "WORKSHOP": produção de biomassa de levedura - utilização em alimentação humana e animal, 1996, Campinas. **Resumos...** Campinas: Centro de Química de Alimentos & Nutrição Aplicada, 1996. p.28.

CARCIOFI, A.C. Fontes de proteína e carboidratos para cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p. 28-41, 2008 (supl. especial).

CARVER, J.D.; PIMENTEL, B.; COX, W.I.; BARNES, L.A. Dietary nucleotide effects upon immune function in infants. *Pediatrics* 88 (2):359. Devresse, B. 2000. Nucleotides – a key nutrient for shrimp immune system. **Feed Mix**, v. 8, n. 3, 1991.

CARVER, J.D. Dietary nucleotides: cellular immune, intestinal and hepatic system effects. **Journal Nutrition**, Bethesda, v. 124, p. 144-148, 1994.

CARVER, J. D.; WALKER, W. A. The role of nucleotides in human nutrition. **Nutritional Biochemistry**, New York, v. 6, p. 58-72, 1995.

CASTILHO, W. et al. Efeito da substituição do farelo de soja pela levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) desidratada como fonte de proteína em dietas para leitões desmamados sobre peso de órgão digestivos e atividade das enzimas pancreáticas. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 12, n. 1. p. 12-20. 2004.

CHAPMAN, M.A.; GRAHN, M.F.; BOYLE, M.A.; HUTTON, M.; ROGERS, J.; WILLIAMS, N.S. Butyrate oxidation is improved in the colonic mucosa of sufferers of quiescent ulcerative colitis. **Gastrointestinal tract**, v.35, p.72–76, 1994.

CHARPENTIER, C.; FEUILLAT, M. Yeast autolysis. **Wine Microbiology and Biotechnology**. p. 225–242. 1993.

CHEN H, WANG W, DEGROOTE J, POSSEMIERS S, CHEN D, DE SMET S, MICHIELS J. Arabinoxylan in wheat is more responsible than cellulose for promoting intestinal barrier function in weaned male piglets. **Journal of Nutrition**, v. 145, p. 51–58, 2015.

COLLET, S. Nutrição, imunidade e produtividade. In: ronda latino-americana alltech: o futuro da alimentação, 2000 Campinas. **Palestra...** p.20-30, 2000

COSGROVE, M. Perinatal and infant nutrition, nucleotides. **Nutrition**, v. 14, p. 748-751, 1998.

COSTA, L. F. Leveduras na nutrição animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.1, n°1, p.01-06, 2004.

COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de nutrientes. 2 ed. Barueri, SP: Manole, 2007, p. 67-68.

COWELL, C. S. et al. Making commercial pet foods. In: HAND, M. S. et al. (Ed). Small animal clinical nutrition. 4. ed. Kansas: Mark Morris Institute, 2000. p.127-146.

DAWSON, K. Not just bread and beer: new applications for yeast and yeast products in human health In: LYONS, T.P. AND JACQUES, K.A. (ed.). Proceedings of the 18 TH Annual Symposium. Alltech Biotechnology: Nottingham University Press, Nottingham, UK, p.225-232, 2002.

DUST, J. M.; GRIESHOP, C. M.; Parsons, C. M.; KARR-LILIENTHAL, L. K.; SCHASTEEN, C. S.; QUIGLEY, J. D. III; MERCHEN, N. R. ; FAHEY, G. C. Jr. Chemical composition, protein quality, palatability, and digestibility of alternative protein sources for dogs. **Journal Animal Science**, v. 83, n. 10, p. 2414-2422, 2005.

DZIEZAK, J. D. (Ed.). Yeasts and yeast derivatives: Definitions, characteristics, and processing. **Food Technology**, Chicago, v. 41, p. 122-125, 1987.

European Association for Specially Yeast Products (EURASYP). Yeast products: Yeast cell wall. Disponível em: <<http://www.eurasyp.org/public.levure.aliment.screen>> Acesso em: 7, Abril de 2018.

