

## Artigo

## Caracterização e Aceitabilidade de Barras de Cereais Enriquecidas com Colágeno Hidrolisado

Ferreira, P. M.;\* Roberto, B. S.; Camisa, J.

Rev. Virtual Quim., 2018, 10 (1), 155-171. Data de publicação na Web: 5 de março de 2018

<http://rvq.sbg.org.br>

### Characterization and Acceptability of Cereal bars Enriched with Hydrolyzed Collagen

**Abstract:** Cereal bars are considered a nutritious food with sweet and pleasant taste, source of vitamins, minerals, fiber, proteins and complex carbohydrates, besides its convenience and association with healthy foods. The present work produced a cereal bar enriched with collagen, and had as objective to analyze the physical-chemical, microbiological and sensorial characteristics. Determinations of ash, acidity, proteins, fibers, moisture and pH were performed. The samples were submitted to microbiological analysis of *Salmonella* spp., total and thermotolerant coliforms. The results showed that the collagen - containing cereal bars had a relatively acidic pH (6.08) and could favor inhibition of growth of microorganisms. In addition, the samples presented high fiber content, a fact that adds nutritional value to the product. The cereal bars produced with collagen, presented higher protein content when compared to the bars of cereals available in the market. In the analyzes of acceptability and intention of purchase the bar with collagen presented good acceptability for the attributes of appearance and flavor. Thus, the development of cereal bars with addition of collagen becomes viable as an alternative for the development of new products with high nutrient value.

**Keywords:** Protein product; functional food; snacks; sensory analysis.

### Resumo

As barras de cereais são consideradas um alimento nutritivo de sabor adocicado e agradável, fonte de vitaminas, minerais, fibras, proteínas e carboidratos complexos, além de sua conveniência e associação com alimentos saudáveis. O presente trabalho produziu uma barra de cereal enriquecida com colágeno e teve como objetivo analisar as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. Foram realizadas determinações de cinzas, acidez, proteínas, fibras, umidade e pH. As amostras foram submetidas a análises microbiológicas para detecção de *Salmonella* spp., coliformes totais e termotolerantes. Os resultados demonstraram que as barras de cereais contendo colágeno apresentaram pH relativamente ácido (6,08), podendo favorecer inibição de crescimento de microorganismos. Além disso, as amostras apresentaram elevado teor de fibra, fato que agrega valor nutricional ao produto. As barras de cereais produzidas com colágeno apresentaram conteúdo proteico superior quando comparado com as barras de cereais disponíveis no mercado. Nas análises de aceitabilidade e intenção de compra a barra com colágeno apresentou boa aceitabilidade para os atributos de aparência e sabor. Dessa forma, o desenvolvimento de barras de cereais com adição de colágeno torna-se viável como alternativa para o desenvolvimento de novos produtos com alto valor de nutrientes.

**Palavras-chave:** Produto proteico; alimento funcional; snacks; análise sensorial.

\* Universidade Norte do Paraná, Departamento de Química, Campus Arapongas, CEP 86702-670, Arapongas-PR, Brasil.

✉ [milenapf41@hotmail.com](mailto:milenapf41@hotmail.com)

DOI: [10.21577/1984-6835.20180014](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20180014)

## Caracterização e Aceitabilidade de Barras de Cereais Enriquecidas com Colágeno Hidrolisado

Milena do P. Ferreira,<sup>a,\*</sup> Sharise B. Roberto,<sup>b</sup> Jaqueline Camisa<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Universidade Norte do Paraná, Departamento de Química, Campus Arapongas, CEP 86702-670, Arapongas-PR, Brasil.

<sup>b</sup> Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Química, CEP 87020-900, Maringá-PR, Brasil.

<sup>c</sup> Universidade Norte do Paraná, Departamento de Química, Campus Londrina, CEP 86041-140, Londrina-PR, Brasil.

\* [milenapf41@hotmail.com](mailto:milenapf41@hotmail.com)

*Recebido em 31 de outubro de 2017. Aceito para publicação em 19 de fevereiro de 2018*

### 1. Introdução

- 1.1. Fibra Alimentar
- 1.2. Colágeno Hidrolisado: proteína fibrosa
- 1.3. Barras de cereais
- 1.4. Micro-organismos presentes em cereais

### 2. Materiais e Métodos

- 2.1. Processamento das barras de cereais padrão e com adição de colágeno hidrolisado
- 2.2. Análises Microbiológicas
- 2.3. Análises Físico-Químicas
- 2.4. Análise Sensorial

### 3. Resultado e Discussão

- 3.1. Análises Microbiológicas
- 3.2. Análises Físico-Químicas
- 3.3. Análise Sensorial

### 4. Conclusão

#### 1. Introdução

Os consumidores são atraídos por rótulos atrativos que os estimulam ao consumo excessivo de alimentos ricos em açúcares,

sódio, gorduras e pobres em fibras, vitaminas e minerais. Sofrem também com o sedentarismo, onde a desculpa da realização de diversas tarefas predomina, impossibilitando uma vida com hábitos saudáveis.<sup>1</sup>

Uma vida saudável está relacionada com a alimentação e conseqüentemente ao crescimento, desenvolvimento e saúde geral dos indivíduos. Pesquisas atuais comprovam que uma dieta rica em fibras protege contra diversos tipos de cânceres, obesidade, diabetes, desnutrição, entre outras, e ainda aumenta a saciedade.<sup>2</sup>

Devido a estes estudos, a preocupação com a qualidade de vida tem crescido nos últimos anos e tem levado o consumidor a procurar produtos saudáveis que melhoram as condições de saúde e promovem o bem-estar. Alimentos contendo um ou mais ingredientes com propriedades terapêuticas, isto é, propriedades curativas e nutricionais (como fibras alimentares), antioxidantes (como os compostos fenólicos e carotenoides), proteínas, peptídeos, prebióticos, probióticos entre outros, são conhecidos como alimentos funcionais.<sup>3,4</sup>

### 1.1. Fibra Alimentar

Fibra alimentar é a parte comestível de plantas ou carboidratos análogos que são resistentes à digestão e absorção no intestino delgado de humanos, podendo ser fermentada completamente ou parcialmente no intestino grosso.<sup>5</sup> De acordo com a solubilidade em água, as fibras podem ser classificadas em duas categorias: fibras solúveis e fibras insolúveis.<sup>2</sup>

As fibras solúveis incluem a maioria das pectinas, gomas, mucilagens e hemiceluloses. São encontradas em frutas, farelo de aveia, cevada e leguminosas (feijão, lentilha, ervilha e grão de bico). Estas são responsáveis pelo aumento do tempo de trânsito intestinal e diminuição do esvaziamento gástrico.<sup>6</sup>

A categoria das fibras insolúveis contribui para o aumento do volume do bolo fecal, redução do tempo de trânsito intestinal, retardo da absorção de glicose, retardo da hidrólise do amido e redução do risco de doenças do trato digestório.<sup>7</sup>

Para a determinação da fibra alimentar podem ser usado os seguintes métodos: fibra

bruta (FB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA). É possível separar através do detergente neutro o conteúdo celular (fração solúvel), constituída por proteínas, carboidratos solúveis e gorduras da parede celular, da fração insolúvel no detergente neutro, a qual é chamada de fibra em detergente neutro (FDN), constituída de celulose, hemicelulose, lignina, proteína e matéria mineral (cinzas). O detergente ácido específico, solubiliza o conteúdo celular, a hemicelulose e os minerais solúveis, além de uma parte da proteína insolúvel, dando origem a fibra em detergente ácido (FDA), constituída de celulose, lignina e uma pequena quantidade de proteína e minerais.<sup>8</sup>

A Portaria nº27/1998, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA),<sup>9</sup> regulamenta, exclusivamente, a informação nutricional complementar dos alimentos que sejam produzidos, embalados e comercializados, prontos para a oferta ao consumidor. Alimentos sólidos com 3,0% de fibra alimentar são considerados “fonte de fibra” e se possuírem quantidade  $\geq 6,00\%$  devem receber o atributo de “alto teor de fibra”.

