

AMANDA FELIPE REITENBACH

**DESENVOLVIMENTO DE CERVEJA FUNCIONAL COM  
ADIÇÃO DE PROBIÓTICO: *SACCHAROMYCES BOULARDII***

Trabalho de conclusão do curso de pós-graduação apresentando como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, pela Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Prof. Dr. Jorge L. Ninow.

FLORIANÓPOLIS  
2010

AMANDA FELIPE REITENBACH

**DESENVOLVIMENTO DE CERVEJA FUNCIONAL COM  
ADIÇÃO DE PROBIÓTICO: *SACCHAROMYCES BOULARDII***

Trabalho de conclusão do curso de pós-graduação apresentando como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, pela Universidade Federal de Santa Catarina.

Aprovado em 08 de dezembro de 2010.

Banca Examinadora:

---

**Prof. Dr. Jorge L. Ninow**  
Universidade Federal de Santa Catarina  
Orientador

---

  

---

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela Sua presença constante na minha vida, sem que eu precise pedir; pelo auxílio Dele nas minhas escolhas e por Ele me confortar nas horas difíceis.

Ao meu orientador, Professor Jorge, pelos importantes ensinamentos tanto científicos quanto pessoais, pela amizade e apoio.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPQ) pela bolsa de estudos fornecida.

Ao grupo HEINEKEN pela parceria realizada nesse estudo.

A minha família, por todo amor, carinho e apoio incondicionais: Amo muito vocês!

Aos amigos do ENGEBIO, que compartilharam comigo todos os percalços e êxitos deste trabalho; pelas “orientações em entre amigos”, conversas, festas e, por tornarem o laboratório um ambiente agradável e prazeroso; em especial a Camila, que acompanhou de perto todos os problemas e sucessos deste trabalho.

A todos os meus amigos, pelo apoio e pelos momentos de alegria! Agradeço, em especial, à Camila, à Lauren e ao Anderson, que me acompanharam durante todo projeto.

Ao Mestre Cervejeiro Macedo, pelas nossas discussões científicas, pelo incentivo, atenção e conhecimentos transmitidos.

Às Professoras Edna e Sandra, por todo auxílio prestado durante a execução deste trabalho.

Ao Marcelo pelo apoio e pelas contribuições na discussão dos resultados.

Ao Rafael pela ajuda com as análises de cromatografia gasosa.

Aos amigos que acompanharam nesta jornada pelo mundo da cerveja, descobrindo

pequenos detalhes que tornaram este mundo cervejeiro ainda mais interessante e

gostoso para todos nós.

Enfim, a todos que de alguma maneira contribuíram para a execução desse trabalho, seja pela ajuda constante ou por uma palavra de amizade.

Muito obrigada!

*Eu não tenho filosofia: tenho sentidos...  
Se falo na Natureza não é porque saiba o que ela é,  
Mas porque a amo, e amo-a por isso,  
Porque quem ama nunca sabe o que ama  
Nem sabe por que ama, nem o que é amar ...  
Amar é a eterna inocência,  
E a única inocência não pensar...*

Fernando Pessoa

## RESUMO

Nos últimos anos, a preocupação crescente com a saúde e com a qualidade de vida levou as pessoas a se preocuparem em fazer exercícios físicos, ingerir alimentos saudáveis, diminuir o consumo de alimentos ricos em açúcar, sal e gordura. Além disso, houve um aumento na procura por alimentos com alguma propriedade funcional. As mudanças nos hábitos alimentares e no estilo de vida são principalmente em função da busca incessante por saúde, proporcionando melhor qualidade de vida e prevenindo o aparecimento de determinadas doenças. O trato gastrointestinal humano é um microecossistema cinético que possibilita o desempenho normal das funções fisiológicas do hospedeiro, a menos que microrganismos prejudiciais e potencialmente patogênicos dominem. O equilíbrio apropriado da microbiota pode ser assegurado por uma suplementação sistemática da dieta com probióticos, pelos diversos efeitos benéficos atribuídos a tais microrganismos. Dessa forma, com os benefícios da ingestão de probióticos, é possível obter resultados positivos em resposta a diversas alterações patológicas intestinais, além dos vários outros benefícios que o consumo de probióticos pode trazer ao hospedeiro. Dentro deste contexto o objetivo do presente trabalho foi desenvolver uma cerveja tipo Pilsen com propriedades funcionais por meio da adição de probiótico *S. boulardii*. A cerveja foi elaborada com mosto pronto obtido na cervejaria Heineken-unidade Ponta Grossa PR e foi fermentada com levedura comercial de baixa fermentação, pasteurizada e após foi feita a adição de cultura probiótica para garantir a característica de cerveja funcional ao produto final. Durante o processo de fermentação e armazenagem foram feitas análises microbiológicas e físico-química. O Produto final deste estudo apresentou semelhança quando comparado a uma cerveja comercial. Os testes de resistência a etanol, sais biliares e pH ácido foram positivos mantendo níveis superiores de UFC ao indicado pela legislação mostrando assim que pode ser um produto funcional com características que agradam o consumidor.

