

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**GUSTAVO ALMEIDA BASTOS**

**PRODUÇÃO DE BARRA DE CEREAIS COM  
PROPRIEDADES PROBIÓTICAS**

VITÓRIA

2013

**GUSTAVO ALMEIDA BASTOS**

**PRODUÇÃO DE BARRA DE CEREAIS COM  
PROPRIEDADES PROBIÓTICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cristina Nascimento Chiaradia

VITÓRIA

2013

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)  
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

---

Bastos, Gustavo Almeida, 1987-

B327p      Produção de barra de cereais com propriedades probióticas /  
Gustavo Almeida Bastos. – 2013.

91 f. : il.

Orientadora: Ana Cristina Nascimento Chiaradia.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade  
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Cereais como alimento. 2. Probióticos. 3. Alimentos  
funcionais. 4. Lactobacillus acidophilus. I. Chiaradia, Ana Cristina  
Nascimento. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de  
Ciências da Saúde. III. Título.

CDU: 61

---

**GUSTAVO ALMEIDA BASTOS**

**PRODUÇÃO DE BARRA DE CEREAIS COM  
PROPRIEDADES PROBIÓTICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Apresentada em 14 de março de 2013.

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cristina Nascimento  
Chiaradia  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Orientadora**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elinalva Maciel Paulo  
Universidade Estadual de Feira de  
Santana**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Neuza Maria Brunoro Costa  
Universidade Federal do Espírito Santo**

VITÓRIA

2013

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cristina Nascimento Chiaradia, pela ideia inicial deste trabalho, orientação, praticidade, dinamicidade e competência, durante a realização de todo o trabalho.

Faço um agradecimento especial à professora Dra. Elinalva Maciel Paulo, pelas palavras de estímulo, pelos ensinamentos e acolhimento em seu laboratório.

À técnica de laboratório Luana pela colaboração durante a execução de parte deste trabalho.

À Universidade Federal do Espírito Santo, por ter propiciado a realização do curso de Mestrado.

Aos professores e funcionários do Departamento de Farmácia, pelo constante apoio.

A todos os membros da banca examinadora.

Aos membros do Laboratório de Biotecnologia Aplicada ao Agronegócio, pela amizade e ensinamentos.

À empresa Danisco Brasil Ltda. pela amostra fornecida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

## RESUMO

A tendência de consumo de alimentos saudáveis, inovadores e práticos tem levado ao crescimento cada vez maior nos últimos anos do mercado de barra de cereais. Barra de cereais é um produto multicomponente à base de ingredientes secos e agentes ligantes, e a elas podem ser incorporados diferentes ingredientes como cereais integrais, frutas desidratadas ou cristalizadas, amêndoas e açúcares. A utilização de micro-organismos probióticos em alimentos lácteos é uma das mais atrativas opções para consumo humano, devido às suas excelentes propriedades funcionais. Entretanto, o desenvolvimento de novos produtos tem adquirido crescente importância nas empresas devido à acirrada concorrência e à demanda dos consumidores. Desta forma, objetivou-se neste trabalho desenvolver formulações de barra de cereais com propriedade probiótica. Foram formuladas barras de cereais com os probióticos *Saccharomyces boulardii* (na forma liofilizada, granulada com lactose e encapsulada em alginato de cálcio) e *Lactobacillus acidophilus* (na forma liofilizada e encapsulada em alginato de cálcio). Posteriormente, foi avaliada a estabilidade dos micro-organismos durante o tempo de armazenamento. A aceitabilidade do produto foi verificada por meio de um teste sensorial afetivo. A levedura *Saccharomyces boulardii* apresentou maior sobrevivência na forma liofilizada. Manteve contagem na faixa de 7 log UFC/g, durante oito semanas. Já a forma encapsulada em alginato de cálcio, apresentou sobrevivência em torno de 6 log UFC/g durante cinco semanas e a granulada com lactose em torno de 6 log UFC/g durante duas semanas. A bactéria *Lactobacillus acidophilus* apresentou maior sobrevivência na forma liofilizada. Manteve contagem na faixa de 7 log UFC/g, durante seis semanas. A forma encapsulada após duas semanas de armazenamento apresentou contagem abaixo de 5 log UFC/g. Os resultados obtidos na análise sensorial apresentaram boa aceitabilidade para todas as formulações avaliadas, de modo que a incorporação dos micro-organismos probióticos na barra de cereais não interferiu na qualidade sensorial e estrutural do produto.