### 1.2. Colágeno Hidrolisado: proteína fibrosa

O colágeno é um ingrediente com características funcionais. Devido a deficiência de colágeno no início da fase adulta, houve um aumento no interesse pela aplicação industrial de colágeno em suplementos alimentares, em produtos alimentícios e em cosméticos.<sup>4</sup> A deficiência de colágeno no organismo denomina-se colagenoses, acarretando alguns problemas como má formação óssea, rigidez muscular, problemas com o crescimento, inflamação nas juntas musculares, doenças cutâneas, entre outros. A dose recomendada desta proteína é de cerca de 10g ao dia.<sup>10</sup>

A utilização do hidrolisado de colágeno se deve principalmente pela capacidade de

retenção de água, por ser um agente ligante e por possuir alto teor proteico (de 84 a 90%). Não contém carboidratos e o produto final não apresenta sabor amargo. O hidrolisado de colágeno contribui para uma ótima aglutinação e textura crocante.<sup>11</sup>

O termo “colágeno” é atualmente utilizado para denominar uma família de pelo menos 27 isoformas de proteínas. A unidade básica do colágeno é o tropocolágeno uma molécula linear com 180nm de comprimento, 1,4 a 1,5nm de largura e massa molar de até 300.000Da.<sup>12</sup> A sequência de aminoácidos no colágeno é, em geral, uma unidade tripeptídica, glicina-X-prolina ou glicina-X-hidroxi-prolina, onde o X pode ser qualquer um dos 20 aminoácidos-padrão. A presença da prolina e hidroxiprolina pontuam as curvas da hélice (tripla-hélice) da conformação helicoidal.<sup>4</sup>

O colágeno nativo é submetido ao tratamento químico para a remoção de gordura e para a eliminação do cálcio.<sup>13</sup> A partir dele podem ser obtidos: fibra de colágeno, colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina) e colágeno hidrolisado. Para a obtenção do colágeno hidrolisado solúvel em água (sem poder de gelificação), o mesmo passa por uma hidrólise química e enzimática sob condições controladas (50 a 60°C).<sup>14</sup>

Alguns estudos já foram realizados para analisarem os efeitos da ingestão do colágeno hidrolisado. Zague<sup>15</sup> estudou em relação ao efeito nas propriedades da pele, levantando a hipótese que uma alimentação suplementada com colágeno hidrolisado promovesse a síntese de colágeno na pele. O trabalho mostrou importante contribuição e a compreensão da viabilidade do uso de colágeno hidrolisado na dieta funcional. Os resultados indicaram que a ingestão de colágeno hidrolisado pode aumentar a produção de colágeno pelos fibroblastos e retardar o envelhecimento da pele.

Na área de Tecnologia de Alimentos, é possível citar o estudo realizado por Bilek e Bayram<sup>16</sup> onde bebidas de suco de frutas contendo colágeno hidrolisado foram

formuladas e produzidas como uma nova bebida funcional. Testes sensoriais de diferença e preferência foram conduzidos para selecionar a formulação mais preferida contendo colágeno, constatando que a formulação com 2,5% de colágeno teve maior preferência. O produto final indicou um aumento significativo de proteína.

Wang et al.<sup>17</sup> analisaram o impacto da adição de quatro diferentes pós superfinos de colágeno (CSPs) de pele de porco em salsicha vermelha Harbin. Com os resultados obtidos perceberam uma melhora nas propriedades reológicas, onde os autores concluem sendo uma alternativa viável para preenchimento e modificador de texturas.

No trabalho realizado por Hashim et al.<sup>18</sup> foi exposto algumas aplicações do colágeno nas indústrias de alimentos e bebidas. Um dos exemplos apresentados foi o uso de colágeno como filmes e revestimento comestíveis. Observou-se o aumento de suculência em assados, presuntos desossados e filetes de peixe quando usado filmes comestíveis de colágeno.

Fernandes et al.<sup>19</sup> propõem o desenvolvimento de sorvete de iogurte tipo frozen com adição de colágeno hidrolisado como aditivo. Os resultados obtidos da análise sensorial foram satisfatórios, tendo como soma das notas “gostei muito” e gostei extremamente” em mais de 50% das avaliações. O sorvete mostrou-se ser uma alternativa viável para a introdução de colágeno na alimentação.

### 1.3. Barra de cereais

As barras de cereais atendem a esta tendência de indivíduos que procuram o consumo de produtos saudáveis, pois as mesmas possuem uma combinação de multicomponentes importantes para a saúde. Os atributos de textura, sabor e propriedades físicas são definidos pela combinação adequada dos ingredientes, que devem se completar mutuamente. Possui baixo teor ou

é isenta de gorduras.<sup>20</sup> Além disso, estas estão facilmente disponíveis em mercados, apresentam embalagens compactas, facilitando o transporte e consumo e preço relativamente baixo. O atributo “alimento saudável com elevado sabor” é o item de maior relevância na decisão de compra dos consumidores.<sup>21</sup>

As barras de cereais foram introduzidas em meados da década de 80 como uma alternativa “saudável” de confeito, quando consumidores se mostravam mais interessados em saúde e dietas (exemplo: barra proteica, barra com baixa % de gordura, etc.). No entanto, conforme foi ganhando espaço no mercado, foi sendo direcionada para outros tipos de público específicos, como: barras visando à saúde da próstata do homem, barras para diabéticos, estabelecendo o nível de açúcar no sangue, e barras que auxiliam no combate à osteoporose.<sup>22</sup>

Os “snacks” são produtos fáceis de consumir, requisitando pouco ou nenhum preparo para o consumo, como o caso das barras de cereais. Até pouco tempo atrás, o valor nutritivo dos “snacks” era pouco considerado, entretanto, a tendência de crescimento de consumo de alimentos nutritivos e naturais tem levado a indústria a ampliar o desenvolvimento desses produtos, por exemplo, por meio de uso de novos ingredientes, elaborando produtos enriquecidos de proteínas, vitaminas, minerais e fibras e com um bom balanço de calorias.<sup>23</sup>

