



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO CEARÁ-
CAMPUS LIMOEIRO DO NORTE
MESTRADO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

KIVIA KELLY BEZERRA DO NASCIMENTO

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDAS FERMENTADAS POR GRÃOS DE KEFIR
SABORIZADAS COM FRUTAS**

**LIMOEIRO DO NORTE - CE
2019**

KIVIA KELLY BEZERRA DO NASCIMENTO

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDAS FERMENTADAS POR GRÃOS DE KEFIR
SABORIZADAS COM FRUTAS

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – *Campus* Limoeiro do Norte, como requisito parcial para obtenção do Título de mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dra. Virna Luiza de Farias.

LIMOEIRO DO NORTE - CE

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Instituto Federal do Ceará - IFCE
Sistema de Bibliotecas - SIBI
Ficha catalográfica elaborada pelo SIBI/IFCE, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

N244d Nascimento, Kivia Kelly Bezerra do.
Desenvolvimento de Bebidas Fermentadas por Grãos de Kefir Saborizadas com Frutas /
Kivia Kelly Bezerra do Nascimento. - 2019.
88 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) - Instituto Federal do Ceará, Mestrado em Tecnologia de
Alimentos, Campus Limoeiro do Norte, 2019.
Orientação: Profa. Dra. Virna Luiza de Farias.

1. Alimentos Funcionais. 2. Probióticos. 3. Fermentação. 4. Bebida Láctea . I. Título.

KIVIA KELLY BEZERRA DO NASCIMENTO

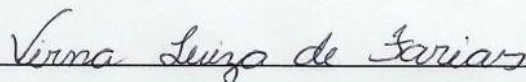
DESENVOLVIMENTO DE BEBIDAS FERMENTADAS POR GRÃOS DE KEFIR
SABORIZADAS COM FRUTAS

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – *Campus* Limoeiro do Norte, como requisito parcial para obtenção do Título de mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dra. Virna Luiza de Farias.

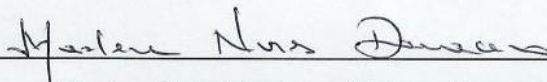
Aprovado em: 07/08/2019

BANCA EXAMINADORA



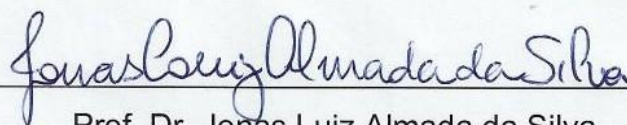
Profa. Dra. Virna Luiza de Farias (Orientadora)

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará *Campus* Limoeiro do
Norte



Profa. Dra. Marlene Nunes Damaceno

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará *Campus* Limoeiro do
Norte



Prof. Dr. Jonas Luiz Almada da Silva

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará *Campus* Limoeiro do
Norte

A Deus e a minha família pelo incentivo, apoio e compreensão da busca pelo conhecimento e por estarem sempre presentes.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus primeiramente, por ter me proporcionado a realização dessa etapa de vida em meio a todas as dificuldades.

Aos meus pais, Antônio Gerardo Araújo do Nascimento e Maria do Carmo Bezerra Chaves, por sempre me apoiarem nas oportunidades que encontro em meu caminho.

Ao meu irmão Kevin Araújo Bezerra do Nascimento, por me apoiar e ajudar sempre que necessário.

Ao meu companheiro Antônio Evertan Martins de Sousa, por sempre estar presente, me apoiar, ajudar e me encorajar a nunca desistir dos meus objetivos. Obrigada por tudo.

À minha orientadora Dra. Virna Luiza de Farias, pelos ensinamentos, conselhos, paciência e principalmente por toda disponibilidade durante todo o período de trabalho.

Ao João Ricardo, pela doação dos grãos de kefir por meio dos quais foi possível iniciar e desenvolver a pesquisa.

À bolsista Ruana Mara Rodrigues Lima, pela disponibilidade e ajuda no laboratório durante a pesquisa.

À bolsista voluntária Joselene dos Santos Silva, pela dedicação e pelo apoio sempre.

Aos meus colegas de turma do mestrado, por esses anos de convivência, em especial meus colegas Lorena, Josilene, Bianca e Cláudio, pela disponibilidade imediata durante as análises sensoriais e em diversos passos da pesquisa.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, por me proporcionar todo conhecimento e oportunidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES, pelo apoio e incentivo à pesquisa.

Agradeço a todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

*“Feliz aquele que transfere o que sabe e
aprende o que ensina.”*

(Cora Coralina)

RESUMO

Atualmente há uma maior demanda por alimentos que apresentem ou que possam promover benefícios à saúde; nesse grupo são classificados os alimentos funcionais. Dentre eles estão os probióticos, microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem efeitos benéficos ao organismo. Um tipo de alimento probiótico é o leite fermentado Kefir, que consiste em uma bebida de alto valor biológico, utilizada em tratamentos de diversas condições clínicas. A incorporação de uma polpa de fruta à bebida fermentada kefir apresenta inúmeros benefícios, como agregar maior valor nutricional e sabor, além de poder proporcionar maior aceitação sensorial. O estudo teve como objetivo desenvolver e comparar diferentes bebidas fermentadas por grãos de kefir adicionadas de polpa de fruta. Inicialmente as condições de fermentação do kefir foram estudadas avaliando suas características físico-químicas e microbiológicas. Em seguida testou-se a adição de frutas (manga: KS1-10; KS1-25, pitaya: KS2-10; KS2-25 e caju: KS3-10; KS3-25) ao kefir, em concentrações de 10 e 25%, utilizando grupo focal para escolha do sabor a ser utilizado nas etapas seguintes. Buscando simular as diferentes formas de preparo de kefir existentes na literatura, a partir dos substratos leite e soro de leite (B3), com adição de polpa de fruta no substrato (B2) ou após a bebida fermentada (B1), três bebidas diferentes, mais um controle (BC), sem frutas, foram produzidas por meio da fermentação dos açúcares dos substratos pelos microrganismos dos grãos de kefir. Essas bebidas foram avaliadas e comparadas quanto aos seus parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sensoriais. Verificou-se que o tempo de 24 h e temperatura de 25 °C foram os mais adequados para obtenção do kefir com um melhor crescimento de bactérias lácticas, corroborando com os resultados de acidez, pH e aumento de massa dos grãos. Os resultados microbiológicos apontaram bebidas dentro dos padrões preconizados pela legislação e com quantidade adequada de bactérias lácticas. O suco de manga foi o escolhido a 25%, pelos participantes do grupo focal, para a elaboração das três formulações de bebida fermentada saborizada a partir de grãos de kefir. As características físico-químicas e composição centesimal apresentaram variações em relação a cada formulação, sendo que as formulações adicionadas de suco de fruta detiveram os menores valores de proteínas e lipídios. A bebida preparada a partir de soro de leite (B3) obteve valores baixos de viscosidade, influenciando negativamente no aspecto

sensorial. As formulações de kefir sem adição de suco (BC) e kefir com adição de suco após a fermentação (B1) alcançaram os melhores Índices de Aceitabilidade (IA), com valores menores que 70% apenas para o sabor, o que está associado à falta de doçura, justificada pela não adição de substâncias adoçantes. Apesar de a média das respostas para intenção de compra se encontrar na faixa de indiferença para a maioria das amostras, apenas B1 apresentou a maioria das respostas na faixa de aceitação. O teste de ordenação preferência também confirmou a preferência dos avaliadores pela formulação B1. A saborização com suco de manga teve influência positiva, principalmente no sabor e aroma, entretanto a substituição por soro de leite impossibilitou um processo de fermentação completo, impedindo alcançar a viscosidade característica do kefir. Mesmo com a saborização, a elevada rejeição das bebidas pode ser justificada pelo fato de o kefir ser um produto ainda pouco consumido pela população brasileira e ainda não ser atrativo ao paladar, o que pode ser melhorado com a utilização de adoçantes que possam tornar a bebida mais adocicada.

PALAVRAS-CHAVE: Alimentos funcionais, probióticos, fermentação, bebida láctea.

ABSTRACT

There's currently a greater demand for foods that have or may promote health benefits; In this group, functional foods are classified. These include probiotics, living microorganisms that, when administered in adequate amounts, guarantee beneficial effects on the body. One type of probiotic food is Kefir fermented milk, which consists of a drink of high biological value, used in treatments of various clinical conditions. The incorporation of a fruit pulp into the kefir fermented drink has numerous benefits, such as adding greater nutritional value and flavor, as well as providing greater sensory acceptance. The study aimed to develop and compare different drinks fermented by kefir grains added with fruit pulp. Initially kefir fermentation conditions were studied by evaluating its physicochemical and microbiological characteristics. Then adding fruit to kefir was tested (mango: KS1-10; KS1-25, pitaya: KS2-10; KS2-25 and cashew: KS3-10; KS3-25), in concentrations of 10 and 25%, using focus group to choose the flavor to be used in the following steps. Seeking to simulate the different forms of kefir preparation in the literature, from the substrates milk and whey (B3), with the addition of fruit pulp on the substrate (B2) or after the fermented drink (B1), three different drinks, one more control (BC), without fruits, they were produced by fermentation of substrate sugars by kefir grain microorganisms. These drinks were evaluated and compared for their physicochemical, microbiological and sensory parameters. It was found that the 24 h time and 25 °C temperature were the most suitable to obtain kefir with a better lactic bacteria growth, corroborating the results of acidity, pH and grain mass increase. The microbiological results indicated drinks within the standards recommended by the legislation and with adequate amount of lactic bacteria. Mango juice was chosen at 25% by the focus group participants for the preparation of the three fermented drink formulations flavored from kefir grains. The physicochemical characteristics and centesimal composition showed variations in relation to each formulation, and the formulations added with fruit juice had the lowest protein and lipid values. The drink prepared from whey (B3) obtained low viscosity values, negatively influencing the sensory aspect. Juice-free kefir (BC) and juice-added kefir formulations after fermentation (B1) achieved the best Acceptability Indexes (AI), with values below 70% for taste alone, which is associated with lack of sweetness, justified by the non-addition of sweetening substances. Although the average of responses to purchase intent were within the indifference range for most

samples, only B1 presented the majority of responses within the acceptance range. The preference ordering test also confirmed the evaluators' preference for formulation B1. Taste with mango juice had a positive influence, especially on taste and aroma, however substitution with whey prevented a complete fermentation process, preventing reaching the characteristic viscosity of kefir. Even with taste, the high rejection of drinks can be justified by the fact that kefir is a product still little consumed by the Brazilian population and is not yet attractive to the taste, which can be improved with the use of sweeteners that can make the drink sweeter.