**Palavras-Chave:** Cerveja, Funcional, *S. Boulardii*

## ABSTRACT

In recent years, the growing concern over the health and quality of life led people to worry about doing exercise, eating healthy foods, reduce consumption of foods with much sugar, salt and fat. Furthermore, there was an increasing demand for foods with some functional properties. Changes in eating habits and lifestyle are mainly due to the relentless pursuit of health, improving better quality of life and preventing certain diseases. The human gastrointestinal tract is a kinetic micro-ecosystem that enables the normal performance of the host physiological functions, unless harmful and potentially pathogenic microorganisms dominate. The proper balance of microflora can be ensured by diet systematic supplementation with probiotics, due the beneficial effects attributed to such organisms. Thus, with the probiotic intake benefits, it is possible to obtain positive results in response to various intestines pathological changes, besides many other benefits that probiotics consumption can bring to the host. Within this context, the objective of this study was to develop a Pilsen beer with functional properties, through the addition of probiotic *S. boulardii*. The beer was prepared with a ready wort, obtained from Heineken brewery unit, at Ponta Grossa, Parana State, Brazil. The beer was fermented with commercial yeast of low fermentation, pasteurized and, after, the addition of probiotic culture was made to ensure the characteristic of functional beer to the final product. During the fermentation and storage process, microbiological analysis and physical chemistry were performed. The final product of this study showed similarity when compared to a commercial beer. Tests for resistance to ethanol, bile salts and acid pH were positive, maintaining higher UFC levels than the indicated by legislation, showing that may be a functional product with features that please the consumer.

**Keywords:** Beer, Functional, *S. boulardii*

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Alguns compostos voláteis do óleo essencial do lúpulo. Fonte: Bamforth (2000)..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 2 - Fluxograma de processamento da cerveja. Fonte: Silva (2005). **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 3 - Formação e degradação do diacetil na cerveja em maturação. Fonte LINKO et al. (1998)..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 4 - Alguns compostos fenólicos presentes na cerveja. Fonte: Bamforth (2000)..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 5 - Fluxograma do cultivo ..... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 6 - Curva de calibração para concentração celular do *S. bouldarii*... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 7 - Curva de calibração para glicose no meio de cultivo. **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 8 - Curva de calibração do etanol pelo método de CG com head-space. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 9 - Biorreator em aço inoxidável com capacidade de 8 litros. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 10 - Análise dos parâmetros da concentração celular (g/L), concentração de glicose consumida (g/L) e álcool % (v/v) do cultivo. **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 11 - Análise do parâmetro pH dos experimentos realizados em agitador-incubador. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 12 - Cerveja Pilsen com adição de probiótico. Fonte: Acervo do autor. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 13 - Frequência de notas da aceitabilidade global da cerveja sem probiótico, com probiótico e comercial com escala hedônica de nove pontos..... **Erro! Indicador não definido.**