Atualmente, o processamento das barras de cereais é composto por duas fases, a “fase sólida” obtida da compactação de grãos (cereais), oleaginosas (nozes, castanhas e amêndoas) e frutas secas, e a “fase contínua” onde são adicionadas as substâncias ligantes, que possuem uma gama de variedades, tais como o mel, açúcar mascavo, sacarose, glicose, óleos, gordura vegetal, colágeno hidrolisado entre outros.<sup>21</sup>

#### 1.4. Micro-organismos presentes em cereais

Dentre os micro-organismos envolvidos no processo de contaminação dos grãos de cereais, destacam-se o *Bacillus cereus*, coliformes totais e termotolerantes e a *Salmonella* spp, previstos pela ANVISA, dos quais podem causar ao homem diarreia, náuseas, dores abdominais e febre podendo levar a morte em indivíduos imunodeprimidos.<sup>24</sup>

Fatores extrínsecos (temperatura e umidade relativa) e fatores intrínsecos (atividade de água, pH, potencial redox e a composição do alimento) são responsáveis pelo desenvolvimento microbiano nos alimentos, além da condição física e sanitária do grão. As barras de cereais são classificadas em “alimentos de baixa umidade”, possuem atividade de água ( $a_w$ ) menor do que 0,6 ocasionando assim uma estabilidade microbiológica, desta forma podendo ser estocadas em temperatura ambiente.<sup>21</sup>

Os manipuladores de alimentos desempenham importante função na preservação da higiene do alimento, uma vez que podem representar uma importante fonte de transmissão de patógenos. A armazenagem inadequada dos produtos em alguns estabelecimentos, também influenciam na qualidade do alimento.<sup>25</sup>

Segundo exposto acima as barras de cereais tornam-se a cada dia, um produto viável e nutritivo. Dessa forma, objetivou-se neste trabalho produzir barra de cereal com adição de colágeno hidrolisado, suas análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais, além da verificação de intenção de compra de um produto diferenciado.

## 2. Materiais e Métodos

Foram processadas duas formulações de barras de cereais: uma padrão (isenta de colágeno) e outra contendo 16% de colágeno hidrolisado como agente ligante. Ambas foram submetidas às análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais.

Na Tabela 1 são apresentados os ingredientes utilizados na formulação das barras de cereais, que foram adquiridos no comércio local de Arapongas, Paraná, Brasil.

**Tabela 1.** Formulação utilizada para a fabricação das barras de cereais (%/100g)

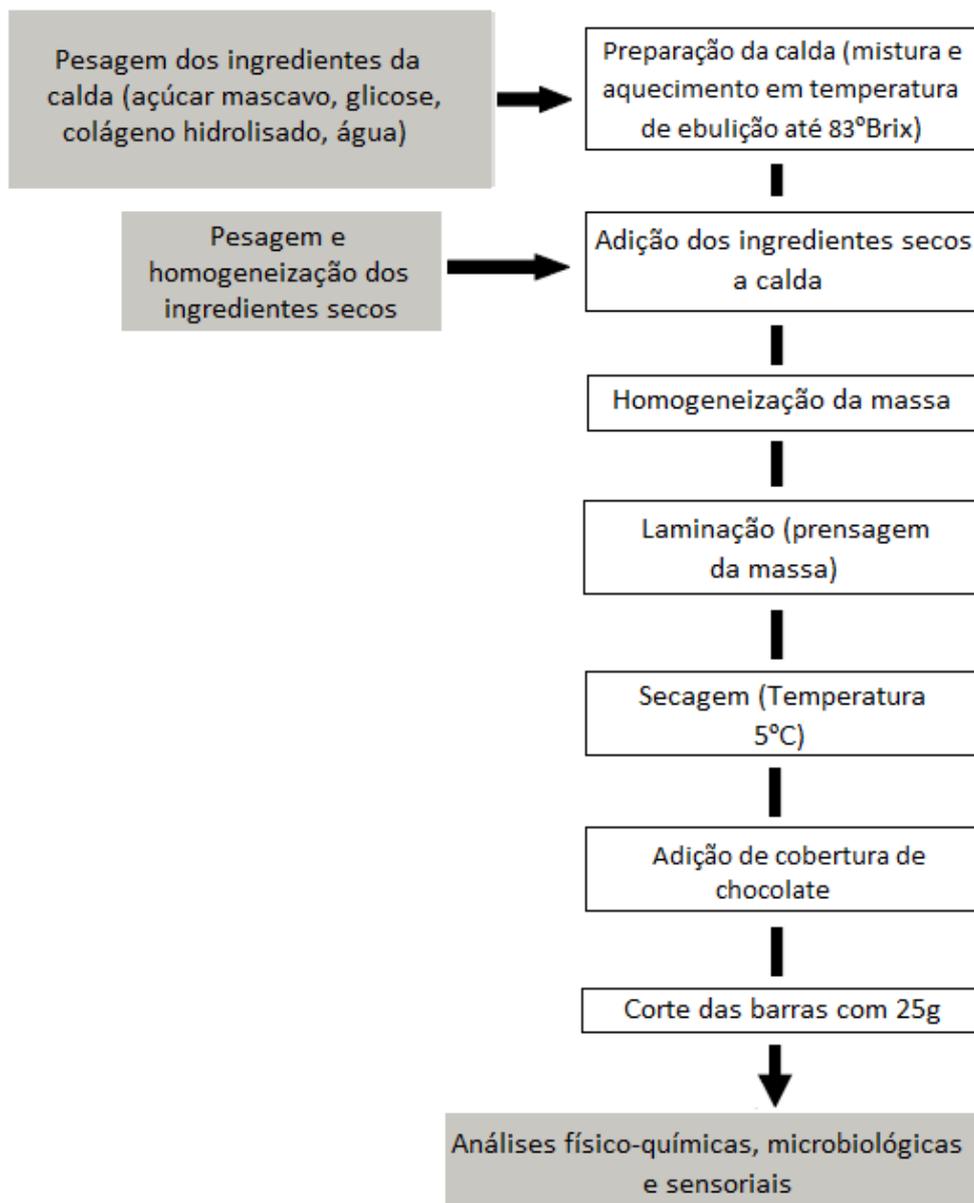
Ingredientes	Teor (%)	
	Padrão	Enriquecido com Colágeno
Açúcar mascavo	16	3
Glicose	10	7
Colágeno	-	16
Água	34	34
Amaranto	5	5
Quinoa	5	5
Avelã	4	4
Gergelim	6	6
Fibra de trigo	10	10
Flocos de arroz	10	10

### 2.1. Processamento das barras de cereais padrão e com adição de colágeno hidrolisado

O processamento das barras padrão e com adição de colágeno hidrolisado seguiram as etapas apresentadas na Figura 1. Ambas passaram por processo manual, seguindo o proposto por Matsuura<sup>23</sup> com modificações.

Os ingredientes secos, previamente misturados, foram adicionados a mistura aquecida (próxima a 100°C) de ingredientes líquidos, também previamente misturados e

concentrados em temperatura de ebulição até 83°Brix, e misturados por um minuto. A seguir, essa mistura de ingredientes secos e líquidos foi acondicionada em bandejas de inox e prensada com o auxílio de uma espátula. A bandeja foi colocada em refrigerador doméstico (5°C) para resfriamento por 10 minutos, seguindo-se de adição de cobertura de chocolate e por último o corte, com uso de utensílio com disco cortante. Após a formulação das barras de cereais, deu-se sequência imediatamente nas análises físico-químicas e microbiológicas.