KEYWORDS: Functional foods, probiotics, fermentation, dairy beverage.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Grãos de kefir.....	26
Figura 2 – Fluxograma de processamento do kefir saborizado.....	34
Figura 3 – Fluxograma de processamento da bebida fermentada KC: kefir controle-fermentado de kefir no leite sem adição de polpa de fruta.....	35
Figura 4 – Etapas da saborização do kefir: Filtragem dos grãos de kefir do leite de partida (A); grãos de kefir adicionados de leite em pó (B); Adição do suco concentrado (C); kefirs saborizados prontos (D).	36
Figura 5 – Fluxograma de processamento bebida fermentada B2: bebida de fruta fermentada com grãos de kefir.....	40
Figura 6 – Fluxograma de processamento da bebida fermentada B3: bebida de soro de queijo e fruta fermentada com grãos de kefir	41
Figura 7 – Distribuição do perfil do grupo de foco.....	57
Figura 8 – Aceitação dos kefirs saborizados quanto ao sabor.	58
Figura 9 – Frequência das respostas dos provadores quanto aos critérios utilizados para escolha do produto.....	59
Figura 10 – Formulações das bebidas fermentadas com kefir:.....	63
Figura 11 – Percentuais de provadores por faixas de respostas sensoriais das quatro formulações das bebidas fermentadas de kefir saborizadas com suco de manga avaliadas na análise sensorial.....	68
Figura 12 – Frequência da Intenção de compra das bebidas fermentadas de kefir saborizadas com suco de manga entre as faixas de aceitação, indiferença e rejeição.	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulações de kefir adicionado de polpa ou suco de fruta em diferentes concentrações.	36
Tabela 2 – Formas de preparo das bebidas fermentadas com grãos de kefir.	40
Tabela 3 – Contagem de bactérias lácticas e bolores e leveduras no kefir fermentado em diferentes temperaturas e tempos.	47
Tabela 4 – Parâmetros físico-químicos dos ingredientes leite UHT e leite adicionado de leite em pó.	49
Tabela 5 – Parâmetros físico-químicos no kefir fermentado em diferentes temperaturas e tempos.	50
Tabela 6 – Parâmetros microbiológicos dos kefirs saborizados com diferentes concentrações de polpa/ suco concentrado de fruta.	54
Tabela 7 – Parâmetros físico-químicos dos kefirs saborizados com diferentes concentrações de polpa/suco concentrado de fruta.	55
Tabela 8 – Médias dos parâmetros físicos químicos dos sucos concentrados/polpa utilizados na saborização do kefir.	55
Tabela 9 – Análises microbiológicas das bebidas fermentadas com kefir e suco de manga.	60
Tabela 10 – Análises físico-químicas das bebidas fermentadas saborizadas com suco de manga.	61
Tabela 11 – Composição centesimal das bebidas fermentadas saborizadas.	64
Tabela 12 – Valores hedônicos (média $\pm$ desvio padrão) atribuídos pelos avaliadores para aceitação sensorial das formulações das bebidas fermentadas de kefir saborizadas com suco de manga.	67
Tabela 13 – Índice de Aceitabilidade (IA) das quatro formulações de bebidas fermentadas de kefir saborizado com suco de manga avaliadas na análise sensorial.	69
Tabela 14 – Intenção de compra (média $\pm$ desvio padrão) das formulações de bebidas fermentadas de kefir saborizadas com suco de manga avaliadas na análise sensorial.	70
Tabela 15 – Somatórios dos escores obtidos pelo teste de ordenação-preferência das quatro formulações de bebidas fermentadas de kefir saborizado com suco de manga.	71

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Microrganismos utilizados em alimentos probióticos.....	22
Quadro 2 – Microrganismos com efeitos probióticos sem origem intestinal.....	22
Quadro 3 – Características físico-químicas para leites fermentados	28
Quadro 4 – Valores de referência para microrganismos específicos e de qualidade microbiológica em kefir.....	28
Quadro 5 – Questionário aplicado ao grupo de foco.	39

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 JUSTIFICATIVA.....	18
3 OBJETIVOS.....	20
3.1 Objetivo Geral.....	20
3.2 Objetivos Específicos	20
4 REFERENCIAL TEÓRICO.....	21
4.1 Alimentos Funcionais	21
4.2 Probióticos.....	22
4.3 Prebióticos.....	24
4.4 Kefir	25
4.4.1 Histórico do Kefir	25
4.4.2 Caracterização do Kefir	25
4.4.3 Caracterização físico-química e microbiológica	27
4.4.5 Produção do kefir.....	28
4.4.6 Características Nutricionais	29
5 MATERIAIS E MÉTODOS	31
5.1 Obtenção das matérias-primas	31
5.2 Testes Preliminares	31
5.2.1 Contagem de bactérias lácticas e bolores e leveduras.	32
5.2.2 Análises físico-químicas.....	32
5.2.2.1 pH.....	33
5.2.2.2 Acidez titulável	33
5.2.2.3 Sólidos Solúveis	33
5.2.2.4 Teor de lactose.....	33
5.2.2.5 Diferença de Massa do grão de kefir.....	34
5.3 Elaboração dos kefirs saborizados	34
5.4 Acompanhamento da fermentação dos kefirs.....	37
5.4.1 Análise físico-químicas dos sucos/polpas adicionadas no kefir saborizado.	37
5.4.2 Contagem de bactérias lácticas totais e bolores e leveduras nos kefirs. ...	37
5.4.3 Avaliação da inocuidade dos kefirs.....	37
5.4.4 Análises físico-químicas dos kefirs.....	38
5.5 Análise sensorial dos kefirs	38

5.6	Elaboração das bebidas fermentadas saborizadas	39
5.7	Análise da microbiota das bebidas fermentadas saborizadas.....	41
5.8	Análises microbiológicas das bebidas fermentadas saborizadas.....	41
5.9	Análises físico-químicas e composição centesimal das bebidas fermentadas saborizadas	42
5.9.1	Análises físico-químicas.....	42
5.9.1.1	Umidade	42
5.9.1.2	Cinzas.....	42
5.9.1.3	Proteínas	42
5.9.1.4	Lipídeos.....	43
5.9.1.5	Carboidratos	43
5.9.1.6	Sólidos totais.....	43
5.9.1.7	Valor calórico.....	43
5.9.1.8	Viscosidade	44
5.10	Análise sensorial das bebidas fermentadas de kefir saborizadas com suco de manga.....	44
5.10	Análise estatística	45
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
6.1	Testes preliminares.....	47
6.1.1	Contagem de bactérias lácticas e bolores e leveduras	47
6.1.2	Análises físico-químicas.....	48
6.2	Kefirs Saborizados	53
6.2.1	Análises microbiológicas dos kefirs saborizados	53
6.2.2	Análises físico-químicas dos kefirs saborizados.....	55
6.2.3	Análise sensorial dos kefirs saborizados	57
6.3	Bebidas Fermentadas Saborizadas	60
6.3.1	Análises microbiológicas das bebidas fermentadas saborizadas.....	60
6.3.2	Análises físico-químicas das bebidas fermentadas saborizadas	61
6.3.3	Composição centesimal das bebidas fermentadas saborizadas	64
6.3.4	Sensorial das bebidas fermentadas saborizadas.....	66
6.3.4.1	Caracterização dos provadores.....	66
6.3.4.2	Testes Sensoriais.....	67
7	CONCLUSÃO	73
	REFERÊNCIAS.....	75
	APÊNDICE A - FICHA CADASTRAL PARA GRUPO DE FOCO	84
	APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	85

APÊNDICE C - FICHA DE ANÁLISE SENSORIAL.....	88
--	----

1 INTRODUÇÃO

A demanda por alimentos que apresentam componentes ou substâncias funcionais, ou seja, aqueles que ajudam ou modulam o sistema fisiológico do organismo promovendo saúde, tem crescido substancialmente. Com isso, a indústria alimentícia busca por inovação no desenvolvimento de novos produtos ou processos tecnológicos com características funcionais, assim, agregando benefícios (GALLINA et al., 2011; PANZOLINI et al., 2017).

No campo dos alimentos funcionais, encontram-se os probióticos, que são alimentos que contêm microrganismos vivos, e que quando administrados em quantidades adequadas, são capazes de prevenir doenças, manter a saúde intestinal, podendo ser utilizados na prevenção de doenças gastrointestinais e melhoria da imunidade. Os leites fermentados apresentam-se como meio adequado para os microrganismos probióticos (OLIVEIRA; ALMEIDA; BONFIM, 2017).

Um tipo de leite fermentado com características probióticas é o kefir, uma bebida de sabor ligeiramente ácido e com consistência cremosa. Sua microbiota principal denomina-se “grãos de kefir”, composta principalmente de bactérias do gênero *Lactobacillus* (assim como *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Acetobacter*, produtoras de ácido láctico, etanol e dióxido de carbono) bem como leveduras fermentadoras de lactose (*Kluyveromyces marxianus*) e leveduras não fermentadoras de lactose (*Saccharomyces omnisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces exiguus*) (BRASIL, 2007).