- FALANGHE, H. Produção de microrganismos. In: LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. Tecnologia das Fermentações. São Paulo : ed. Edgard Blücher Ltda, v. 1, p. 247-285, 1975.
- FARKAS, V. Polysaccharide Metabolism. In: ROSE, A.H.; HARRISON, J.S. **The yeasts: metabolism and physiology of yeasts**, 2ed. London: Academic Press, v.3, n. 9, p. 317-366, 1989.
- FEGAN, D. F. et al. Functional Foods for aquaculture: benefits of NuPro ® and dietary nucleotides in aquaculture feeds. In: Nutritional biotechnology in the feed and food industries: Proceedings of Alltech's 22nd Annual Symposium, Lexington, Kentucky, USA, 23-26 April 2006. Alltech UK, p. 419-432, 2006.
- FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; PINHO, O.; VIEIRA, E.; TAVARELA, J. G. Brewer's Saccharomyces yeast biomass: characteristics and potential applications. **Trends in Food Science & Technology**, Oxford, v. 21, n. 2, p. 77-84, 2010.
- FERKET, P.R. Alternatives to antibiotics in poultry production: responses, practical experience and recommendations. In: Lyons, T.P. and Jacques, K.A. (ed.). Proceedings of the 20 TH Annual Symposium. **Proceedings...** Alltech Biotechnology: Nottingham University Press, Nottingham, UK, p.57-67, 2004.
- FLEET, G.H. Cell Walls. In: ROSE, A.H.; HARRISON, J.S. The yeasts: yeast organelles. 2ed. London: Academic Press, v.4, n. 5, p. 199-277, 1991.
- FLEMMING, J. S. Utilização de leveduras, probióticos e mananoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frangos de corte. (Tese de Doutorado). Universidade Federal do Paraná, Curitiba - PR, 2005.
- FURTADO, Carlos Eduardo et al. Uso de levedura em equinos alimentados com dietas compostas de fenos de diferentes qualidades nutricionais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 10, p. 2194-2199, 2010.
- FURUYA, W.M. et al. Níveis de levedura desidratada spray dried na dieta de alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Ciência Rural** v. 30, n. 4, p. 699-704, 2000.
- GALVEZ, A.; RAMÍREZ, M. J.; GARCIA-GARIBAY, M. Chemical composition of mixture of single cell protein obtained from *Kluyveromyces fragilis* and whey proteins. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 40, n. 2, p. 252-262, 1990.
- GARCIA, F. Suplementação alimentar com beta-glucano e mananoligossacarídeo para tilápias do Nilo em tanques-rede. 2008. 100f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.
- HAGUE, A.; SINGH, B.; PARASLTEVA, C. Butyrate acts as a survival factor for colonic epithelial cells: further fuel for the in vivo versus in vitro debate. **Gastroenterology**, v.112, p.1036–1040, 1997.

HALÁSZ, A.; LÁSZTITY, R. Use of yeast biomass in food production. Boca Raton: CRC Press, Boca Raton, 1991, 312p.

HAMER, H.M.; JONKERS, D.; VENEMA, K.; VANHOUTVIN, S.; TROOST, F.J.; BRUMMER, R.J. Review article: the role of butyrate on colonic function. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 27, p. 104-119, 2008.

HENDRIKS, W. H. et al. Nutritional quality and variation of meat and bone meal. Asian Australasian **Journal Animal Science**, v.15, n.10, p. 1507-1516, 2002.

HISANO, H. et al. Composição nutricional e digestibilidade aparente da levedura íntegra, da levedura autolisada e da parede celular da tilápia-do-nilo, **Ciência Animal Brasileira**, Goiás, v. 9, n.1, p. 43-49, 2008.

HORII, J. Condução do Álcool. Piracicaba, Coordenadoria da Indústria e Comércio, p. 37-41, 1980.

HUANG C, SONG P, FAN P, HOU C, THACKER P, MA X. Dietary sodium butyrate decreases postweaning diarrhea by modulating intestinal permeability and changing the bacterial communities in weaned piglets. **Journal of Nutrition**, v. 145, p. 2774 – 2780, 2015.

HURTADO-GUERRERO, R. et al. Molecular mechanisms of yeast cell wall glucan remodeling. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, p. 8461–8469, 2009.