Palavras-chave: Barra de cereais. Probiótico. *Saccharomyces boulardii*. *Lactobacillus acidophilus*.

## ABSTRACT

The trend on the consumption of healthy, innovative and practical food is leading in the recent years, to the increase of the market of cereal bars. Cereal bar is a multicomponent product based on dry ingredients and binders, to which can be incorporated different ingredients, such as whole grain cereals, dried fruit or candied, almonds and sugars. The use of probiotic microorganisms in dairy foods is one of the most attractive options for human consumption due to its excellent functional properties. However the development of new products is becoming of increasing importance in business due to the fierce market competition and to the consumer`s demand. Thus the aim of this work was to develop formulations of cereal bars with probiotic property. Cereal bars were formulated with the probiotics *Saccharomyces boulardii* (in lyophilized form, granulated with lactose and encapsulated in calcium alginate) and with *Lactobacillus acidophilus* (in lyophilized form and encapsulated in calcium alginate). Subsequently, the stability of micro-organisms along storage time was assessed. The acceptability of the product was verified by a sensory test. The yeast *Saccharomyces boulardii* presented longer survival in the count of the lyophilized form. It`s count remained in the range of 7 log CFU/g for eight weeks. On the other hand encapsulated form in calcium alginate had a survival around of 6 log CFU/g for five weeks and the form granulated with lactose around of 6 log CFU/g for two weeks. The bacteria *Lactobacillus acidophilus* survived better in the lyophilized form. It`s count remained in the range of 7 log CFU/g for six weeks. The count of the encapsulated form after two weeks of storage was below 5 log CFU / g. The results from the sensorial analysis showed good acceptability for all formulations evaluated, in such a way that the inclusion of probiotic microorganisms in the cereal bar did not affect the structural and sensory quality of the product.

Key words: Cereal bar. Probiotic. *Saccharomyces boulardii*. *Lactobacillus acidophilus*.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismos de ação dos probióticos. (Fonte: Adaptado de KAUR <i>et al</i> , 2009).....	28
Figura 2 - Principais vias de imunomodulação promovida por um probiótico. (Fonte: Adaptado de LEBEER <i>et al</i> , 2010).....	29
Figura 3 - Fragmento da cadeia polimérica do ácido algínico formada por blocos M, blocos G e blocos MG. (Fonte: LIMA, 2006). ....	36
Figura 4 - Conformação dos blocos constituídos de resíduos: a) ácido $\alpha$ -L-gulurônico e b) $\beta$ -D-manurônico no ácido algínico. (Fonte: LIMA, 2006).....	36
Figura 5 - Estrutura química do alginato de sódio. (Fonte: LIMA, 2006). ....	37
Figura 6 – Formação da rede de gel com cadeias homopoliméricas unidas por meio dos íons cálcio. (Fonte: FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 1987).....	37
Figura 7 – Ligação entre as cadeias homopoliméricas por meio dos íons cálcio situados entre os grupos com carga negativa. (Fonte: BEDÊ, 2010).....	38
Figura 8 - Técnica de extrusão utilizada para encapsulação de probióticos. (Fonte: Adaptado de KRASAEKOOPT <i>et al</i> , 2003).....	38
Figura 9. Esquema para obtenção concentrado celular de <i>Saccharomyces boulardii</i> .....	46
Figura 10 - Aparato montado para encapsulação, por extrusão, em alginato de sódio da levedura <i>Saccharomyces boulardii</i> e do <i>Lactobacillus acidophilus</i> . ....	48
Figura 11 - (a) Forma de aço inoxidável e lâmina para corte; (b) Embalagem de filme flexível laminado; (c) Formato da embalagem de barra de cereais.....	51
Figura 12 - Fluxograma do processo de produção das barras de cereais probiótica.....	51
Figura 13 - (a) Frasco após ativação de 20mg de <i>Saccharomyces boulardii</i> em estufa a 28°C sob agitação de 150 rpm, por 48 horas; (b) Granulado do concentrado celular de <i>Saccharomyces boulardii</i> com lactose.....	59