Nos grãos de kefir as várias bactérias e leveduras encontram-se envolvidas em uma cadeia de polissacarídeos apresentando características simbióticas. Esses microrganismos produzem metabólitos bioativos que são essenciais para o crescimento e inibição de microrganismos patogênicos (LEITE et al., 2013).

A partir da fermentação de açúcares pelos grãos de kefir obtém-se a bebida kefir, podendo esta ser preparada com leite ou água e açúcar mascavo. É uma bebida de fácil preparo, apresentando consistência semelhante ao iogurte, de sabor ácido, sendo um alimento rico em ácidos orgânicos como láctico, acético e glicólico, vitamina B12 e polissacarídeos (MARCHI; PALEZI; PIETTA, 2015).

O kefir é ainda considerado uma bebida fermentada de alto valor biológico, apresentando uma microbiota importante, utilizada em tratamentos de

diversas condições clínicas, como problemas gastrointestinais, hipertensão, alergias e modulação dos níveis de colesterol, entre outros (LEITE et al., 2013).

A incorporação de uma polpa de fruta à bebida fermentada kefir apresenta inúmeros benefícios, como agregar maior valor nutricional ao produto, melhorar o sabor e aumentar sua aceitação. Frutas tropicais como manga e caju são opções viáveis, por serem de fácil acesso e ricas em vitaminas e outros nutrientes. Outro tipo de fruta que pode ser adicionada é a pitaya, que se apresenta como um fruto tropical da família Cactaceae, originária da América Central, de aparência exótica, sabor doce e suave, com características nutricionais e funcionais promissoras para o seu cultivo (MARQUES et al., 2011).

Portanto, torna-se importante investigar as características físico-químicas da bebida kefir adicionada de frutas, bem como bebidas fermentadas com kefir avaliando seus processos e buscando melhorias a fim de inserir tais produtos no mercado alimentício.

2 JUSTIFICATIVA

Com o aumento da expectativa de vida, pesquisas que envolvam alimentos que apresentem efeitos benéficos ao organismo humano são crescentes. Essa preocupação com a melhoria da qualidade de vida por meio da alimentação é notável, tendo em vista que a alimentação apresenta-se como um passo primordial tanto na prevenção quanto na promoção da saúde humana, evitando e controlando várias doenças, com destaque para as Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNTs), como diabetes, hipertensão, neoplasias e insuficiência cardíaca (RAIZEL, et al., 2011; KRAEMER, et al., 2014).

Nos dias atuais, a dieta não possui apenas a função de nutrir o corpo. A cada dia mais, ela apresenta aspectos de redução do risco de doenças e preventivos, e atua na promoção de saúde, portanto, os alimentos funcionais encontram-se nesse conceito (VIZZOTTO; KROLOW; TEIXEIRA, 2010). Diversas vertentes têm contribuído para o desenvolvimento dessa categoria de alimento, entre elas estão o aumento do conhecimento dos consumidores que, desejando melhorar seus hábitos de vida, buscam por esses tipos de produtos (TEIXEIRA; OSELAME, 2013). A inserção de alimentos funcionais, como os probióticos, que apresentam benefícios à saúde intestinal, é uma alternativa para a melhoria da alimentação. A demanda por alimentos probióticos tem aumentado, e por isso, a oferta desse tipo de produto está mais variada e maior.

O kefir é um produto probiótico, que confere muitas propriedades benéficas, podendo ser incorporado de frutas que agreguem sabor e supram necessidades nutricionais. Além disso, os grãos de kefir apresentam bactérias fermentadoras de lactose, com isso a bebida torna-se uma opção de alimento para pessoas que apresentam intolerância a lactose. Desde o século XVII acredita-se no “poder de cura” do kefir, mas por conta da sua origem um pouco desconhecida e suas sucessões, suas propriedades foram pouco investigadas. Embora muitos estudos relatem seus benefícios, a interpretação destes se torna difícil, por não existir padronização no modo de fabricação dessa bebida (OTZOA, 2006).

Assim, novas pesquisas devem ser desenvolvidas com kefir, para que seja aplicado em produtos, em razão de suas propriedades funcionais. A elaboração de opções de bebidas fermentadas com grãos de kefir e a agregação de novos sabores e propriedades tornam-se viáveis e promissoras. Além disso, estudos

quanto à forma de preparo e adição de novos componentes devem avançar a fim de se verificar a melhor forma de prepará-las.

A utilização de polpas de frutas tropicais tem como vantagem a redução das perdas dessas frutas durante o armazenamento, além da possibilidade de consumi-las em um espaço de tempo maior, estendendo-se por todo o ano. Ressalta-se ainda que frutos como caju, manga e pitaya são ricos em compostos como vitamina C, o que agrega valor nutricional ao produto.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Desenvolver e avaliar diferentes bebidas fermentadas por grãos de kefir adicionadas de polpa de fruta, a fim de se obter qual a melhor forma de preparo e escolha do melhor sabor.

3.2 Objetivos Específicos

- Estudar as condições de tempo e temperatura de fermentação do kefir, avaliando suas características físico-químicas e microbiológicas;
- Elaborar kefirs adicionados de polpa ou suco concentrado das frutas caju, manga e pitaya em diferentes concentrações;
- Acompanhar os parâmetros físico-químicos e microbiológicos das bebidas (kefir com fruta) após a fermentação;
- Avaliar a aceitabilidade das formulações utilizando grupos focais;
- Desenvolver três formulações diferentes de bebidas fermentadas com grãos de kefir com a polpa escolhida;
- Avaliar as características físico-químicas e microbiológicas das bebidas fermentadas em suas diferentes formas de preparo;
- Avaliar sensorialmente as bebidas à base de kefir.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 Alimentos Funcionais

A iniciativa para a determinação do conceito de alimentos funcionais ocorreu no Japão, em 1980, considerando os alimentos ingeridos como parte de uma dieta normal que demonstravam benefícios fisiológicos ou que reduziam o risco de doenças crônicas, além de seus aspectos nutricionais. Assim esses alimentos foram designados “alimentos para uso específico de saúde” (FOSHU - *Foods for Specified Health Use*) trazendo um selo de aprovação do Ministério da Saúde e Bem-estar japonês. Com isso, este termo foi rapidamente disseminado em todo o mundo (STRINGHETA et al., 2007).

No Brasil não existe uma definição única para alimentos funcionais, entretanto a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) utiliza a definição de alimentos com alegações funcionais e de saúde, os quais englobam os alimentos que apresentam relação com o papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo, bem como, funções que tenham relação do alimento com doença ou condição relacionada à saúde (BRASIL, 1999).

As características pertinentes aos alimentos funcionais abrangem os benefícios que eles trazem à saúde. Tais benefícios são decorrentes de vários efeitos metabólicos e fisiológicos que contribuem para um melhor desempenho do organismo. Dentre alguns efeitos estão: atividade antioxidante, melhorias nos níveis de colesterol, diminuição dos riscos de aterosclerose, redução da pressão sanguínea, efeitos anticancerígenos, atividade anti-inflamatória, diminuição da absorção de glicose, entre outros (VIDAL et al., 2012; KUMPOUN; MOTOMURA; NISHIZAMA, 2015; TOVAR; JOHANSSON; BJORCK, 2016; GUPTA, 2016; AL-MUZAFAR; AMIN, 2017; MOJICA et al., 2017; SALJOUGHIAN et al., 2018)

Os principais componentes químicos considerados funcionais são as vitaminas A, C e E, consideradas antioxidantes, as isoflavonas, flavonoides, compostos sulfurados, polifenóis, licopeno, fibras vegetais (prebióticos), ácidos graxos (ômega-3), bactérias benéficas (probióticos) e carotenoides (VIDAL et al., 2012; COSTA; ROSA, 2016).

4.2 Probióticos

O termo probiótico foi citado pela primeira vez em 1989 por Roy Fuller, e considerava probiótico a presença de microrganismos que estimulam o crescimento de outros microrganismos. Ainda em 1989, Roy Fuller enfatizou que, para ser considerado probiótico, o microrganismo em questão deveria estar no seu estado viável e em quantidades apropriadas para promover efeitos benéficos no hospedeiro (WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION, 2011; COSTA; ROSA, 2016).

Ainda segundo Costa e Rosa (2016), alguns critérios devem ser estabelecidos para classificar um probiótico para uso humano. Entre eles estão: ser de origem humana; ter propriedades não patogênicas; possuir resistência aos processos tecnológicos; ter capacidade de adesão aos tecidos epiteliais; apresentar estabilidade na presença de ácido e bile; ter capacidade de persistir no ambiente gastrointestinal; ter capacidade de influenciar atividades metabólicas; apresentar capacidade de modular o sistema imunológico e outras atividades funcionais.

Muitos microrganismos estão na lista de utilização em alimentos probióticos e alguns apresentam efeito probiótico mesmo sem ser de origem intestinal. Esses estão listados nos Quadros 1 e 2.

Quadro 1 – Microrganismos utilizados em alimentos probióticos.

Para uso humano	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
<i>Lactobacillus casei</i> var. <i>shirota</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>
<i>Lactobacillus casei</i> ssp. <i>Casei</i>	<i>Bifidobacterium infantis</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> / <i>Lactobacillus</i> .GG.	<i>Enterococcus faecium</i>

FONTE: Costa e Rosa (2016).

Quadro 2 – Microrganismos com efeitos probióticos sem origem intestinal.

<i>Lactobacillus delbruekii</i> ssp. <i>Bulgaricus</i>
<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> (<i>Lactobacillus. lactis</i>)
<i>Lactobacillus lactis cremoris</i>
<i>Lactobacillus lactis diacetylactis</i>
<i>Propionibacterium shermanii</i>

<i>Bacillus</i> sp.
<i>Aspergillus</i> sp.
<i>Sacharomyces boulardii</i>

FONTE: Costa e Rosa (2016).

Os probióticos se apresentam de diversas formas, sendo a partir de alimentos enriquecidos, bem como suplementados, mas a maioria dos produtos comerciais é derivada de laticínios fermentados com a cultura probiótica (GIRARDIN; SEIDMAN, 2011).