**Figura 1.** Fluxograma das operações de processamento das barras de cereais com colágeno hidrolisado

## 2.2. Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas segundo Silva, Junqueira e Silveira,<sup>26</sup> pela contagem do número mais provável, sendo elas: coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Salmonella* spp. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

As análises de coliformes totais e termotolerantes foram feitas através da

técnica do Número Mais Provável (NMP). A amostra (25g) foi homogeneizada com 225mL de água peptonada 0,1% e submetida a diluições de  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$  em tubos com 9mL de água peptonada. Depois de realizada as diluições, foi inoculado 1mL de cada diluição em três tubos de Caldo Lactosado (CL) com tubos de Durham, que foram mantidos a 35°C por no máximo 48 horas, sendo esta etapa presuntiva. Os tubos que apresentaram turbidez e formação de gás dentro dos tubos de Durham foram considerados positivos, e destes foram retiradas de uma a duas gotas

com uma alça de platina e inoculadas em tubos com Caldo Lactose Bile Verde Brilhante (CLBVB) com tubos de Durhan e incubados a 35°C por 48 horas. Para confirmação de coliformes totais, após este período foram considerados positivos aqueles tubos que apresentaram a presença de gás e turbidez do meio de cultura, sendo expressos em NMP.g<sup>-1</sup>. A partir dos tubos positivos de coliformes totais foram retiradas de uma a duas gotas do caldo e inoculadas em tubos com Caldo EC contendo tubos de Durhan que foram incubados em banho maria a 45,5°C por 48 horas. Após este período foi observada turbidez e produção de gás, sendo estes tubos positivos para coliformes termotolerantes, sendo o resultado expresso em NMP.g<sup>-1</sup>.

Para a análise de *Salmonella* spp a amostra (25g) foi diluída em 225mL de caldo de pré-enriquecimento e incubada a 35°C por 24 horas. Posteriormente, 1mL da cultura foi transferido para um tubo com 10mL de caldo Tetracionado (TT), sendo incubado a 35°C por 24 horas. Após esse período, foi realizado plaqueamento diferencial em Ágar Entérico de Hectoen (HE), Ágar Bismuto Sulfito (BS) e Ágar Xilose Lisina Desoxicilolato (XLD), sendo incubado a 35°C por 24 horas. As colônias típicas foram identificadas por testes bioquímicos.

### 2.3. Análises Físico-Químicas

Os parâmetros de pH, umidade, acidez e cinza, foram realizadas segundo o Manual Técnico do Instituto Adolfo Lutz.<sup>27</sup> As análises de proteínas e fibras foram realizadas de acordo com Mizubuti *et al.*<sup>28</sup> Todos os procedimentos físico-químicos foram feitos em triplicata, realizados no laboratório de química da Universidade do Norte do Paraná (UNOPAR), Campus Arapongas, Paraná, Brasil.

Na análise de pH pesou-se 10g da amostra em um béquer, diluiu-se com o auxílio de 100mL de água deionizada. Para que ficasse

uniforme a solução, foi agitado o conteúdo até homogeneização. Para a determinação do pH, utilizou-se o método eletrodo de vidro (KCl/AgCl saturado), com sistema microprocessado e calibração em tampões 4,0 e 7,0. O aparelho utilizado foi o INSTRUTERM, pHmetro PH – 2000.

A umidade foi realizada por secagem direta em estufa a 105°C. Foi pesado 5g da amostra em cápsula de porcelana, previamente tarada. Aqueceu-se durante 3 horas. Após esse tempo foi colocada em dessecador para o resfriamento da amostra até a temperatura ambiente, em seguida pesou-se. Repetiu-se o procedimento de aquecimento e resfriamento até peso constante.

Cálculo:  $(100 \cdot N)/P =$  umidade ou substâncias voláteis a 105 °C

N = nº de gramas de umidade (perda de massa em g)

P = nº de gramas da amostra

Para realizar a análise de acidez a amostra pesada (5g) foi transferida para um frasco erlenmeyer de 125mL, em seguida adicionou-se 50mL de água deionizada. Adicionou 4 gotas da solução fenolftaleína e titulou-se com solução de hidróxido de sódio 0,1 M, até coloração rósea. O pH para determinar o ponto de viragem é de 8,2 – 8,4.

Cálculo:  $[(V \cdot f)/(P \cdot c)] \cdot 100 =$  acidez em solução molar por cento m/m

V = nº de mL da solução de hidróxido de sódio 0,1mol.L<sup>-1</sup> gasto na titulação

f = fator da solução de hidróxido de sódio 0,1mol.L<sup>-1</sup>

P = nº de g da amostra usado na titulação

c = correção para solução de NaOH - 10 para solução NaOH 0,1mol.L<sup>-1</sup>

Para determinação de resíduo por incineração – cinzas, foi pesado 5g da amostra em uma cápsula de porcelana, previamente aquecida em mufla a 550°C, resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada. Carbonizou-se em

temperatura baixa em chapa elétrica e posteriormente foi incinerado a 550°C, até eliminação completa da matéria orgânica. A cor final das cinzas foi branca. Resfriou-se em dessecador até a temperatura ambiente e pesou-se. Repetiu-se a operação de aquecimento e resfriamento até peso constante.

Cálculo:  $(100 \cdot N)/100 =$  cinzas por cento m/m

N = nº de g de cinzas

P = nº de g da amostra

No método de determinação de proteína bruta pelo método Kjeldahl tem-se uma estimativa do conteúdo total de nitrogênio do alimento e conversão da porcentagem desse nitrogênio para proteína, assumindo que todo nitrogênio no alimento é proveniente da proteína e usando um fator de conversão (fator médio - 6,25) baseado na proteína alimentar. É dividido em 3 etapas: Digestão, Destilação e Titulação.

A análise foi realizada a partir de 0,2g de amostra homogeneizada, digerida em bloco digestor com mistura digestora ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$  juntamente com  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  e selênio metálico em pó) e ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), aquecida até 400°C por 30 minutos e em seguida resfriada e diluída em 20mL de água destilada. Foi preparado separadamente 10mL de ácido bórico ( $\text{H}_3\text{PO}_3$ ) 2% e indicador misto (vermelho de metila juntamente com verde de bromocresol em álcool etílico) e levado ao destilador. A amostra foi acrescida de 50mL de hidróxido de sódio (NaOH) 40% e destilada por arraste de vapor. Cerca de 50mL da solução obtida foi titulada com ácido sulfúrico 0,2 N fatorado até coloração rosa.