JOURDIAN, G.W., DEAN, L. & ROSEMAN, S. (1971) Aperiodate-resorcinol method for the quantitative estimation of free sialic acids and their glycosides. **Journal of Biological Chemistry**, 246: 430-435.

JOSIC, D. Optimization of process conditions for the production of active dry yeast. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v. 15, n. 1, p. 5-14, 1982.

KINSELLA, J. E. Functional proteins from yeast nucleoprotein for uses. Methods for isolation. In: KNORR, D. Food biotechnology. New York: Marcel Deker. c. 14, p.363-391, 1987.

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

KLIS, F. M.; Boorsma, A.; De Groot, P.W. Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, v.23, p.185–202, 2006.

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

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

- KOLLAR, R.; REINHOLD, B.; PETRAKOVA, E.; YEH, H.; ASHWELL, G.; DRGONOVA, J.; KAPTEYN, J.; KLIS, F.; CABIB, E. Architecture of the yeast cell wall. Beta(1→6)-glucaninterconnects mannoprotein, beta (1→3)-glucan and chitin. **Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 272, n. 28, p. 177762-17775, 1997.
- KUNINAKA, A. Studies on taste of ribonucleic acid derivatives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 34, p. 487–492, 1960.
- KUNINAKA, A. The Nucleotides, a Rationale of Research on Flavor Potentiation. Symposium on Flavor Potentiation. Arthur D. Little, Cambridge, MA. p. 4–9, 1964.
- KURIHARA, K.; KASHIWAYANAGI, M. Physiological studies on umami taste. **Journal Nutrition**, Sapporo, v. 130, p. 931-934, 2000. Supplement.
- KVAMME, J. L. What is palatability. In: KVAMME, J. L.; PHILLIPS, T. D. **Petfood technology**. Illinois: Watt, p. 176-177, 2003.
- LATGE, J.P. The cell wall: a carbohydrate armour for the fungal cell. **Molecular Microbiology**, v. 66, p. 279–290, 2007.
- LEHNINGER, A.L. Princípios de bioquímica. São Paulo: Sarvier, 1991. 725 p.
- LEVIN, D.E. Regulation of cell wall biogenesis in *Saccharomyces cerevisiae*: the cell wall integrity signaling pathway. **Genetics**, v. 189, p. 1145–1175, 2011.
- LODDI, M.M. Probióticos, prebióticos e acidificante orgânico em dietas para frangos de corte. 2003. 83 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.
- MACARI, M.; MAIORKA, A. Estudo sobre uso de parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* sobre desenvolvimento das vilosidades intestinais. Anais da Conferencia APINCO 2000 de Ciência e Tecnologia, p.170, 2000.
- MACFARLANE, G.T.; CUMMINGS, J.H. Probiotics and prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health? **British Medical Journal**, London, v. 18, p. 999-1003, 1999.
- MARTINS, M. S.; SAKOMURA, N. K.; D. F. SOUZA, D. F.; FILHO, F. O. R.; GOMES, M. O. S.; VASCONCELLOS, R. S.; A. C. CARCIOFI, A. C. Brewer's yeast and sugarcane yeast as protein sources for dogs. **Journal of Animal Physiology Animal Nutrition**, v.98, p.948-957, 2014.
- MARTINEZ-RODRIGUEZ, A.J.; POLO, M.C.; CARRASCOSA, A.V. Structural and ultrastructural changes in yeast cells during autolysis in a model wine system and in sparkling wines. **Internacional Journal of Food Microbiology**, v. 71, p. 45–51. 2001.
- MCQUAID, T.S. Medical management of a patent ductus venosus in a dog. **Canadian Veterinary Journal**, v.46, p.352-356, 2005.

MOREIRA, I. et al. Uso da levedura seca por “spray-dry” como fonte de proteína para suínos em crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.3, p. 962- 969, 2002.

NEWMAN, K. E.; JACQUES, K.; BUEDE, R. Effect of mannanoligosaccharide on performance of calves fed acidified and non-acidified milk replacer. **Journal Animal Science**, Chicago, v. 71, p. 271, 1993.