Dentre as culturas probióticas mais comumente utilizadas, estão as bactérias lácticas dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, importantes constituintes do trato gastrointestinal. Essas bactérias atuam no equilíbrio nutricional, produzindo compostos bioativos que atuam diferentemente no organismo, e seus efeitos benéficos ocorrem somente quando esses microrganismos são ingeridos vivos. Entretanto alguns fatores dificultam sua sobrevivência no trato gastrintestinal, como a acidez estomacal. Isso explica a necessidade de eles serem ingeridos em concentrações elevadas (ISLAN, 2016; GIRARDIN; SEIDMAN, 2011).

Diante das definições para o termo probiótico, a Organização Mundial de Saúde (OMS) não definiu as quantidades as serem ingeridas para estabelecer um alimento como probiótico. Contudo, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 1999), recomenda ingestão diária mínima de 10^8 a 10^9 Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por g ou por mL no produto pronto para o consumo.

Níveis elevados de bactérias, como as citadas anteriormente, apresentam relação direta com uma microbiota saudável, entretanto, o funcionamento do intestino delgado ainda apresenta estabilidade comprometida por diversos fatores como peristaltismo, presença de secreções luminiais e pela dieta, tornando isso responsável pela entrada de bactérias exógenas, benéficas ou não. Além disso, o epitélio intestinal é um ambiente de constante renovação, dificultando a aderência de bactérias nas paredes intestinais. Assim, a introdução continuada e em número elevado de bactérias benéficas faz com que haja um aumento na população, e com isso uma proliferação maior de microrganismos benéficos (COSTA; ROSA, 2016).

Outro fator importante é que os probióticos apresentam ação direta contra as bactérias intestinais patogênicas, aumentando o nível de bactérias benéficas e diminuindo os microrganismos patogênicos. Essa ação afeta diretamente o

ecossistema intestinal estimulando mecanismos imunes do organismo por antagonismo e concorrência entre os patógenos potenciais. Esses mecanismos apresentam efeito direto em algumas patologias, reduzindo a incidência e gravidade destas, como a diarreia (WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION, 2011).

Os probióticos podem apresentar um maior potencial quando associados aos prebióticos, o que ocorre por meio da ingestão de probióticos juntamente com alimentos prebióticos, favorecendo o aumento do número de microrganismos promotores da saúde no trato gastrointestinal (SAAD, 2006).

4.3 Prebióticos

O grupo dos prebióticos foi reconhecido inicialmente por japoneses, que identificaram o potencial dos oligossacarídeos fermentáveis em ração para suínos e, posteriormente, em 1980, em leite humano. Mas somente em 1995 se obteve uma definição sobre o conceito de prebiótico relacionado à modulação intestinal. Diversas atualizações foram realizadas no decorrer do tempo, mas somente em 2010 definiu-se o termo prebiótico (BINNS, 2014).

Segundo a Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP) (GIBSON et al., 2011), define-se prebiótico como “ingredientes seletivamente fermentados, que resultam em alterações específicas na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal, assim proporcionando benefícios para a saúde do hospedeiro”. Além disso, são responsáveis por estimular seletivamente a proliferação ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon.

Os prebióticos são considerados carboidratos não-digeríveis, incluindo a lactulose, inulina e oligossacarídeos, e apresentam características de fornecer carboidratos para as bactérias benéficas que irão fermentá-los. Pode-se ainda relatar que os prebióticos predominantemente encontrados em humanos são frutanos e galactanos, e que o efeito prebiótico é observado principalmente na família dos fruto-oligossacarídeos (FOS) e inulina (SAAD, 2006; WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION, 2011).

Assim, a importância dos alimentos prebióticos está relacionada à sua influência na inibição da multiplicação de patógenos, garantindo benefícios adicionais à saúde do hospedeiro. Esses componentes atuam mais frequentemente no intestino grosso, embora eles possam ter também algum impacto sobre os

microrganismos do intestino delgado, servindo de alimento básico para a proliferação de bactérias benéficas à saúde intestinal (GIBSON et al., 2011).

4.4 Kefir

4.4.1 Histórico do Kefir

A palavra kefir, apresenta origem turca, sendo derivada de *keif*, que significa “sentir-se bem”. A bebida kefir tem origem estimada de mais de 2000 a.C. nas montanhas do Cáucaso, na Rússia, entre o mar Negro e o mar Cáspio. A população dessa região considerava o kefir como uma bebida presente de Alá, assim não permitiam que outros povos pudessem consumi-la, fazendo com que a bebida não fosse divulgada para o restante do mundo (WESCHENFELDER et al., 2011; MACHADO et al., 2012).

No final do século XIX, foram realizadas expedições russas na região do Cáucaso a fim de se conseguir grãos de kefir para utilização na cura de algumas doenças predominantes da época, como a tuberculose, tendo em vista, que na região já se falava dos benefícios dos grãos da bebida. E assim, nos anos 1908 o kefir chegou a Moscou, salientando-se que os grãos que derivavam a bebida eram doados de pessoa a pessoa, e assim foram se difundindo pelo país. Nos dias atuais, os grãos de kefir são encontrados na maioria dos países (COSTA; ROSA, 2016).

4.4.2 Caracterização do Kefir

O kefir é classificado como leites fermentados, sendo elaborado a partir da incubação e fermentação dos grãos de kefir por cultivos ácido-lácticos. É considerada uma bebida refrescante, de sabor ligeiramente ácido e com consistência cremosa, podendo ser produzida a partir de grãos inoculados em leite de vaca, cabra, ovelha, búfala, entre outros. Podem ainda ser utilizadas bases não lácteas, como soluções de açúcar mascavo, principal substrato alternativo (FIORDA et al., 2017; BRASIL, 2007; COSTA; ROSA, 2016).

A bebida kefir apresenta-se como alimento funcional dentro da categoria dos probióticos, por apresentar em sua composição bactérias benéficas ao organismo e produzir compostos bioativos importantes. Dentre os seus benefícios à

saúde, apresenta ações anticarcinogênicas, estímulo do sistema imune, efeitos anti-inflamatórios e melhoria dos níveis do colesterol no sangue (KESENKAŞ; GÜRSOY; ÖZBAŞ, 2017).

As bactérias pertencentes à cultura do kefir apresentam-se de forma variada, como grãos de Kefir, *Lactobacillus kefir*, espécies dos gêneros *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Acetobacter*, com produção de ácido láctico, etanol e dióxido de carbono (BRASIL, 2007).

Sua composição apresenta valores que remetem a características peculiares ao produto, como seu sabor ácido, pH que varia de 4,2 a 4,6, etanol entre 0,5% e 2,0% (v/v), ácido láctico de 0,8% a 1,0% (m/v) e dióxido de carbono entre 0,08% e 0,2% (v/v). Apresenta ainda ácidos fórmico, propiônico, succínico e acético (BRASIL, 2007; SARKAR, 2007; COSTA; ROSA, 2016).

Os grãos de kefir apresentam consistência gelatinosa, com 1 a 2 cm de diâmetro, aparência característica de couve-flor e coloração levemente amarela, e são insolúveis em água (Figura 1). Eles são constituídos por leveduras fermentadoras de lactose (*Kluyveromyces marxianus*) e leveduras não fermentadoras de lactose (*Saccharomyces omnisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces exiguus*), *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* sp. e *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* envolvidos por uma matriz de polissacarídeos referida como kefiran (BRASIL, 2007; WESCHENFELDER et al., 2011; COSTA; ROSA, 2016).

Figura 1 – Grãos de kefir



FONTE: elaborado pela autora.

Sua composição apresenta variação conforme sua origem, região, tempo de utilização, substrato a ser utilizado, podendo ser leite, soro do leite, água ou suco enriquecido com açúcar mascavo; bem como as técnicas utilizadas na manipulação (WESCHENFELDER et al., 2011).

Dentre as espécies de microrganismos, muitas e diferentes têm sido relatadas como constituintes dos grãos de kefir obtidos de diferentes regiões. Dentre essas espécies, destacam-se as bactérias ácido lácticas como *Lactobacillus paracasei*, *L. parabuchneri*, *L. casei*; bactérias acéticas como *Acetobacter lovaniensis* e leveduras como *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lachancea meyersii*. Tal identificação torna-se importante, já que cada uma apresenta características diferenciadas, possibilitando o desenvolvimento de novas pesquisas (MAGALHÃES et al., 2011; AHMED et al., 2015; DERTLI; ÇON, 2017).

4.4.3 Caracterização físico-química e microbiológica

De acordo com Sarkar (2007) as características físico-químicas dos grãos de kefir e da bebida dependem do tipo de leite empregado, do tempo de fermentação, bem como da idade do grão. Em seu estudo, o grão de kefir apresentou 86,3% de umidade; 4,5% de proteínas; 1,2% de cinzas e 0,03% de gordura. Já a bebida kefir apresentou de 89 a 90% de umidade; 0,2% de lipídios; 3,0% de proteína; 6,0% de açúcares e 0,7% de cinzas. Além disso, após a fermentação foi possível detectar ácido láctico e etanol em sua composição.

Campolina et al. (2017), em seu estudo sobre elaboração de antepastos de kefir adicionados de chia, encontraram valores semelhantes aos citados anteriormente, por Sarkar (2007), em que o antepasto sem adição de chia apresentou 80,63% de umidade; 9,02% de proteínas; 2,12% de cinzas e 1,43% de lipídios.

Quanto às características de leites fermentados, a Instrução Normativa n^o 46, de 23 de outubro de 2007 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que trata do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (BRASIL, 2007), estabelece faixas de valores ideais para os parâmetros físico-químicos, que estão apresentados no Quadro 3.