Cálculo: Proteína bruta (%) =  $(V \cdot Fc \cdot 0,00028 \cdot 6,25)/PA \times 100$

V = volume de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  gasto na titulação

Fc = fator de correção do  $\text{H}_2\text{SO}_4$

PA = peso da amostra seca em gramas

6,25 = fator de conversão de nitrogênio em proteína

0,00028 = equivalente de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  correspondente ao nitrogênio

Obs: já multiplicado pela normalidade

Na determinação de FDN e FDA, foi pesado 0,35 gramas de amostra seca, previamente triturada, e transferida em tubo apropriado. Para a determinação em FDN foi adicionado 35mL de solução de detergente neutro juntamente com 2mL de decaidronaftaleno e 0,2 gramas de sulfito de sódio. Para a determinação em FDA adicionou-se 35mL de solução de detergente ácido juntamente com 2mL de decaidronaftaleno. As amostras foram levadas em um bloco digestor com temperatura de aquecimento de  $135 \pm 1^\circ\text{C}$ . Após o início da fervura, a digestão ocorreu por 60 minutos. Logo em seguida foi filtrado a vácuo, em cadinho filtrante de vidro, lavando duas vezes com água quente, em seguida 2 vezes com acetona. Os cadinhos foram secos em estufa a  $105^\circ\text{C}$  por 8 horas e realizada a pesagem logo em seguida.

## 2.4. Análise Sensorial

Para o teste descritivo quantitativo, as barras de cereais foram analisadas com 80 provadores que já consumiam barras de cereais em seu dia-a-dia. Os testes foram realizados em cabines individuais do Laboratório de Análise Sensorial da UNOPAR, sob luz branca.

Os testes sensoriais são incluídos como garantia da qualidade na indústria de alimentos e bebidas por representarem medida multidimensional integrada. Suas vantagens são: identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis, definir características sensoriais importantes do produto de forma rápida, detectar particularidades não verificadas por outros procedimentos analíticos e ainda ser capaz de avaliar a aceitação de produtos.<sup>27</sup>

As amostras codificadas com números de três dígitos foram apresentadas em embalagens descartáveis na cor branca, com aproximadamente 7g do produto. A

temperatura de apresentação foi de 25°C.

Os atributos aparência, textura, sabor e aspecto global foram analisados com a utilização de uma ficha contendo uma escala hedônica com 9 pontos, onde 1 = desgostei muitíssimo e 9 = gostei extremamente.

Avaliou-se também a intenção de compra das barras alimentícias, com os mesmos provadores, com escala variando entre 1

(certamente não compraria) e 5 (certamente compraria), conforme a Figura 2.

Os dados obtidos foram avaliados pelo método de análise de variância (ANOVA) com comparação de médias pelo teste de Tukey em nível de confiança de 95% e desvio padrão usando o *software Statistical* versão 8.0.

**Ficha de avaliação de barras de cereais**

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Sexo: ( ) Feminino ( ) Masculino

Faixa Etária: ( ) < 20 anos ( ) 20 – 30 anos ( ) 30- 40 anos ( ) 40 – 50 anos ( ) > 50 anos

1- Você está recebendo uma amostra codificada e barra de cereal. Por favor, prove-a e avalie de forma global segundo o grau de gostar ou desgostar, utilizando a escala abaixo.

- (9) gostei extremamente
- (8) gostei moderadamente
- (7) gostei regularmente
- (6) gostei ligeiramente
- (5) não gostei, nem desgostei
- (4) desgostei ligeiramente
- (3) desgostei regularmente
- (2) desgostei moderadamente
- (1) desgostei extremamente

Código da amostra:	Nota Aparência:	Nota Sabor:	Nota Textura:	Nota Aspecto Global:
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____

2- Se você encontrasse este produto à venda, qual seria sua atitude?

- 5-Certamente compraria
- 4-Provavelmente compraria
- 3-Talvez comprasse/Talvez não comprasse
- 2-Provavelmente não compraria
- 1-Certamente não compraria

Código da amostra:	Nota:	Comentários:
_____	_____	_____
_____	_____	_____

**Figura 2.** Ficha utilizada para análise sensorial das barras de cereais com colágeno hidrolisado

### 3. Resultado e Discussão

#### 3.1. Análises Microbiológicas

Os resultados das análises microbiológicas estão representados na Tabela 2. Como ambas as barras de cereais não apresentaram micro-organismos, as mesmas estavam apropriadas para consumo humano, de acordo com os padrões legais vigentes.<sup>24</sup>

**Tabela 2.** Resultados das análises microbiológicas das barras de cereais, controle e com colágeno

Determinações	Amostras		RDC 12/2001*
	Controle	Colágeno	
<i>Salmonella</i> spp	Ausente	Ausente	Ausente em 25g
Coliformes totais	Ausente	Ausente	-
Coliformes termotolerantes (à 45°C/g)	Ausente	Ausente	Máx. 5x10 NMP.g <sup>-1</sup>

\*Resolução nº 12, de 2 de janeiro 2001, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA<sup>24</sup>

#### 3.2. Análises Físico-Químicas

De acordo com a Resolução nº263/2005 da ANVISA,<sup>29</sup> produtos à base de cereais devem apresentar um limite máximo de umidade de 15%, sendo observado, portanto, que ambas as barras de cereais produzidas atenderam aos teores de umidade previstos na legislação (Tabela 3).

Observou-se uma diferença significativa ao nível de 5% entre as formulações em relação à umidade, onde a barra com colágeno hidrolisado apresentou valores superiores (12,01%) a da barra controle (8,74%). Uma das propriedades do colágeno é a de retenção de água. Assim, na barra que foi submetida a adição de colágeno é possível verificar a diferença nos valores devido a suas propriedades características.

O pH é um dos principais fatores intrínsecos capazes de determinar o crescimento, sobrevivência ou destruição dos micro-organismos. Os micro-organismos têm valores de pH ótimo e máximo para sua multiplicação. Verifica-se que pH em torno de

7,0 (6,5 – 7,5) é o mais favorável para a maioria dos micro-organismos, apesar de alguns poucos crescerem em pH abaixo de 4,0.<sup>30</sup>

Os resultados obtidos de pH apresentaram valores menores que 6,5 (barra Controle – 6,39, barra com colágeno – 6,08), mostrando assim a ausência dos micro-organismos investigados na análise microbiológica.

Os resultados de acidez apresentaram diferença significativa entre as barras, onde a barra controle obteve valores baixos para acidez (0,93%) e a barra com colágeno valores superiores (3,62%) da barra controle.

Porém, esta diferença pode estar relacionada ao processo de fabricação do colágeno o qual é extraído principalmente da pele de boi. Pode ocorrer que durante o processo de desengorduramento ainda fique algum resíduo de gordura. Na gordura há ácidos graxos que participam das composições dos monos, di e triglicerídeos. A decomposição dos glicerídeos é acelerada por aquecimento e pela luz onde há

formação de ácidos graxos livres, acarretando em uma elevação na acidez do alimento.<sup>31</sup>

Dessa forma, é justificado o valor superior para a barra com colágeno hidrolisado, já que a mesma foi levada a aquecimento para a sua fabricação.

O colágeno hidrolisado é um agente ligante, que pode ser usado em diferentes tipos de alimentos sendo uma excelente fonte de proteína (de 84 a 90%).<sup>11</sup> Observa-se que existe uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as barras de cereais analisadas (7,18% - controle, 22,09% - colágeno). Alguns ingredientes da formulação base possuíam proteína. A diferença expressiva está diretamente relacionada ao fato do colágeno possuir um alto valor proteico.