NONHEBEL, G.; MOSS, A. A. H. Drying of solids in the Chemical Industry. London : Butterworths, 1971.

NRC, 2006. Nutrient Requirements of Dogs and Cats. National Academies Press, Washington, DC, USA.

OLIVEIRA, A. M.; GÓMEZ, R. J. H. C. Otimização da extração de proteínas da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 4, p. 521-534, 2005.

OSUMI, M. The ultrastructure of yeast: Cell wall formation and structure. **Micron**, v.29, n.2/3, p.207-233, 1998.

PADUA, D.M.C. Determinação da composição em aminoácidos das proteínas da levedura de álcool (*Saccharomyces cerevisiae*) seca, e da farinha de peixe como ingredientes para rações de peixe de água doce. 1997, Goiânia. **Anais das Escolas de Agronomia e Veterinária**, Goiânia, v.27, n.2, p.85-87, 1997.

PEPPLER, H.J. Food yeasts. In: ROSE, A.H.; HARRISON, J.S. (Eds.). The Yeasts: Yeast technology. London: Academic Press. v.3, p.421-462, 1970.

PEREIRA, E.S. Fontes nitrogenadas e uso de *Saccharomyces cerevisiae* em dietas à base de cana-de-açúcar para novilho: consumo, digestibilidade, balanço, nitrogenado e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 20, n. 2, p. 563- 572, 2001.

PEZZATO, L.E. et al. Levedura em dietas para alevinos de tilápias do Nilo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.13, n.1, p.84-94, 2006.

PIEPER, R.; BOUDRY, C.; BINDELLE, J.; VAHJEN, W.; ZENTEK, J. Interaction between dietary protein content and the source of carbohydrates along the gastrointestinal tract of weaned piglets. **Archives of Animal Nutrition**, v. 68, p. 263–280, 2014.

PINNA, C.; VECCHIATO, C.G.; CARDENIA, V.; RODRIGUEZESTRADA, M.T.; STEGANELLI, C.; GRANDI, M.; GATTA, P.P.; BIAGI, C. An in vitro evaluation of the effects of a *Yucca schidigera* extract and chestnut tannins on composition and metabolic profiles of canine and feline faecal microbiota. **Archives of animal nutrition**, v.71, p.395-412, 2017.

PIRGOZLIEV, V.; ODUGUWA, O.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. Effects of dietary phytase on performance and nutrient metabolism in chickens. **British Poultry Science**, v. 48, n. 2, p. 144-154, 2007.

POZO-DENGRÁ, J. et al. Screening of autolytic yeast strains for production of L-amino acids. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, n. 1, p. 46-50, 2006.

PRADO, I. N. et al. Desempenho de Novilhas Alimentadas com Rações Contendo Milho ou Casca de Mandioca como Fonte Energética e Farelo de Algodão ou Levedura como Fonte Protéica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n.1, p.278-287, 2000.

RAKOWSKA, R.; SADOWSKA, A.; DYBKOWSKA, E.; SWIDERSKI, F. Spent yeast as natural source of functional food additives Roczniki. **Panstwowego Zakladu Higieny**, v. 68, p.115–121, 2017.

REED, G., PEPPLER, H.; Yeast Technology, The AVI Publishing Company, Inc., Conneticut, 1973.

ROBINOW, C.F.; JOHNSON, B.F. Yeast cytology: An overview. In: ROSE, A.H.; HARRISON, J.S. The Yeasts: yeast organelles, 2nd ed. London: Academic Press, v.4, cap. 2, p. 7-120, 1991.

ROEPCKE, C.B.S. Desenvolvimento de bioprocesso para produção de biomassa de levedura rica em zinco orgânico. Tese Mestrado. Curitiba, PR, UFPR, 2007

ROTO, S. M.; RUBINELLI, P. M.; RICKIE, S. C. An introduction to the avian gut microbiota and the effects of yeast-based prebiotic-type compounds as potential feed additives. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 2, p. 28, 2015.