Quadro 3 – Características físico-químicas para leites fermentados

Produto	Matéria Gorda láctea (g/100g)	Acidez (g ácido láctico/100g)	Proteínas lácteas (g/100g)
Com creme	Mínimo 6,0	0,6 a 2,0	Mínimo 2,9
Integral	3,0 a 5,9	0,6 a 2,0	Mínimo 2,9
Parcialmente desnatado	0,6 a 2,9	0,6 a 2,0	Mínimo 2,9
Desnatado	Máximo 0,5	0,6 a 2,0	Mínimo 2,9

FONTE: Brasil (2007).

Essa Instrução Normativa especifica ainda que kefir deve conter menos de 1,0 g de ácido láctico por 100 g, e de 0,5 a 1,5% (v/m) de etanol (BRASIL, 2007).

A Instrução Normativa n^o 46 (BRASIL, 2007) também estabelece requisitos para as características de microrganismos específicos e qualidade microbiológica de kefir, como mostrados no Quadro 4.

Quadro 4 – Valores de referência para microrganismos específicos e de qualidade microbiológica em kefir.

Microrganismos	Valores de referência
Bactérias lácticas (UFC/g)	Mínimo 10 ⁷
Leveduras específicas (UFC/g)	Mínimo 10 ⁴
Coliformes a 30°C (UFC/g)	Máximo 100
Coliformes a 45°C (UFC/g)	Máximo 10

FONTE: Brasil (2007).

4.4.5 Produção do kefir

Levando em conta o inóculo a ser utilizado na sua produção, o kefir pode ser obtido a partir de grãos ou de uma cultura *starter*, chamada popularmente de fermento. Para o processamento, os grãos ou fermento devem ser adicionados ao leite na proporção de 5% ou 3%, respectivamente, sendo mantidos por cerca de 18 horas à temperatura ambiente ou até a coagulação, podendo o tempo de fermentação variar, e com isso haver diferenças na consistência do produto. Se apenas os grãos forem utilizados, eles devem ser reaproveitados, por meio de recolhimento com uma peneira, com trocas de substrato para garantir sua viabilidade. O produto resultante, sem os grãos, passa por um processo de

maturação (acondicionamento a 5 °C - 10 °C por 24 a 48 horas) para mudanças na viscosidade e produção de outros compostos como etanol, vitaminas, e assim poder ser consumido (GARROTE et al., 1997).

Entretanto, apesar de existirem várias formas de elaboração da bebida kefir, ainda não há uma padronização quanto ao tipo de processo mais adequado, existindo assim variações no teor de grãos adicionado, tempo e temperatura de fermentação para aquisição da bebida. Essas variações também são observadas nos tipos de produtos elaborados utilizando grãos de kefir.

No estudo de Sabokbar, Moosavi-Nasab e Khodaiyan (2015), os autores adicionaram grãos de kefir ao soro de queijo com suco de maçã, com variações no tempo, temperatura e percentual de grãos adicionados, o que resultou em variação de acidez e viscosidade do produto, obtendo-se bebidas com características diversificadas.

Uma forma de preparação do kefir é com a incorporação de frutas, aumentando sua aceitabilidade e palatabilidade, como também tornando a bebida um produto simbiótico, devido à adição das fibras das frutas. Santos (2013) empregou frutas como a mangaba e a ciriguela na bebida fermentada com grãos de kefir, apresentando resultados extremamente positivos quanto à aceitabilidade dos produtos.

4.4.6 Características Nutricionais

O kefir apresenta em sua composição diversos atributos nutricionais, como vitaminas, proteínas e minerais. O teor de vitaminas é influenciado pela origem e tipo de leite, bem como pela microbiota do grão de kefir, já que as bactérias presentes no grão são capazes de produzir alguns tipos de vitaminas. Dentre as vitaminas presentes pode-se citar as do complexo B (B1, B2 e B5) e vitamina C, importantes no metabolismo de carboidratos, no aumento de energia e para o sistema nervoso (SARKAR, 2007; MAHAM; ESCOTT-STUMP, 2012).

Durante a fermentação, o teor de aminoácidos presentes muda, passando a apresentar maiores quantidades de treonina, serina, alanina e lisina, além de triptofano, um dos aminoácidos mais importantes no kefir, e de importância fundamental no sistema nervoso (SARKAR, 2007; KESENKAS; YERLIKAYA; OZER, 2013). Em termos de minerais, Liut, Kevicius e Sarkinas (2004) relataram a

presença de potássio, cálcio, magnésio, fósforo e outros elementos como cobre, zinco, ferro e manganês no kefir.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Obtenção das matérias-primas

Os grãos de kefir foram obtidos na cidade de Limoeiro do Norte-CE a partir de doação. Estes foram mantidos em leite UHT à temperatura de 25 °C, que foi trocado a cada dois dias para garantir a viabilidade do grão.

Os demais ingredientes (grãos de kefir, leite de vaca UHT, leite em pó, soro de queijo em pó, sucos concentrados de caju, manga e polpa de pitaya vermelha foram adquiridos no comércio local da região.

5.2 Testes Preliminares

Foram realizadas fermentações do kefir puro, por meio das quais os ingredientes foram padronizados. Foram utilizados 3,5% (m/v) do grão do kefir, de acordo com Sabokbar, Moosavi-Nasab e Khodaiyan (2015); leite UHT e leite em pó 2,5% (m/v) (COSTA et al., 2013). O leite em pó foi adicionado para enriquecer e melhorar o crescimento do grão, uma vez que em testes anteriores nesta pesquisa, a adição do leite em pó favoreceu esse crescimento.

Para a fermentação, os grãos foram retirados do leite inicial, com ajuda de espátula e peneira de plástico, pesados e adicionados a recipientes de vidro higienizado, sendo acrescentado posteriormente leite em pó e leite UHT. Em seguida, foram tampados com panos multiuso e elástico, e acondicionados em incubadora B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*).

Foram testadas temperaturas de 25 °C e 30 °C em tempos de 18 e 24 horas, com mesma forma de preparo, para avaliar as melhores condições e características do kefir obtido. Após o período de incubação, os grãos foram retirados e pesados, e a bebida foi acondicionada em recipientes de vidro com tampa metálica, sob refrigeração de 4 a 8 °C por 24 h para maturação, seguida de acondicionamento a 5 °C - 10 °C por 24 a 48 horas, com posterior encaminhamento para análises.

5.2.1 Contagem de bactérias lácticas e bolores e leveduras.

Conforme a Instrução Normativa Nº 46 de 23 de outubro de 2007 (BRASIL, 2007), que estabelece os Padrões de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, a bebida kefir deve apresentar níveis mínimos aceitáveis de bactérias lácticas e leveduras específicas para ser considerada como leite fermentado durante seu período de validade. Assim foram realizadas análises de bactérias lácticas totais, bolores e leveduras de acordo com a metodologia de APHA (2001) e a Instrução Normativa Nº 46 de 23 de outubro de 2007 (BRASIL, 2007), respectivamente, para efeito de comparação.

Foram inoculadas 25ml da bebida em 225ml de solução salina, e realizadas diluições seriadas de 10^{-1} até 10^{-7} , para posterior obtenção das melhores diluições para contagem.

Para bactérias lácticas, as diluições foram plaqueadas em profundidade (*Pour plate*) utilizando o meio de cultura ágar MRS (De Man, Rogosa e Sharpe) com sobrecamada de meio. As placas foram incubadas invertidas a 37 °C por 48h em jarros de anaerobiose. Para confirmação de bactérias lácticas foram realizados testes de catalase e coloração de Gram.

Nas análises de bolores e leveduras foram utilizados os mesmos procedimentos de diluição seriada, entretanto as diluições foram inoculadas em meio específico, BDA (Potato Dextrose Agar), acidificado com 1% de ácido tartárico, tornando-se um meio mais propício para o crescimento, pelo método *Spread plate*. As placas foram incubadas a 28°C por 5 dias.

Os resultados de ambas as análises foram expressos em UFC/mL.

5.2.2 Análises físico-químicas

Foram analisados pH, acidez titulável, sólidos solúveis e lactose do leite UHT (LP), do leite adicionado de leite em pó (LA) e das bebidas após a fermentação. Além disso foi medida a diferença de massa dos grãos.

5.2.2.1 pH

A leitura do pH foi realizada por meio de um pHmetro portátil (K-390014PA marca KASVI), sendo calibrado antes das análises com soluções tampões de pH 4,00, 7,00 e 10,00.

5.2.2.2 Acidez titulável

A acidez foi expressa em % de ácido láctico, utilizando o fator de conversão do ácido láctico 0,9; conforme o método 947,05 da AOAC (2005).

5.2.2.3 Sólidos Solúveis

O teor de sólidos solúveis (SS) foi determinado a partir da leitura realizada com um refratômetro digital de bancada WYA- 2S marca ABBE, sendo os valores expressos em °Brix.

5.2.2.4 Teor de lactose

O teor de lactose foi quantificado por meio do teor de glicídios redutores em lactose, conforme descrito por IAL (2008).