As cinzas de uma amostra de alimento é o resíduo inorgânico que permanece após a queima de matéria orgânica ( $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ ) de uma amostra. A cinza é constituída principalmente de grandes quantidades de K, Na, Ca e Mg, pequenas quantidades de Al, Fe, Cu, Mn e Zn, traços de Ar, I, F e outros elementos. A determinação de cinzas pode não refletir a matéria mineral total do alimento, pode haver perdas como voláteis

ou interação com outros constituintes. O conteúdo de cinzas em cereais chega até 3,3%.<sup>27</sup>

Observou-se nos resultados de cinzas que houve diferença significativa entre as barras de cereais, podendo estar relacionados com a diferença de açúcar mascavo usado na formulação de ambas as barras (barra controle, 16g; barra com colágeno, 3g), sendo que o açúcar mascavo possui diversos minerais, sendo eles potássio, cálcio, magnésio, fósforo, sódio, ferro, manganês e zinco (Tabela 3).

O teor de FDN e FDA em ambas as barras de cereais não apresentou valor com diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Isso porque a formulação base das barras em relação aos ingredientes secos é igual e o açúcar mascavo, glicose e água não possuem fibras. O colágeno não apresenta valores significativos para fibra, não interferindo nos valores finais das análises.

A fração FDN é constituída por celulose, hemicelulose, lignina e proteína lignificada. A fração FDA corresponde à porção menos digerível da parede celular, constituída na sua quase totalidade de lignocelulose, ou seja, celulose e lignina.

**Tabela 3.** Caracterização físico-química das barras de cereais, controle e colágeno

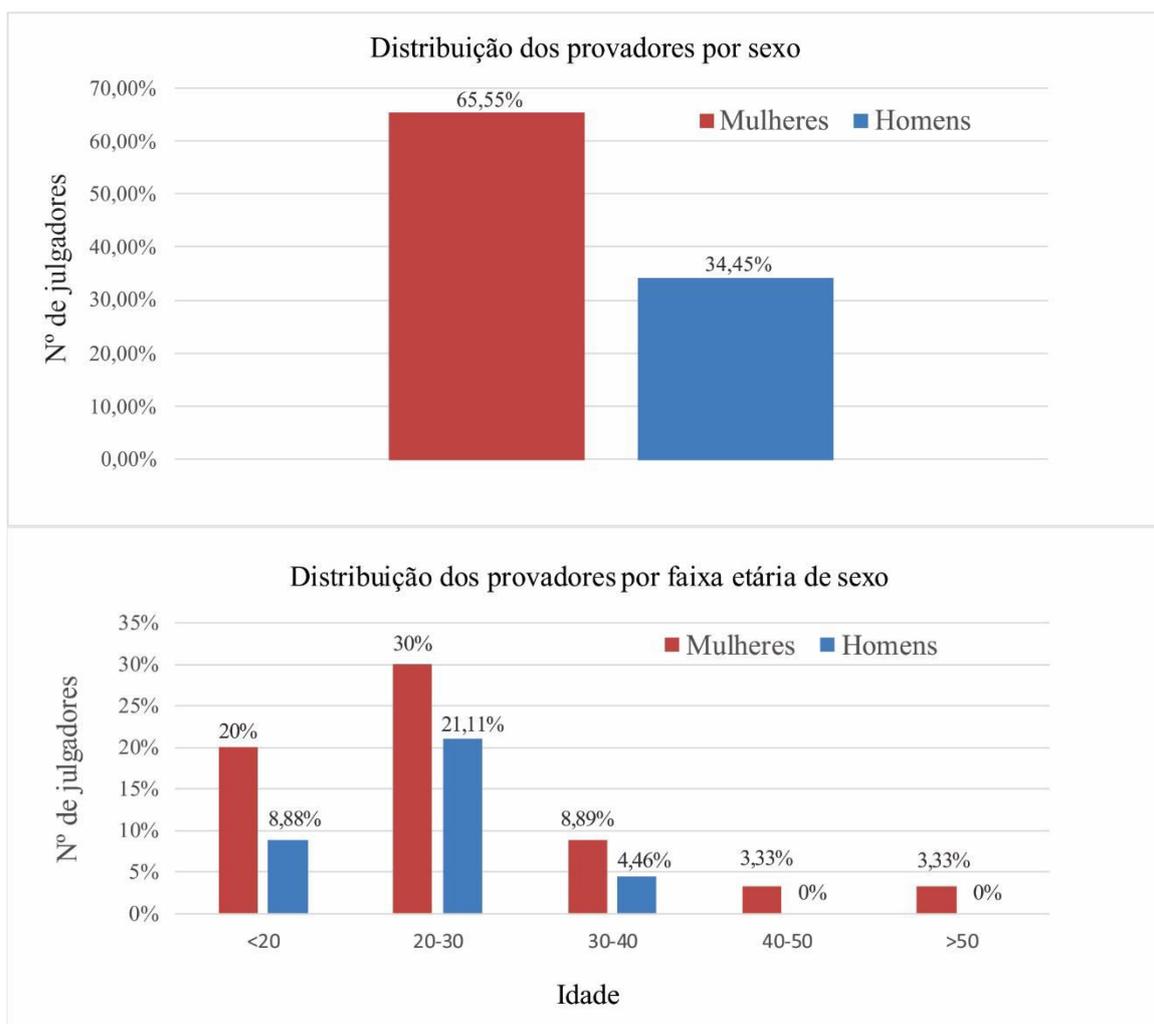
	Umidade(%)	pH	Acidez(%)	Proteínas(%)	Cinzas(%)	FDN(%)	FDA(%)
Controle	8,74 <sup>b</sup> ±0,65	6,39 <sup>a</sup> ±0,04	0,93 <sup>b</sup> ±0,11	7,18 <sup>b</sup> ±0,29	1,67 <sup>a</sup> ±0,03	8,63 <sup>a</sup> ±1,79	7,68 <sup>a</sup> ±2,47
Colágeno	12,01 <sup>a</sup> ±0,97	6,08 <sup>b</sup> ±0,02	3,62 <sup>a</sup> ±0,09	22,09 <sup>a</sup> ±1,61	1,42 <sup>b</sup> ±0,08	10,23 <sup>a</sup> ±0,75	5,91 <sup>a</sup> ±1,45

Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão. Letras diferentes na vertical indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ao nível de 95% de confiança

### 3.3. Análise Sensorial

O perfil demográfico dos provadores que participaram da análise sensorial para o teste de aceitação e intenção de compra está ilustrado na Figura 3, a qual apresenta o sexo

e faixa etária. De acordo com a Figura 3 pode-se observar que a maioria dos provadores eram do sexo feminino (65,55%) e a maioria dos homens e mulheres se encontram mais na faixa etária de 20-30 anos.