RUTZ, F. ANCIUTI, M. A.; RECH, J. L.; GONÇALVES, F. M.; DELGADO, A. D.; ROSA, E. R.; ZAU, N.; RIBEIRO, C. L. G.; SILVA, R. R.; DALLMANN, P. R. Desempenho e características de carcaça de frangos de corte recebendo extrato de levedura na dieta. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 7, n. 4, p. 349-355, 2006.

RUTZ, F.; RECH, J.L.; XAVIER, E.G.; ANCIUTI, M.A.; ROSSI, P. Cuidados críticos na nutrição inicial de aves : alternativas para melhorar o desempenho e o papel essencial dos nucleotídeos. In: simpósio brasileiro da indústria de alimentação animal, 2., 2005, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Alltech Biotechnology, p.19-39, 2005.

SÁ-FORTES, C. M. L. Ingredientes protéicos para cães. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 5, 2005, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2005. p. 1-20.

SAKAGUCHI, K.; KIBI, M.; KUNINAKA, A. Japanese patent application SN 11586, and U.S. patent application SN 756,541. 1958

SÁNCHEZ-POZO, A.; GIL, A. Nucleotides as semiessential nutritional components. **British Journal of Nutrition**, Granada, v. 87, p. 135-137, 2002. Supplementt 1.

SARWAR, G. et al. Nucleic acid, fiber and nutrient composition of inactive dried food yeast products. **Journal of Food Science**, v.50, p.353-357, 1985.

SANTIN, A. P. Estudo da secagem e da inativação de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*. 151 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química. Departamento de Engenharia Química. Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 1996.

SEIXAS, J.R.C.; ARAÚJO, W.A.; FELTRIN, C.A. et al. Fontes protéicas para alimentos pet. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 3., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal Campinas, 2003. p.97-116.

SCANDOLERA, A. L.; HUAYANATE, R. A. R.; RUIZ, U. dos S.; CRISTIANI, J. Hidrolisados proteicos de mucosa intestinal, levedura e proteína isolada de soja em dietas com leite em pó integral para leitões desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 37, n. 4, p.653-659, abr. 2008.

SCHEPPACH, W.; DUSEL, G.; KUHN, T.; LOGES, C.; KARCH, H.; BARTRAM, H.P.; RICHTER, F.; CHRISTL, S.U.; KASPER, H. Effects of L-glutamine and n-butyrate on the restitution of rat colonic mucosa after acid induced injury. **Gastrointestinal tract**, v.38, p.878–885, 1996.

SCHLIMME, E.; MARTIM, D.; MEISEL, H. Nucleosides and nucleotides: natural bioactive substances in milk and colostrum. **British Journal Nutrition**, London v. 84, p. 59-68, 2000.

SGARBIERI, V. C.; ALVIM, I. D.; VILELA, E. S.; BALDINI, V. L. S.; BRAGAGNOLO, N. Produção piloto de derivados de levedura para uso como ingrediente na formulação de alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas. V. 21, n. 1/2, p. 119-125, 1999.

SILVA, V. K. Extrato de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) e prebiótico na dieta pré-inicial para frangos de corte criados em diferentes temperaturas (Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal - SP, 2006.

SMITH, T. K. et al. Comparative aspects of Fusarium Micotoxins in broiler chickens, laying hens and turkeys and the efficacy of a polymeric glucamannan mycotoxin adsorbent: Mycosorb. **Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries**. Proceedings of Alltech's 20th Annual Symposium, 2004, p. 103-109. 2004.

SMITH EA, MACFARLANE GT. Dissimilatory amino acid metabolism in human colonic bacteria. **Anaerobe**, v. 3, p. 327–337, 1997.

STONE, C.W.; MILLS, D.V. Yeast products in the feed industry: a practical guide for feed professionals.

STRUMILLO, C.; ADAMIEC, J. Advances in drying of biosynthesis products. Encontro sobre escoamento em meios porosos (XIX:1991 : Campinas). **Anais...** Campinas, São Paulo, 1991.

STRUMILLO, C.; KUDRA, T. Drying: Principles, applications and design. New York: Gordon and Breach Science Publishers, 1986.