O resultado foi expresso em % de lactose, conforme a Equação 1.

$$(V \times f \times 0,9)/P = \text{g de ácido láctico por cento (m/v)} \quad (1)$$

Onde: V = nº de mL de solução de hidróxido de sódio 0,1 M gasto na titulação;

P = nº g ou mL da amostra;

0,9 = fator de conversão para o ácido láctico;

f = fator da solução de hidróxido de sódio 0,1 M

5.2.2.5 Diferença de Massa do grão de kefir

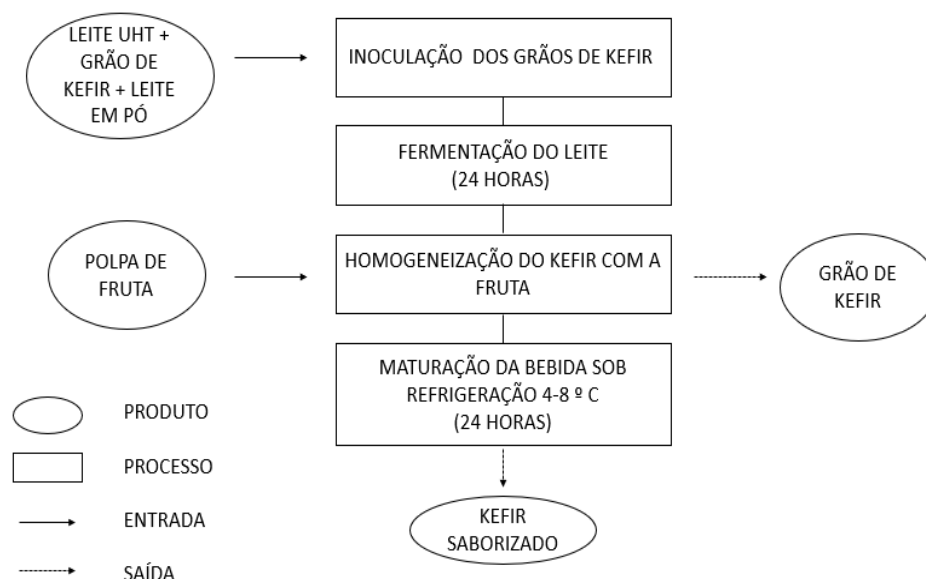
Os grãos de kefir de cada bebida foram pesados em balança analítica antes e após a fermentação, e os valores obtidos subtraídos para obtenção da diferença de massa. As medições foram realizadas em triplicata.

5.3 Elaboração dos kefirs saborizados

Para a fermentação dos kefirs saborizados foram considerados aspectos provenientes dos testes preliminares, como nível de bactérias lácticas presentes, leveduras específicas, nível de acidez permitido conforme legislação, e níveis menores de lactose. Assim, as condições utilizadas para fermentação dos kefirs saborizados foram 25°C no período de 24h, de acordo com Sabokbar, Moosavi-Nasab e Khodaiyan (2015).

Os grãos de kefir foram removidos do leite inicial, lavados com água destilada, e inoculados, na concentração de 3,5% (m/v), em leite UHT adicionado de leite em pó de 2,5% (m/v). Esse conteúdo foi acondicionado em recipientes de vidro previamente sanitizados, por 24h a 25°C, conforme ilustração na Figura 2.

Figura 2 – Fluxograma de processamento do kefir saborizado.



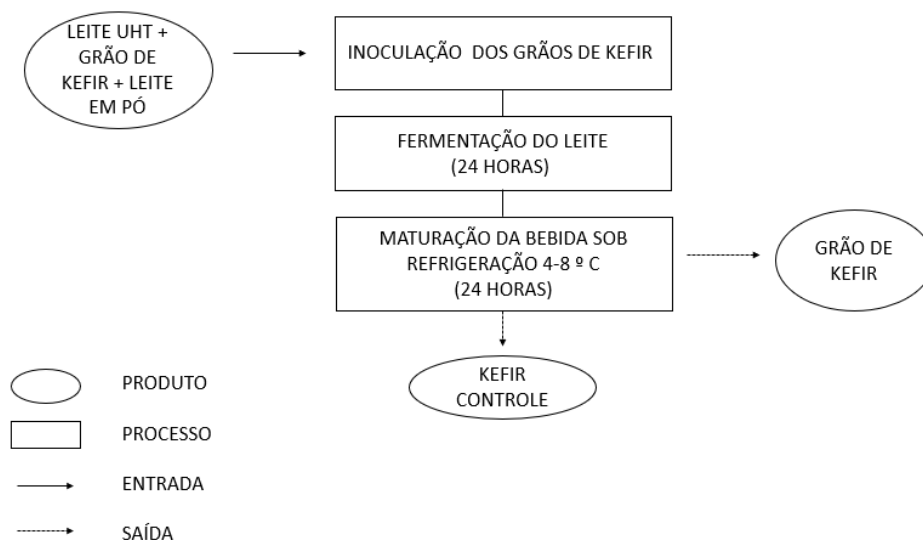
FONTE: Elaborado pela autora.

Após a fermentação, os grãos de kefir foram retirados e pesados, e a polpa ou suco concentrado foi adicionado, resultando nas seguintes bebidas: KS1- com suco concentrado de manga; KS2- com polpa de pitaya; e KS3- com suco concentrado de caju, todos com adição de 10 e 25% de polpa ou suco concentrado. Foi ainda realizado um experimento controle, denominado KC, em que não houve adição de polpa de fruta, conforme descrito na Tabela 1 e Figura 3.

Os percentuais de adição de polpa ou suco concentrado foram fixados de acordo com os valores estabelecidos pela Instrução Normativa Nº 46 de 23 de outubro de 2007 (BRASIL, 2007), que estabelece concentração máxima de 30% para compostos não-lácteos em bebidas lácteas fermentadas.

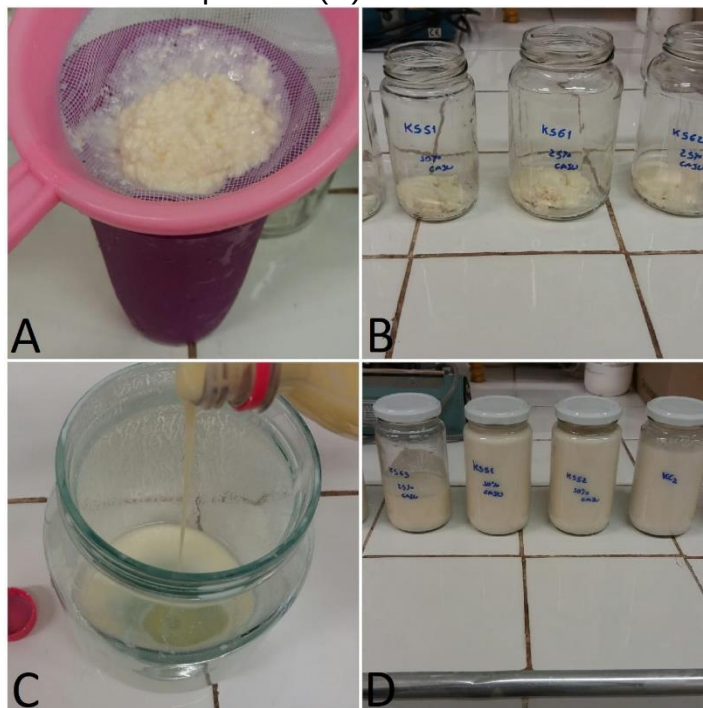
No total foram obtidas 7 formulações diferentes, que foram preparadas em duas etapas: primeiramente 4 formulações, duas de manga e duas de pitaya e na etapa seguinte, duas de caju e a controle. As etapas de saborização do kefir estão ilustradas na Figura 4.

Figura 3 – Fluxograma de processamento da bebida fermentada KC: kefir controle-fermentado de kefir no leite sem adição de polpa de fruta.



FONTE: Elaborada pela autora.

Figura 4 – Etapas da saborização do kefir: Filtragem dos grãos de kefir do leite de partida (A); grãos de kefir adicionados de leite em pó (B); Adição do suco concentrado (C); kefirs saborizados prontos (D).



FONTE: Elaborado pela autora.

Tabela 1 – Formulações de kefir adicionado de polpa ou suco de fruta em diferentes concentrações.

Formulação	Suco de manga (%)	Polpa de pitaya (%)	Suco de caju (%)
KS1-10	10	-	-
KS1-25	25	-	-
KS2-10	-	10	-
KS2-25	-	25	-
KS3-10	-	-	10
KS3-25	-	-	25
KC (Controle)	-	-	-

FONTE: Elaborado pela autora.

Após a formulação, as amostras foram envasadas em recipientes de vidro sanitizados e armazenadas sob refrigeração de 4-8°C por 24h para maturação e posteriores análises.

As formulações foram realizadas em triplicata.

5.4 Acompanhamento da fermentação dos kefires

Para acompanhamento do processo de fermentação do kefir foram realizadas análises de pH, acidez titulável, sólidos solúveis, teor de lactose e diferença de massa dos grãos de kefir. Também foram realizadas análises microbiológicas no kefir tradicional, bem como nos kefires saborizados, adicionados de polpa/suco.

5.4.1 *Análise físico-químicas dos sucos/polpas adicionadas no kefir saborizado.*

Foram realizadas análises de pH, acidez titulável e sólidos solúveis nos sucos de manga e caju, bem como na polpa de pitaya utilizada na saborização dos kefires.

5.4.2 *Contagem de bactérias lácticas totais e bolores e leveduras nos kefires.*

Foram realizadas conforme item 5.2.1.

5.4.3 *Avaliação da inocuidade dos kefires*

Os leites fermentados kefir foram submetidos a análises microbiológicas de coliformes totais e termotolerantes e *Salmonella* sp. adotando-se as metodologias descritas pela APHA (2001), e os resultados comparados com os parâmetros estabelecidos na RDC Nº 12 de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), bem como na Instrução Normativa Nº 46 de 23 de outubro de 2007 (BRASIL, 2007), que preconizam os critérios de padrão microbiológico de leites fermentados. Os resultados foram expressos em NMP/g (Número Mais Provável por grama) para coliformes e ausência ou presença em 25g para *Salmonella*.

Tais análises foram necessárias para avaliar os padrões de qualidade microbiológica da bebida, assim como para garantir que o produto estivesse seguro durante as análises sensoriais, sem apresentar riscos de contaminação aos avaliadores.

5.4.4 Análises físico-químicas dos kefires

As análises foram realizadas conforme descrito em 5.2.2.1; 5.2.2.2; 5.2.2.3; 5.2.2.4 e 5.2.2.5. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

5.5 Análise sensorial dos kefires

A finalidade dessa análise sensorial foi a escolha de um sabor (manga, pitayas ou caju) e uma concentração de suco/polpa (10% ou 25%) para as etapas seguintes. O kefir puro (controle) também foi incluído nesse teste. Para isso, foi realizado um grupo focal com quinze participantes previamente selecionados por meio de questionário de recrutamento, contendo questões envolvendo consumo de leite fermentado ou bebida láctea fermentada, conforme Apêndice A.