Figura 14 - (a) Esferas de Alginato de Cálcio contendo <i>S. boulardii</i> em solução de CaCl <sub>2</sub> ; (b) Esferas de Alginato de Cálcio contendo <i>S. boulardii</i> após filtração.....	60
Figura 15 - (a) e (b) Esferas de Alginato de Cálcio contendo <i>L. acidophilus</i> após filtração.....	61
Figura 16 - (a) Barra de cereal embalada em filme flexível laminado; (b) Barra de cereal em embalagem de filme flexível laminado aberta; (c) Aparência da barra de cereais.....	61
Figura 17 - Curva de sobrevivência de <i>Saccharomyces boulardii</i> granulada com lactose.....	63
Figura 18 - Curva de sobrevivência de <i>Saccharomyces boulardii</i> encapsulada em alginato de cálcio.....	65
Figura 19 - Curva de sobrevivência de <i>Saccharomyces boulardii</i> liofilizado Floratil <sup>®</sup> , Merck.....	66
Figura 20 - Curva de sobrevivência de <i>Saccharomyces boulardii</i> , em três diferentes formulações: granulada com lactose, encapsulada em alginato de cálcio e liofilizado Floratil <sup>®</sup> , Merck. ....	68
Figura 21 - Curva de sobrevivência de <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-14 FloraFIT, liofilizado Danisco.....	70
Figura 22 - Curva de sobrevivência da população de <i>Saccharomyces boulardii</i> liofilizado Floratil <sup>®</sup> , Merck e <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-14 FloraFIT, liofilizado Danisco. ....	73
Figura 23 - Média das notas de aparência, textura e sabor, atribuídas pelos julgadores referentes às quatro diferentes formulações de barras de cereais. ....	76
Figura 24 - Intenção de consumo, referente à barra de cereal comercial, atribuída pelos julgadores. ....	76
Figura 25 - Intenção de consumo, referente à barra de cereal com <i>Saccharomyces boulardii</i> encapsulado em alginato de cálcio, atribuída pelos julgadores. ....	77
Figura 26 - Intenção de consumo, referente à barra de cereal com <i>Lactobacillus acidophilus</i> liofilizado, atribuída pelos julgadores.....	78
Figura 27 - Intenção de consumo, referente à barra de cereal sem probiótico, atribuída pelos julgadores. ....	78

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulação da barra de cereais probiótica.....	49
Tabela 2 - Quantidade de micro-organismo probióticos utilizado por Barra de cereais.....	50
Tabela 3 – Massa de concentrado celular obtida após a ativação e centrifugação da cultura liofilizada de <i>Saccharomyces boulardii</i> para granulação com lactose. ....	58
Tabela 4 - Massa de concentrado celular obtida após a ativação e centrifugação da cultura liofilizada de <i>Saccharomyces boulardii</i> para encapsulação por extrusão em alginato de cálcio.....	59
Tabela 5 - População viável de <i>Saccharomyces boulardii</i> (Média ± DP, n=2) granulada com lactose, em barra de cereais, durante o armazenamento (log UFC/g). Réplica I, II, III. ....	62
Tabela 6 - População viável de <i>Saccharomyces boulardii</i> (Média ± DP, n=2) encapsulada em alginato de cálcio, em barra de cereais, durante o armazenamento (log UFC/g). Réplica I, II, III. ....	64
Tabela 7 - População viável de <i>Saccharomyces boulardii</i> (Média ± DP, n=2) liofilizada Floratil®, Merck, em barra de cereais, durante o armazenamento (log UFC/g). Réplica I, II.....	65
Tabela 8 - População viável de <i>Saccharomyces boulardii</i> (Média ± DP, n=2) nas diferentes formulações de barra de cereais, durante o armazenamento (log UFC/g).....	67
Tabela 9 - População viável de <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-14 FloraFIT, liofilizado Danisco (Média ± DP, n=2), em barra de cereais, durante o armazenamento (log UFC/g). Réplica I, II, III.....	68
Tabela 10 - População de <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-14 FloraFIT, liofilizado Danisco, encapsulados em alginato de cálcio (Média ± DP, n=2) , em barra de cereais, durante o armazenamento (log UFC/g). Réplica I, II.....	70
Tabela 11 - População viável de <i>Saccharomyces boulardii</i> liofilizado Floratil®, Merck e <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-14 FloraFIT, liofilizado Danisco (Média ± DP, n=2), em barra de cereais, durante o armazenamento (log UFC/g). ....	72