**Figura 3.** Perfil demográfico dos participantes do teste de aceitação e intenção de compra das barras de cereais, controle e colágeno, em relação ao sexo e faixa etária

Foi realizado um teste de aceitação nas barras de cereais, analisando os seguintes parâmetros: aparência, sabor, textura e aspecto global. De acordo com a Tabela 4 pode-se afirmar que, nos atributos de aparência e sabor as barras de cereais não apresentaram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ). A cobertura de chocolate proporcionou semelhanças entre as barras fabricadas e, por sua vez, o colágeno não alterou o sabor do produto o qual estava adicionado justificando o porquê dos provadores não terem notado diferença de uma barra em comparação com a outra.

Ao contrário da aparência e sabor, os atributos de textura e aspecto global

apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as barras de cereais. Em relação à textura obteve-se alguns comentários dos provadores para barra de colágeno, como: “muito dura” e “pegajosa”. O colágeno proporciona maior crocância. Porém, esse fator não contribuiu para uma nota alta. Notou-se isso através dos valores obtidos de 6,43 (gostei ligeiramente) diferentemente da barra controle que apresentou valor de 7,85 (gostei regularmente) e comentários como: “ótima” e “muito boa”. Assim, as notas atribuídas nos atributos para ambas as barras proporcionou diferença no valor final para o aspecto global, onde a barra controle teve maior preferência.

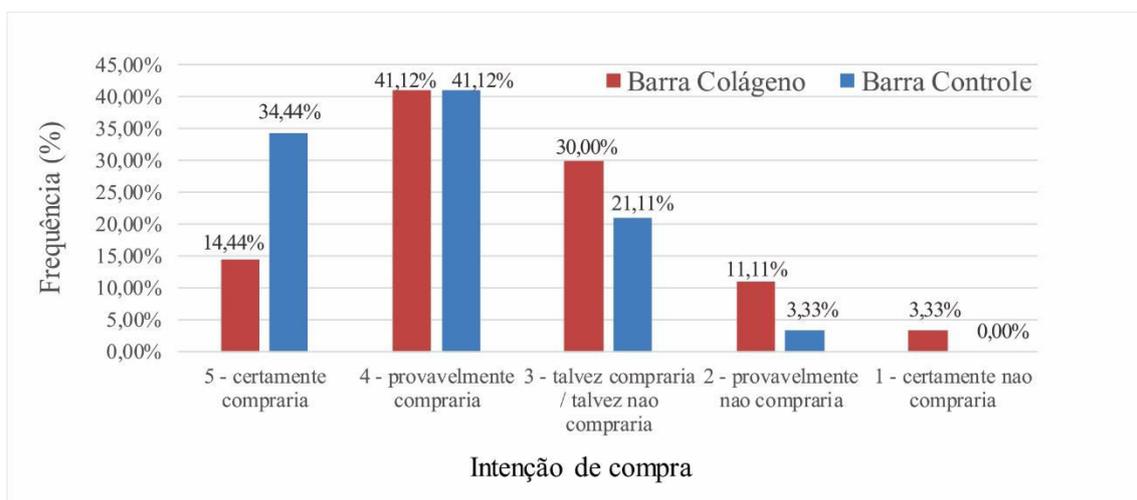
**Tabela 4.** Valores médios dos atributos sensoriais das barras de cereais, controle e colágeno (média±desvio padrão)

	Aparência	Sabor	Textura	Aspecto Global
Controle	7,72 <sup>a</sup> ± 1,32	7,67 <sup>a</sup> ± 1,29	7,85 <sup>a</sup> ± 1,35	7,86 <sup>a</sup> ± 1,07
Colágeno	7,73 <sup>a</sup> ± 1,56	7,33 <sup>a</sup> ± 1,60	6,43 <sup>b</sup> ± 2,08	7,43 <sup>b</sup> ± 1,42

Resultados expresso como média ± desvio padrão. Letras diferentes na vertical indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ao nível de 95% de confiança.

Pode-se observar pelos valores apresentados na Figura 4 que a barra com colágeno não teve uma aceitação esperada (opção 5 - certamente compraria) provavelmente devido a sua textura,

colocando a barra controle em destaque. Ambas as amostras apresentaram resultados semelhantes e também satisfatórios, quando responderam que provavelmente compraria.



**Figura 4.** Resultados da análise sensorial para o teste de intenção de compra das barras de cereais, controle e colágeno

#### 4. Conclusão

Devido à grande procura de alimentos mais saudáveis, a indústria alimentícia tem mostrado grande interesse e investimento em produtos de alta qualidade e com valores nutricionais significativos. As barras elaboradas atendem a essa procura. Foi possível observar através dos resultados obtidos que ambas apresentaram valores significativos para as análises realizadas e estavam dentro das leis vigentes.

As características microbiológicas das barras de cereais demonstraram estar apropriadas para o consumo, quando comparada com a Resolução nº12/2001. Por meio das análises realizadas para detecção de *Salmonella* spp, coliformes totais e termotolerantes, foi possível notar que não possuía contaminantes microbiológicos. Ainda foi possível notar através dos dados obtidos, que foi correta a manipulação para fabricação das barras (higiene) e a boa qualidade dos cereais utilizados.

Outro parâmetro que contribuiu para ausência de micro-organismo foi o pH, onde verificou-se que em torno de 7,0 (6,5 – 7,5) era o mais favorável para a maioria dos micro-organismos. Os resultados obtidos estavam abaixo desse valor, inibindo assim o crescimento dos mesmos.

Outras duas análises em destaque foram as de determinação de fibra e proteína. A barra de colágeno elaborada possuía composição nutricional que pode incluí-la como produto com alto teor de fibra de acordo com a Portaria nº27/1998. A formulação com colágeno hidrolisado apresenta valores superior para proteína quando comparado com barras tradicionais disponíveis no mercado.

Contudo, na análise sensorial, a barra controle teve maior preferência do que a com colágeno no teste de aceitação em relação a textura. Esse resultado pode ter sido provocado pelo efeito de crocância que o colágeno hidrolisado proporcionou, não agradando os provadores. Esse resultado revelou que talvez uma concentração menor de colágeno na fórmula poderia ter dado valores diferentes, já que para aparência e sabor não obteve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as barras de cereais.