O grupo de foco é uma entrevista em grupo cuidadosamente planejada, com o intuito de obter percepções individuais dos provadores sobre determinado produto. Baseia-se em conceitos de dinâmica de grupo, em que a discussão é estimulada pela troca de comentários e proporciona interações grupais ao se discutir determinado tópico sugerido pelo pesquisador ou pela comunidade, produzindo dados que não seriam possíveis de alcançar sem que houvesse essa interação em grupo (KITZINGER, 2000; MINIM, 2018).

Participaram do teste pessoas que encontravam-se na faixa etária de 18 a 60 anos, de ambos os sexos, que tivessem interesse em participar voluntariamente da pesquisa, e que não apresentassem restrições quanto ao consumo de leite fermentado, como alergia à proteína do leite ou intolerância à lactose.

Os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE), com o n. de Parecer 2.702.752, **CAAE**: 90410218.2.0000.5589, respeitando-se a Resolução n. 466/2012 do Ministério da Saúde referente à pesquisa envolvendo seres humanos (BRASIL, 2013).

Após o recrutamento, foram realizadas duas sessões, que foram conduzidas por um único moderador em uma sala com capacidade para acomodar

os participantes confortavelmente no Laboratório de Análise Sensorial do IFCE Limoeiro do Norte. As sessões de grupo focal foram planejadas e realizadas de acordo com as etapas descritas em Minim (2018) e em um estudo de Della Lúcia et al. (2010).

No início da sessão, o moderador apresentou o propósito da técnica e o objetivo do estudo. Aos participantes foi assegurado que não existiam respostas certas ou erradas para as questões abordadas, e foram encorajados a expressar suas opiniões, mesmo que estas fossem divergentes das respostas dos demais membros do grupo.

As sessões duraram, aproximadamente, 45 minutos cada, e foram anotadas e gravadas por um assistente. Os participantes do grupo focal provaram as amostras de leite fermentado, sem qualquer identificação entre elas. Foram servidas as primeiras 4 formulações (manga 10% e 25% e pitaya 10% e 25%) em copos descartáveis na primeira sessão, e 3 formulações (caju 10% e 25% e controle) na segunda sessão.

O teste prosseguiu com um roteiro de perguntas acerca do hábito dos consumidores quanto ao consumo de leites fermentados, sabor, entre outras (Quadro 5).

Quadro 5 – Questionário aplicado ao grupo de foco.

Número de Questões	Questões do grupo de foco
1	Quem costuma consumir? Quantidade? Frequência? Acompanhamento? Substituições para esse alimento?
2	Sobre o sabor, qual amostra lhe torna mais agradável? Por quê? Qual a mais ácida? A acidez influenciou sua escolha?
3	Qual fruta você prefere? As outras, você tem o hábito de consumir? Em qual frequência?
4	O sabor da fruta influenciou na sua escolha?
5	O preço te influencia na compra do produto ou a qualidade e os atributos nutricionais te influenciam mais?
6	Você escolhe o que compra na sua residência ou outro alguém na sua residência é responsável por isso?

FONTE: Adaptado de Barroso Neto, Manos e Galvão (2015).

5.6 Elaboração das bebidas fermentadas saborizadas

Escolhido o sabor de polpa/suco de fruta a ser adicionado e a concentração, foram elaboradas três formulações da bebida fermentada com kefir e a polpa de fruta escolhida, preparadas de diferentes formas, conforme exposto na Tabela 2 e nas Figuras 2, 3, 5 e 6. Estas foram elaboradas em triplicata.

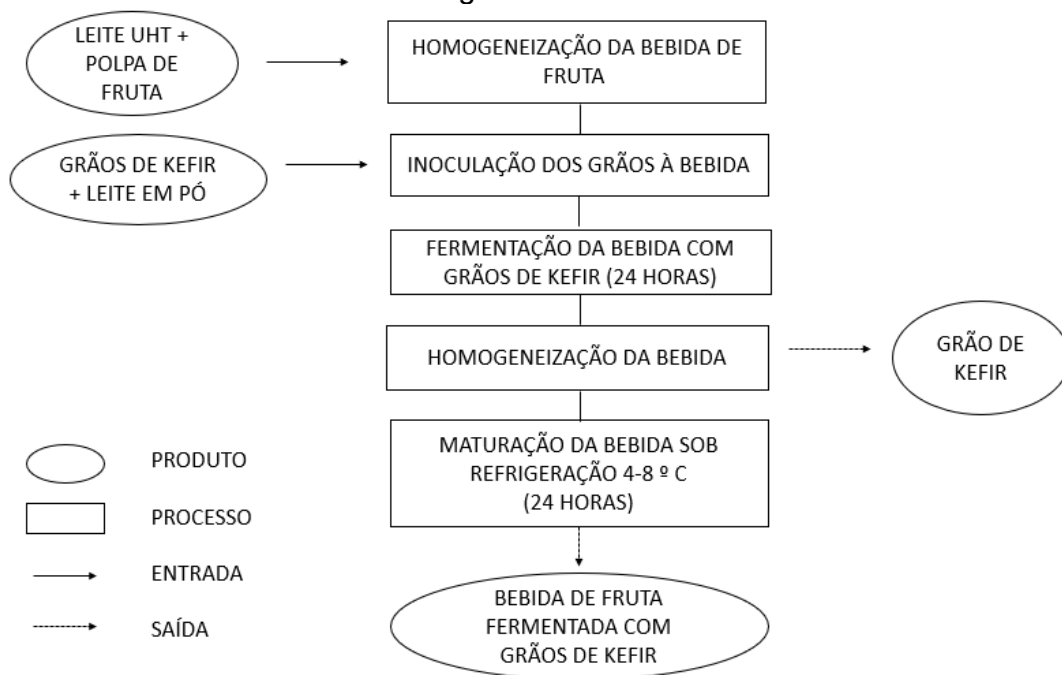
Tabela 2 – Formas de preparo das bebidas fermentadas com grãos de kefir.

Identificação	Formas de Preparo
B1	Kefir com adição da fruta após a fermentação
B2	Bebida fermentada por grãos de kefir com adição da fruta antes da fermentação
B3	Bebida fermentada por grãos de kefir, com soro de leite e adicionada de fruta
BC	Kefir sem adição de fruta

FONTE: Elaborada pela autora.

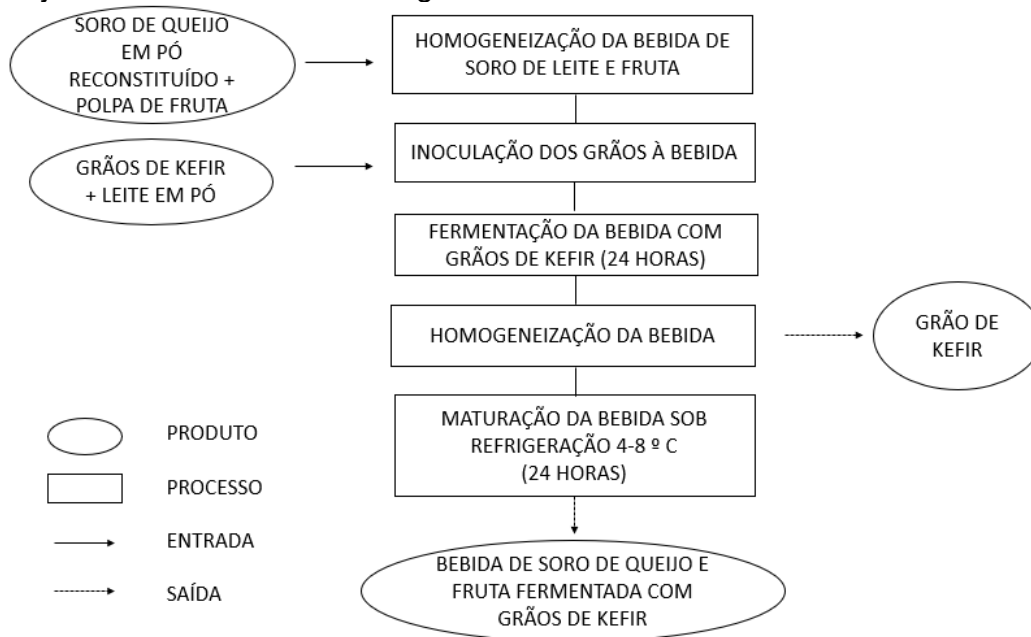
Os procedimentos de preparo do inóculo e as condições de fermentação foram as mesmas descritas no item 5.3, sendo que foram utilizados 25% de suco de manga em todas as formulações.

Figura 5 – Fluxograma de processamento bebida fermentada B2: bebida de fruta fermentada com grãos de kefir



FONTE: Elaborada pela autora.

Figura 6 – Fluxograma de processamento da bebida fermentada B3: bebida de soro de queijo e fruta fermentada com grãos de kefir



FONTE: Elaborada pela autora.

Na formulação B3, o soro de queijo em pó foi reconstituído com água filtrada até a obtenção de um teor de sólidos solúveis equivalente ao do leite (13,40°Brix). O soro de queijo constituído apresentou em torno de 13,10°Brix, sendo medido em um refratômetro digital.

A formulação da BC (kefir sem adição de fruta) foi preparada a partir da fermentação do kefir no leite sem adição de polpa de fruta ou outros ingredientes, conforme Figura 3, citada anteriormente.

5.7 Análise da microbiota das bebidas fermentadas saborizadas

Foram realizadas análises de bactérias lácticas totais e bolores e leveduras, conforme descrito no item 5.2.1.

5.8 Análises microbiológicas das bebidas fermentadas saborizadas

Foram realizadas análises de coliformes totais e termotolerantes, e *Salmonella* sp., conforme descrito no item 5.4.3.