SWANSON, K.S.; GRIESHOP, C.M.; FLICKINGER, E.A.; BAUER, L.L.; HEALY, H.P.; DAWSON, K.A.; MERCHEN, N.R.; FAHEY, G.C.Jr. Supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrients digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in the large bowel of dogs. **Journal of Nutrition**, v.132, p.980-989, 2002.

SWANSON, K. S.; FAHEY JÚNIOR, G. C. Potential role of yeasts and yeast by-products in pet food. In: LAUE, D.; TUCKER, L. A. **Recent Advances in pet nutrition**. Nottingham: Nottingham University. P 19-36. 2006.

TANG, Q.; HUANG, G.; ZHAO, F.; ZHOU, L.; HUANG, S.; LI, H. The antioxidant activities of six (1→3)-beta-d-glucan derivatives prepared from yeast cell wall. **Internacional Journal of Biological Macromolecules**, v. 98, p.216–221, 2017.

TESHIMA, E. RIVERA, N. L. M.; KAWAUCHI, I. M.; GOMES, M. O. S.; BRUNETTO, M. A.; CARCIOFI, A. C. Extrato de levedura na alimentação de cães: digestibilidade e palatabilidade. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., 2007, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal, 2007. 3 p.

TIBBETTS, G.W. Nucleotides from yeast extract: potential to replace animal protein sources in food animal diets. In: Lyons, T.P. and Jacques, K.A. (ed.). Proceedings of the 18 TH Annual Symposium. Proceedings..., Nottingham: Nottingham University Press, p.225-232, 2002.

TIBBETTS, G.W. Nucleotides from yeast extract: potential to replace animal protein sources in food animal diets. In: Lyons, T.P. and Jacques, K.A. (ed.). Proceedings of the 18 TH Annual Symposium. Proceedings..., Nottingham: Nottingham University Press, p.225-232, 2002.

TUDELA, R.; GALLARDO-CHACON, J.J.; RIUS, N.; LOPEZ-TAMAMES, E.; BUXADERAS, S. Ultrastructural changes of sparkling wine lees during long-term aging in real enological conditions. **Federation of European Microbiological Societies (FEMS) Yeast Research**, v.12, p. 466–476, 2012.

UAUY, R.; STRINGEL G.; THOMAS, R.; QUAN, R. Effect of dietary nucleosides of growth and maturation of the developing gut in rat. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Philadelphia v. 10, p. 497-503, 1990.

VASCONCELLOS, R.S. Uso de coprodutos na alimentação de cães e gatos. II Congresso Internacional e IX simpósio sobre nutrição de animais de estimação CBNA, Campinas, 2010.

- VALADARES, L. S. C. Avaliação de diferentes planos nutricionais utilizando leveduras na dieta de frangos de corte. 2012. 39 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
- VENTURINI, K. S. Fontes proteicas não convencionais em alimentos para cães e gatos. 2016. 113 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, São Paulo.
- VILELA, E.S.; SGARBIERI, V. C.; ALVIM, I. D. Determinação do valor protéico de células íntegras, autolisado total e extrato de levedura (*Saccharomyces sp.*). **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 13, n. 3, set./dez. 2000, p. 185-192.
- VILELA, E.S. D.; SGARBIERI, V. C.; ALVIM, I. D. Valor nutritivo da biomassa de células íntegras, do autolisado e do extrato de levedura originária de cervejaria. *Revista de Nutrição*, v.13, n. 2, p. 127-134, 2000.
- VOET, D.; VOET, J.G.; PRATT, C.W. Fundamentos de Bioquímica. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000.
- WATANABE, A. L. et al. Levels of yeast and its by-products on pacu juveniles feeding. *R. Bras. Zootec.*, v.39, n.3, p.447-453, 2010.
- XU, W.; WANG, J.; CHEN, X., LI, Q. Changes in autolysis solution of brewer's yeasts and the evaluation of autolysis. **Journal of Food Science and Biotechnology**, v. 32, p. 574–580, 2013.
- XU, W., WANG, J., LI, Q. Microarray studies on lager brewer's yeasts reveal cell status in the process of autolysis. **Federation of European Microbiological Societies (FEMS) Yeast Research**, v. 14, p. 714–728, 2014.
- YAMADA, E. A. et al. Composição centesimal e valor protéico de levedura residual da fermentação etanólica e de seus derivados. **Revista de Nutrição**, v.16, n. 4, p. 423- 432, 2003.
- YAMADA, E. A.; CIPOLLI, K. M. A. V. B.; HARADA, M. M.; SGARBIERI, V. C. Utilização de extrato de levedura (*Saccharomyces sp.*) de destilaria de álcool em salsicha. **Brazilian Journal of Food and Technology**, Campinas, v. 13, n. 3, p. 197-204, 2010.
- YAMAGUCHI, S.; NINOMIYA, K. Umami and food palatability. **Journal Nutrition**, Tokyo, v. 130, p. 921-962, 2000. Supplement.
- YAMAGUCHI, M. et al. Structome of *Saccharomyces cerevisiae* determined by freeze-substitution and serial ultrathin-sectioning electron microscopy. **Journal of Electron Microscopy Techique**, Tokyo, v. 60, p.321–335, 2011.
- YAMKA, R.M et al. In vivo measurement of flatulence and nutrient digestibility in dogs fed poultry by-product meal, conventional soybean meal, and