## Referências Bibliográficas

<sup>1</sup> Pontes, T. E.; Costa, T. F.; Marum, A. B.; Brasil, A. L.; Taddei, J. A. Orientação nutricional de crianças e adolescentes e os novos padrões de consumo: propagandas, embalagens e rótulos. *Revista Paulista Pediatria* **2009**, *27*, 99. [CrossRef]

<sup>2</sup> Bernaud, F. S. R.; Rodrigues, T. C. Fibra alimentar: Ingestão adequada e efeitos sobre a saúde do metabolismo. *Lume - Repositório Digital da UFRGS* **2013**, *57*, 397. [Link]

<sup>3</sup> Santini, A.; Novellino, E.; Armini, V.; Ritieni, A. State of the art of ready-to-use therapeutic food: a tool for nutraceuticals addition to foodstuff. *Food Chemistry* **2013**, *140*, 843. [CrossRef] [PubMed]

<sup>4</sup> Silva, T. F.; Penna, A. L. B. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. *Revista Instituto Adolfo Lutz* **2012**, *71*, 530. [Link]

<sup>5</sup> Mello, V. D.; Laaksonen, D. E. Fibras na dieta: tendências atuais e benefícios à saúde na síndrome metabólica e no diabetes melito tipo 2. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia* **2009**, *53*, 509. [CrossRef]

<sup>6</sup> Cheng, W.; Lu, J.; Li, B.; Lin, W.; Zhang, Z.; Wei, X.; Sun, C.; Chi, M.; Bi, W.; Yang, B.; Jiang, A.; Yuan, J. Effect of functional oligosaccharides and ordinary dietary fiber on intestinal microbiota diversity. *Front. Microbiology* **2017**, *20*, 1750. [CrossRef] [PubMed]

<sup>7</sup> Catalani, L. A.; Kang, E. M. S.; Dias, M. C. G.; Maculevicius, J. Fibras alimentares. *Revista brasileira de nutrição clínica* **2003**, *18*, 178. [Link]

<sup>8</sup> Geron, L. J. V.; Cabral, L. S.; Trautmann-Machado, R. J.; Zeoula, L. M.; Oliveira, E. B.; Garcia, J.; Gonçalves, M. R.; Aguiar, R. P. S. Avaliação do teor de fibra em detergente neutro e ácido por meio de diferentes procedimentos aplicados às plantas forrageiras. *Semina: Ciências Agrárias* **2014**, *35*, 1533. [Link]

<sup>9</sup> BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Portaria nº 27, de 13 janeiro de 1998. Aprova o “Regulamento referente à informação nutricional complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes)”. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/PORTARIA\\_27\\_1998.pdf/72db7422-ee47-4527-9071-859f1f7a5f29](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/PORTARIA_27_1998.pdf/72db7422-ee47-4527-9071-859f1f7a5f29)>. Acesso em: 19 agosto 2015

<sup>10</sup> Ramíres, J. B. *Dissertação de Mestrado*, Universidade Nacional da Colômbia, 2011. [Link]

<sup>11</sup> Christensen, M.; Ertbjerg, P.; Failla, S.; Sañudo, C.; Richardson, R. I.; Nute, G. R.; Olleta, J. L.; Panea, B.; Albertí, P.; Juárez, M.; Hocquette, J. F.; Williams, J. L. Relationship between collagen characteristics, lipid content and raw and cooked texture of meat from young bulls of fifteen European breeds. *Meat Science* **2011**, *87*, 61. [CrossRef] [PubMed]

- <sup>12</sup> Asghar, A.; Henrickson, R. L. Chemical, biochemical, functional, and nutritional characteristics of collagen in food systems. *Advances in Food Research* **1982**, *28*, 231. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>13</sup> Gómez-Guillén, M. C.; Giménez, B.; López-Caballero, M. E.; Montero, M. P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids* **2011**, *25*, 1813. [CrossRef]
- <sup>14</sup> Prestes, R. C. Colágeno e Seus Derivados: Características e aplicações em produtos cárneos. *Journal of Health Sciences* **2013**, *15*, 65. [Link]
- <sup>15</sup> Zague V.; Freitas V.; Rosa M. C.; Castro G. A.; Jaeger R. G.; Machado-Santelli G. M. Collagen hydrolysate intake increases skin collagen expression and suppresses matrix metalloproteinase 2 activity. *Journal of Medicinal Food* **2011**, *6*, 618. [Link] [PubMed]
- <sup>16</sup> Bilek, S. E.; Bayram, S. K. Fruit juice drink production containing hydrolyzed collagen. *Journal of Functional Foods* **2015**, *14*, 562 [CrossRef]
- <sup>17</sup> Wang W.; Wang X.; Zhao W.; Gao G.; Zhang X.; Wang Y.; Wang Y. Impact of pork collagen superfine powder on rheological and texture properties of Harbin red sausage. *Journal of Texture Studies* **2017**, *10*, 1111. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>18</sup> Hashim, P.; Mohd Ridzwan, M. S.; Bakar, J.; Mat Hashim, D. Collagen in food and beverage industries. *International Food Research Journal* **2015**, *22*, 1. [Link]
- <sup>19</sup> Fernandes, R. C. S.; Pitombo, V. C.; Morais, N. A. R.; Salvador, A. C. A.; Rezendes, L. S.; Matias, A. C. G.; Furquim, N. R.; Pereira, I. R. O. Desenvolvimento e avaliação sensorial de sorvete de iogurte (frozen) funcional com biomassa de banana verde e frutas vermelhas. *Uningá Review* **2017**, *30*, 17. [Link]
- <sup>20</sup> Gutkoski, L. C.; Bonamigo, J. M. A.; Teixeira, D. M. F.; Pedó, I. Desenvolvimento de barras de cereais à base de aveia com alto teor de fibra alimentar. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* **2007**, *27*, 355. [CrossRef]
- <sup>21</sup> Paiva, A. P.; Barcelos, M. F. P.; Pereira, J. A. R.; Ferreira, E. B.; Ciabotti, S. Characterization of food bars manufactured with agroindustrial by-products and waste. *Ciência e Agrotecnologia* **2012**, *36*, 333. [CrossRef]
- <sup>22</sup> Silva, E. P.; Siqueira, H. H.; Damiani, C.; Vilas Boas, E. V. Physicochemical and sensory characteristics of snack bars added of jerivá flour (*Syagrus romanzoffiana*). *Food Science and Technology* **2016**, *36*, 421. [CrossRef]
- <sup>23</sup> Matsuura, F. C. A. U.; *Tese de Doutorado*, Universidade Estadual de Campinas, 2005. [Link]
- <sup>24</sup> BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº. 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o “Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos”. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC\\_12\\_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b)>. Acesso em: 19 agosto 2015
- <sup>25</sup> Magalhães, K. C. P.; Alves, V. C.; Peres, A. P.; Sales, W. B. Análise de coliformes totais e termotolerantes em granola e qualidade higiênico sanitária em casas de cereais de Curitiba – PR. *Caderno da Escola de Saúde* **2015**, *1*, 105. [Link]
- <sup>26</sup> Silva, N.; Junqueira, V. C. A.; Silveira, N. F. A. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*, 2a ed., Livraria Varela: São Paulo, 2001.
- <sup>27</sup> Instituto Adolfo Lutz. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4a. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.
- <sup>28</sup> Mizibuti, I. Y.; Pinto, A. P.; Pereira, E. S.; Ramos, B. M. O. *Métodos laboratoriais de avaliação de alimentos para animais*. EdueL: Londrina, 2009.
- <sup>29</sup> BRASIL. Resolução nº 263, de 22 de setembro de 2005. Aprova o “Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos”. Órgão emissor: ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <<http://www.saude.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C=MjIwMw%2C%2C>>. Acesso em: 19 agosto 2015.

<sup>30</sup> Jay, J. M. *Microbiologia de alimentos*. 6a. ed., Artmed: Porto Alegre, 2005.

<sup>31</sup> Vidal, A. R.; *Dissertação de Mestrado*. Universidade Federal de Santa Maria, 2016. [[Link](#)]