Tabela 12 - Média das notas atribuídas pelos julgadores para a aceitação sensorial das formulações de barras de cereais.....74

Tabela 13 - Índice de aceitabilidade para as diferentes formulações de barras de cereais.....75

## LISTA DE SIGLAS

% - Percentagem

°C – Grau Célsius

°Brix – Grau Brix

® - Marca registrada

$\alpha$  – alfa

$\beta$  – Beta

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

DP – Desvio Padrão

FAO – do inglês Food and Agriculture Organization of the United Nations

FOS – Fruto-oligossacarídeos

FOSHU – Alimentos para uso específico em saúde (do inglês Foods for Specified Health Use)

g – Gramas

GOS – Glico-oligossacarídeos

IMO – Isomalto-oligossacarídeos

log – Logaritmo

L – Litro

LTDA – Limitada, firma ou razão social

mg – Miligrama

mL – Mililitro

MAMPs – Padrões Moleculares Associados a Microrganismos (do inglês Microorganism Associated Molecular Patterns)

MRS - do inglês Man, Rogosa and Sharpe

mm – Milímetro

m/v – massa/volume

m/m – massa/massa

M – Molar

pH – Potencial Hidrogeniônico

PIQ – Padrão de Identidade e Qualidade

PRRs – Receptores de reconhecimento padrão (do inglês Pattern Recognition Receptors)

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

rpm – Rotações por Minuto

S.A – Sociedade anônima

TOS – Transgalacto-oligossacarídeos

TGI – Trato gastrointestinal

UFC – Unidade formadora de colônia

UFC/g - Unidade formadora de colônia por grama

WHO – World Health Organization

YPG – Extrato de levedura, peptona e glicose (do inglês Yeast extract, peptone and glycerol)

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	OBJETIVOS.....	20
2.1	<b>Objetivo geral</b> .....	<b>20</b>
2.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>20</b>
3	REFERENCIAL TEÓRICO .....	21
3.1	<b>Alimentos funcionais</b> .....	<b>21</b>
3.2	<b>Legislação Brasileira</b> .....	<b>22</b>
3.3	<b>Probióticos</b> .....	<b>25</b>
3.4	<b>Atividades terapêuticas de culturas probióticas</b> .....	<b>27</b>
3.5	<b><i>Lactobacillus acidophilus</i></b> .....	<b>30</b>
3.6	<b><i>Saccharomyces boulardii</i></b> .....	<b>31</b>
3.7	<b>Prebióticos e Simbióticos</b> .....	<b>33</b>
3.8	<b>Incorporação do micro-organismo probiótico em um substrato</b> .....	<b>35</b>
3.8.1	Encapsulação .....	35
3.8.2	Liofilização .....	39
3.9	<b>Mercado de probióticos</b> .....	<b>39</b>
3.10	<b>Barra de cereais</b> .....	<b>41</b>
3.11	<b>Análise sensorial</b> .....	<b>43</b>
4	MATERIAL E MÉTODOS .....	45
4.1	<b>Ingredientes da barra de cereais</b> .....	<b>45</b>
4.2	<b>Culturas Probióticas</b> .....	<b>45</b>
4.3	<b>Incorporação da cultura de <i>Saccharomyces boulardii</i> na barra de cereais</b> .....	<b>45</b>
4.3.1	Ativação e obtenção do concentrado celular a partir da cultura liofilizada de <i>Saccharomyces boulardii</i> .....	45