lowoligosaccharide low-phytate soybean meal. **American Journal of Veterinary Resource**, v. 81, p.2279–2284, 2003.

YASUI, H.; OHWAKI, M. Enhancement of immune response in Peyer's patch cells cultured with *Bifidobacterium breve*. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 4, p. 1187-1195, 1991.

ZAMBONELLI, C.; RAINIERI, S.; CHIAVARI, C.; MONTANARI, G.; BENEVELLI, M.; GRAZIA, L. Autolysis of yeasts and bacteria in fermented foods. **Italian Journal of Food Science**, v. 12, p. 9–21. 2000.

ZENTEK, J.; FERRARA, F.; PIEPER, R.; TEDIN, L.; MEYER, W.; VAHJEN, W. Effects of dietary combinations of organic acids and medium chain fatty acids on the gastrointestinal microbial ecology and bacterial metabolites in the digestive tract of weaning piglets. **Journal of Animal Science**, v.91, p.3200–3210, 2013.

ZENTEK, J.; MARQUART, B.; PIETRZAK, T. Intestinal effects of mannanoligosaccharides, galacto and lactulose in dogs. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.132, n.6, p. 1682-1684, 2002.

ZHAO, J.; FLEET, G. H. Degradation of DNA during the autolysis of *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 3, p. 175-182, 2003.

## ANEXO 1 – CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 054/2017, referente ao projeto **“AVALIAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE DA LEVEDURA AUTOLISADA EM DIETAS PARA CÃES”**, sob a responsabilidade de **Ananda Portella Félix** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau 1 de invasividade, em reunião de 07/07/2017.

Vigência do projeto	Agosto/2017 até Setembro/2017
Espécie/Linhagem	<i>Canis lupus familiaris</i> (cão)
Número de animais	16
Peso/Idade	10 kg / 1.5 a 1.6 anos
Sexo	Ambos (8 machos e 8 fêmeas)
Origem	Laboratório de Estudos em Nutrição Canina – LENUCAN no Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 054/2017, regarding the project **“EVALUATION OF YEAST DIGESTIBILITY IN DIETS FOR DOGS”** under **Ananda Portella Félix** supervision – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October, 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July, 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of the State of Paraná, Brazil), with degree 1 of invasiveness, in session of 07/07/2017.

Duration of the project	August/2017 until September/2017
Specie/Line	<i>Canis lupus familiaris</i> (dog)
Number of animals	16
Weight/Age	10 kg / 1.5 to 1.6 years
Sex	Both (8 males and 8 females)
Origin	Laboratory of Canine Nutrition Studies – LENUCAN in the Agricultural Sciences Sector of the Federal University of Paraná

Curitiba, 7 de julho de 2017.

*Chayane da Rocha*  
Chayane da Rocha

**Coordenadora CEUA-SCA**