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Países com maior consumo per capita de cerveja. Fonte SINDICERV (2007).....**Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 2 - Teores de minerais na água dos principais centros cervejeiros. Fonte Cereda e Venturini Filho (2005). ....**Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 3 - Composição da cerveja e a relação com a ingestão diária recomendada. Fonte: BAMFORTH, 2005.**Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 4 - Doçura relativa e níveis de alguns açúcares simples na cerveja. Fonte: Cortacero-Ramirez et al. (2003). ..**Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 5 - Variáveis e composição do mosto. Fonte Cervejaria Heineken. . **Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 6 - Composição do meio de cultura. Fonte: PELCZAR, REID, CHAN, 1996. ....**Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 7 - Análises físico-químicas e microbiológicas do mosto. .... **Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 8 - Contagem de *S. boulardii* (Log UFC.mL<sup>-1</sup>) após exposição ao pH 1,0 2,0; e 3,0 em meio acidificado com HCl 3M, durante 30 a 90 min. ....**Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 9 - Capacidade de crescimento da cepa probiótica frente à ausência e presença de 0,3% de sais biliares, no período de 30 a 90 minutos... **Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 10 - Capacidade de crescimento da cepa probiótica frente e presença de álcool etílico nas concentrações 1,2,3,4,e 5 % (V/V), no período de 24 horas. ....**Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 11 - Contagens de *S. boulardii* durante armazenamento de 28 dias da cerveja.....**Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 12 - Análises físico-químicas da cerveja sem adição de probiótico e com adição de cultura probiótica após o período e estocagem de 28 dias. ....**Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 13 - Análises físico-químicas das amostras com adição de probiótico e sem adição de probiótico. ....**Erro! Indicador não definido.**

Tabela 14 - Resultados da análise de variância para o teste afetivo para cervejas.

..... **Erro! Indicador não definido.**

## LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - Produção de etanol e CO<sub>2</sub> pelas leveduras, a partir da glicose.**Erro! Indicador não definido.**

Equação 2 - Concentração celular. ....**Erro! Indicador não definido.**

Equação 3 - Extrato real. ....**Erro! Indicador não definido.**

Equação 4 - Cor .....**Erro! Indicador não definido.**

Equação 5 - Grau de fermentação.....**Erro! Indicador não definido.**

Equação 6 - Extrato original. ....**Erro! Indicador não definido.**

Equação 7 - Fator de conversão substrato em células (g/g).**Erro! Indicador não definido.**

Equação 8 - Concentração celular. ....**Erro! Indicador não definido.**

Equação 9 - Produtividade em biomassa. ....**Erro! Indicador não definido.**

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

Abs	absorbância
CG	Cromatógrafo Gasoso
CV	Coefficiente de Variação
g/g	grama/grama
GL	Gay Lussac
CLAE	Cromatografia Gasosa de Alta Eficiência
HS	<i>head-space</i>
LQ	Limite de Quantificação
M	massa
P.A.	pureza analítica
p/v	peso/volume
UV	ultravioleta
v/v	volume/volume
PDA	Potato Dextrose Agar
IBU/BU	International Bittering Units (1 IBU = 1mg/L de ácido-iso-alfa)
TRUB	Matéria morta, causa aromas e sabores desagradáveis
EBC	European Brewery Convention
°P/Plato	Sólidos solúveis totais
FAN	Amino nitrogênio livre no malte/mosto

## SUMÁRIO

**1 INTRODUÇÃO.....ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

**2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

**2.1 PROBIÓTICOS..... ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

**2.2 SACCHAROMYCES BOULARDII.... ERRO! INDICADOR NÃO**

**DEFINIDO.**

*2.1.1 Mecanismos de ação do S. boulardii. Erro! Indicador não definido.*

*2.1.1.1 Proteção ecológica.... Erro! Indicador não definido.*

*2.1.1.2 Imunoestimulação .... Erro! Indicador não definido.*

*2.1.1.3 Efeito trófico na mucosa intestinal .. Erro! Indicador não definido.*

*2.1.2 Nutrição e metabolismo da S. boulardii... Erro! Indicador não definido.*

**2.3 CERVEJAS..... ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

*2.3.1 Legislação brasileira de cervejas..... Erro! Indicador não definido.*

*2.3.2 Classificação e tipos das cervejas ..... Erro! Indicador não definido.*

*2.3.3 Matérias-primas para fabricação de cerveja ..... Erro! Indicador não definido.*