4.3.1.1	Granulação do concentrado celular de <i>Saccharomyces boulardii</i> com lactose.....	46
4.3.1.2	Encapsulação da <i>Saccharomyces boulardii</i> por extrusão em alginato de cálcio .....	47
4.4	Incorporação da cultura de <i>Lactobacillus acidophilus</i> na barra de cereais.....	48
4.4.1	Encapsulação de <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-14 FloraFIT, liofilizado Danisco, por extrusão em alginato de cálcio .....	48
4.5	Incorporação do liofilizado da <i>S. boulardii</i> e <i>L. acidophilus</i> em barra de cereais.....	49
4.6	Formulação da barra de cereais .....	49
4.7	Processamento da barra de cereais .....	50
4.8	Acompanhamento da viabilidade dos micro-organismos adicionados na barra de cereal durante o período de armazenamento.....	52
4.8.1	Acompanhamento da viabilidade de <i>Saccharomyces boulardii</i> granulada com lactose.....	52
4.8.2	Acompanhamento da viabilidade de <i>Saccharomyces boulardii</i> encapsuladas em alginato de cálcio .....	53
4.8.3	Acompanhamento da viabilidade de <i>Saccharomyces boulardii</i> liofilizada Floratil <sup>®</sup> , Merck.....	54
4.8.4	Acompanhamento da viabilidade de <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-14 FloraFIT, Danisco liofilizado.....	54
4.8.5	Acompanhamento da viabilidade de <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-14 FloraFIT, Danisco encapsulados em alginato de cálcio.....	55
4.9	Avaliação sensorial.....	56
4.10	Análise estatística .....	57
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	58
5.1	Ativação da cultura liofilizada de <i>Saccharomyces boulardii</i> e obtenção do concentrado celular para granulação com lactose .....	58

<b>5.2</b>	<b>Ativação da cultura liofilizada de <i>Saccharomyces boulardii</i> e obtenção concentrado celular para encapsulação por extrusão em alginato de cálcio.....</b>	<b>59</b>
<b>5.3</b>	<b>Encapsulação de <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-14 FloraFIT, Danisco por extrusão em alginato de cálcio .....</b>	<b>60</b>
<b>5.4</b>	<b>Barra de cereal produzida .....</b>	<b>61</b>
<b>5.5</b>	<b>Acompanhamento da viabilidade dos micro-organismos incorporados nas barras de cereais .....</b>	<b>62</b>
5.5.1	Acompanhamento da viabilidade da <i>Saccharomyces boulardii</i> granulada com lactose.....	62
5.5.2	Acompanhamento da viabilidade da <i>Saccharomyces boulardii</i> encapsulada em alginato de cálcio.....	64
5.5.3	Acompanhamento da viabilidade da <i>Saccharomyces boulardii</i> liofilizada Floratil <sup>®</sup> , Merck.....	65
5.5.4	Comparação da viabilidade da levedura <i>Saccharomyces boulardii</i> em barra de cereais, em três formulações diferentes: granulado com lactose, encapsulado em alginato de cálcio e liofilizado Floratil <sup>®</sup> , Merck .....	66
5.5.5	Acompanhamento da viabilidade do <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-14 FloraFIT, liofilizado Danisco.....	68
5.5.6	Acompanhamento da viabilidade do <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-14 FloraFIT, liofilizado Danisco, encapsulados em alginato de cálcio.....	70
5.5.7	Comparação da viabilidade da levedura <i>Saccharomyces boulardii</i> liofilizado Floratil <sup>®</sup> , Merck e <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-14 FloraFIT, liofilizado Danisco, em barra de cereais .....	72
<b>5.6</b>	<b>Avaliação sensorial.....</b>	<b>74</b>
6	CONCLUSÃO .....	80
7	REFERÊNCIAS .....	81