*2.3.3.1 Malte de cevada..... Erro! Indicador não definido.*

*2.3.3.2 Água ..... Erro! Indicador não definido.*

*2.3.3.3 Lúpulo ..... Erro! Indicador não definido.*

*2.3.3.4 Leveduras ..... Erro! Indicador não definido.*

*2.3.3.5 Adjuvantes ..... Erro! Indicador não definido.*

*2.3.4 Processamento da cerveja. Erro! Indicador não definido.*

*2.3.4.1 Produção do mosto ... Erro! Indicador não definido.*

*2.3.4.2 Fermentação ..... Erro! Indicador não definido.*

*2.3.4.3 Acabamento da cerveja ..... Erro! Indicador não definido.*

*2.3.6 Aspectos nutricionais da cerveja..... Erro! Indicador não definido.*

*2.3.7 Constituintes químicos da cerveja..... Erro! Indicador não definido.*

*2.3.7.1 Etanol ..... Erro! Indicador não definido.*

*2.3.7.2 Dióxido de carbono .. Erro! Indicador não definido.*

2.3.7.3 Carboidratos ..... **Erro! Indicador não definido.**

2.3.7.4 Lipídeos ..... **Erro! Indicador não definido.**

2.3.7.5 Compostos fenólicos. **Erro! Indicador não definido.**

2.3.7.6 Proteínas, polipeptídios e aminoácidos..... **Erro!**

**Indicador não definido.**

2.3.7.7 Cervejas funcionais... **Erro! Indicador não definido.**

2.4 ANÁLISE SENSORIAL .... **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

### **3 MATERIAL E MÉTODOSERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

3.1 MOSTO CERVEJEIRO .... **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

3.2 CEPAS UTILIZADAS ..... **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

3.3 PREPARO DO MEIO DE CULTURA. **ERRO! INDICADOR NÃO**

**DEFINIDO.**

3.4 OBTENÇÃO DO INÓCULO ..... **ERRO! INDICADOR NÃO**

**DEFINIDO.**

3.5 CULTIVOS DE *S.BOULARDII* ..... **ERRO! INDICADOR NÃO**

**DEFINIDO.**

3.6 MÉTODOS ANALÍTICOS **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

3.6.1 *Concentração celular*..... **Erro! Indicador não definido.**

3.6.2 *Concentração de glicose*.... **Erro! Indicador não definido.**

3.6.3 *Determinação do pH*..... **Erro! Indicador não definido.**

3.6.4 *Concentração de etanol*.... **Erro! Indicador não definido.**

3.6.5 *Células viáveis de s. bouldardii*..... **Erro! Indicador não**

**definido.**

3.6.6 *Acidez total* ..... **Erro! Indicador não definido.**

3.6.7 *Extrato real*..... **Erro! Indicador não definido.**

3.6.8 *Amargor*..... **Erro! Indicador não definido.**

3.6.9 *Cor*..... **Erro! Indicador não definido.**

3.6.10 *Extrato original, aparente e grau de fermentação*... **Erro!**

**Indicador não definido.**

3.6.11 *Análises físico-químicas*... **Erro! Indicador não definido.**

3.6.12 *Cálculo dos parâmetros cinéticos do processo de cultivo*

..... **Erro! Indicador não definido.**

3.6.13 *Comprovação do efeito probiótico da cepa s. bouldardii*

..... **Erro! Indicador não definido.**

3.6.14 *Elaboração da cerveja funcional com s. bouldardii*.. **Erro!**

**Indicador não definido.**

3.6.15 *Ativação e adição da cultura probiótica saccharomyces bouldardii*..... **Erro! Indicador não definido.**

3.6.16 *Análises durante o armazenamento da cerveja* ..... **Erro!**  
**Indicador não definido.**

3.6.17 Teste afetivo - escala hedônica estruturada ..... **Erro!**  
**Indicador não definido.**

3.6.17 Condições da Amostra..... **Erro! Indicador não definido.**

3.6.18 Painel sensorial..... **Erro! Indicador não definido.**

3.6.19 Teste de aceitação entre três amostras de cerveja .. **Erro!**  
**Indicador não definido.**

**4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

4.1 ANÁLISES DO MOSTO ... **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

4.2 CULTIVO DE *S. BOULARDII*..... **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

4.3 CÁLCULO DOS PARÂMETROS CINÉTICOS ..... **ERRO!**  
**INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

4.4 PRODUTIVIDADE E VELOCIDADE ESPECÍFICA DE CRESCIMENTO ..... **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

4.5 RESISTÊNCIA AO PH, SAIS BILIARES E ETANOL... **ERRO!**  
**INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

4.6 PRODUÇÃO DE CERVEJA FUNCIONAL **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

4.7 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO PRODUTO FINAL ..... **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

4.8 TESTE AFETIVO DE ACEITAÇÃO – ESCALA HEDÔNICA ESTRUTURADA 9 PONTOS..... **ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

**5 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS .....ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

**REFERÊNCIAS.....ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.**