5.9 Análises físico-químicas e composição centesimal das bebidas fermentadas saborizadas

5.9.1 Análises físico-químicas

Foram realizadas análises de pH, acidez, sólidos solúveis, teor de lactose e diferença de massa dos grãos de kefir, conforme metodologias descritas nos itens 5.2.2.1; 5.2.2.2; 5.2.2.3; 5.2.2.4 e 5.2.2.5.

Todas as análises foram realizadas em triplicata.

5.9.1.1 Umidade

As amostras foram pesadas em cadinho de porcelana, previamente tarados, e serão levados a estufa à temperatura de $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ para remoção de água por aquecimento. Esse procedimento foi realizado até obtenção de peso constante, conforme AOAC (2005). Os resultados foram expressos em porcentagem.

5.9.1.2 Cinzas

As amostras foram pesadas em cápsulas de porcelana taradas anteriormente, carbonizadas em chapa elétrica e incineradas em forno mufla a 550°C durante 3h. Posteriormente, foram resfriadas em dessecador por 30 minutos e pesadas até obter peso constante AOAC (2005). Os resultados foram expressos em porcentagem.

5.9.1.3 Proteínas

Foram obtidas a partir da metodologia de Kjeldahl, que consiste em três etapas: a de digestão, a destilação e a titulação. Os resultados foram expressos em nitrogênio total conforme AOAC (2005).

5.9.1.4 Lipídeos

Os lipídeos foram determinados a partir da leitura em butirômetro e aplicado na Equação 2, conforme IAL (2008). Os resultados foram expressos em porcentagem.

$$\%Gd = L \times 5 \quad (2)$$

Sendo: % Gd: teor de gordura da amostra, em % (m/m);

L: teor de gordura lido no butirômetro.

5.9.1.5 Carboidratos

O teor de carboidratos foi determinado a partir da diferença entre o total da amostra que representa os 100% e os valores obtidos a partir das análises de lipídeos, proteínas, umidade e cinzas, conforme descrito por Cecchi (2003).

5.9.1.6 Sólidos totais

As amostras foram pesadas em cápsulas de metal previamente taradas, e em seguida submetidas a secagem direta em estufa aquecida a 105°C durante 3h. Foram então colocadas para resfriar em dessecador por meia hora, e pesadas até obter peso constante, segundo AOAC (2005). O valor de sólidos totais (ST) foi obtido em porcentagem.

5.9.1.7 Valor calórico

Foi determinado o valor calórico das bebidas fermentadas a partir do cálculo das médias aritméticas dos teores de carboidratos, proteínas e lipídios e multiplicadas por 4kcal/g, 4kcal/g e 9kcal/g, respectivamente, de acordo com os valores de conversão de Atwater (1900) e descrito em Brasil (2003). O valor calórico foi expresso em kcal/100g.

5.9.1.8 Viscosidade

As formulações de bebida fermentada foram submetidas à determinação de viscosidade, em triplicata, pelo viscosímetro modelo Q860M26 (Quimis), com resultados expressos em centipoise (cP).

5.10 Análise sensorial das bebidas fermentadas de kefir saborizadas com suco de manga

Foram aplicados testes de aceitação por escala hedônica, ordenação preferência e intenção de compra com 120 avaliadores com faixa etária entre 18 e 60 anos, não treinados, seguindo as recomendações de Dutcosky (2013). A ficha sensorial aplicada está disponível no Apêndice C.

O delineamento das amostras foi em blocos completos e balanceados. As amostras foram dispostas com codificação aleatória com números de três dígitos, em copos descartáveis. A análise sensorial ocorreu no Laboratório de Análise Sensorial do IFCE Limoeiro do Norte, com cabines individuais e iluminação artificial branca, isento de interferentes sensoriais.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE), conforme citado no item 5.5.

Os avaliadores receberam todos os informes referentes à pesquisa, quanto a objetivos e metodologia do estudo. Tiveram ainda garantido seu direito de desistir de participar da pesquisa quando desejassem, bem como também foi lhes garantido o anonimato por ocasião de divulgação dos resultados da pesquisa. Foi assegurado um mínimo de risco à sua saúde, por se tratar de produto com

seguridade físico-química e microbiológica. Os intolerantes e alérgicos a quaisquer ingredientes presentes no produto foram orientados a não participarem da pesquisa. Caso tivesse ocorrido algum desconforto físico, o participante seria encaminhado ao hospital mais próximo. Os colaboradores que aceitaram a participação na pesquisa assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice B), que contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa.

Para o teste de aceitação sensorial, os atributos impressão global, aparência, aroma, textura e sabor foram avaliados por meio de uma escala hedônica estruturada mista de 9 pontos, com extremidades “desgostei muitíssimo” (1) e “gostei muitíssimo” (9).

Para o cálculo do Índice de Aceitabilidade (IA) de cada formulação, utilizou-se a Equação 3 (TEIXEIRA; MEINERT; BARBETTA, 1987):

$$IA = (A \times 100)/B \quad (3)$$

Onde: IA = Índice de aceitabilidade expresso em (%).

A = Escore médio obtido pelo produto.

B = Escore máximo conferido ao produto.

Para o teste de intenção de compra o provador foi instruído a utilizar uma escala estruturada de cinco pontos (1 = certamente compraria; 3 = tenho dúvidas; 5 = certamente não compraria).

Por último, no teste ordenação preferência, solicitou-se que o provador ordenasse as amostras da mais preferida para a menos preferida, foi adotada a posição 1 para a amostra menos preferida e 4 para a mais preferida (DUTCOSKY, 2013).

5.10 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os dados obtidos das análises físico-químicas e sensoriais das etapas foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA), e as médias comparadas entre si por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

Para a realização dos procedimentos estatísticos foi utilizado o programa *Statistica 7.0* (STATSOFT, 2007).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Testes preliminares

6.1.1 Contagem de bactérias láticas e bolores e leveduras

A partir dos testes preliminares, pôde-se observar nas análises de bactérias láticas e bolores e leveduras que em todos os tempos e temperaturas empregados houve crescimento dentro do estabelecido pela legislação, conforme disposto na Tabela 3.

Tabela 3 – Contagem de bactérias láticas e bolores e leveduras no kefir fermentado em diferentes temperaturas e tempos.

Temperatura das amostras (°C)	Tempo (horas)	Bolores e leveduras (UFC/mL)	Bactérias láticas (UFC/mL)
25	18	$3,6 \times 10^4$	$2,1 \times 10^8$
	24	$9,8 \times 10^4$	$5,2 \times 10^9$
30	18	$1,2 \times 10^4$	$2,2 \times 10^7$
	24	$1,7 \times 10^6$	$1,7 \times 10^8$

FONTE: elaborado pela autora.

As contagens elevadas de bactérias láticas e bolores e leveduras estão de acordo com o esperado, uma vez que os grãos são compostos por bactérias, dentre elas as láticas, em simbiose com as leveduras. A legislação exige valores mínimos de 10^7 UFC/g para bactérias láticas e de 10^4 UFC/g para leveduras específicas (BRASIL, 2007). Vale destacar que não houve desenvolvimento de bolores na avaliação de bolores e leveduras.

Pôde-se observar, no tempo de 24h, que nas temperaturas de 25°C e 30°C houve maior crescimento, tanto de bactérias láticas quanto de bolores e leveduras, contrapondo ao tempo de 18h, que apresentou crescimento menor. O resultado é considerado coerente, uma vez que um maior tempo de fermentação tende a resultar em maior crescimento microbiano.

Na comparação das temperaturas de 25°C e 30°C, em condições iguais de tempo, os melhores resultados apresentados foram a 25°C, com maior

crescimento de bactérias láticas. Assim, o grão apresentou maior desenvolvimento a 25°C no tempo de 24h de fermentação, sendo essa a condição escolhida para a produção de uma bebida probiótica, como o kefir.

Condições semelhantes foram empregadas no estudo de Sabokbar, Moosavi-Nasab e Khodaiyan (2015) com kefir adicionado de suco de maçã, nas quais se obtiveram os melhores resultados sensoriais utilizando também percentuais de 3,5% de grão.

A faixa de temperatura escolhida (25-30°C) para os testes é considerada ideal para o crescimento dos grãos de kefir. Weschenfelder et al. (2011) e Costa e Rosa (2016) relatam que temperaturas menores podem ocasionar períodos de menor crescimento do grão, enquanto temperaturas maiores são mais susceptíveis à sua contaminação e à morte dos microrganismos que o compõem, já que eles não toleram temperaturas mais elevadas. Quanto aos tempos avaliados, mais de 24h de fermentação tornam a bebida muito ácida, e tempos inferiores resultam em uma fermentação muito curta, resultando em um produto sem suas características peculiares, como a viscosidade do kefir e aroma semelhante ao de um iogurte.

Ribeiro (2015), ao avaliar a caracterização microbiológica de kefir nas mesmas condições deste estudo, na região Noroeste do Rio Grande do Sul, observou contagens satisfatórias para bactérias láticas e leveduras.

6.1.2 Análises físico-químicas

Foram analisados tanto o leite UHT (LP), como a mistura de leite UHT mais leite em pó (LA), que foi realizada para melhorar nutricionalmente o substrato dos grãos de kefir. Além disso, Costa et al. (2013) ressaltam que ingredientes acrescidos ao leite, como leite em pó, soro de queijo, pectina e gelatina dão mais estabilidade e firmeza à preparação, podendo aumentar também o valor nutricional.

Essas análises foram realizadas a fim de avaliar se haveria alterações significativas nos parâmetros que seriam acompanhados posteriormente, ao longo do processo fermentativo. Os resultados estão expostos na Tabela 4.

Tabela 4 – Parâmetros físico-químicos dos ingredientes leite UHT e leite adicionado de leite em pó.

Amostras	Análises físico-químicas			
	Acidez (g ác. láctico/100 mL)	pH	Sólidos solúveis (°Brix)	Lactose g/100 mL
LP	0,34 ^b ± 0,02	7,1 ^a ± 0,10	13,40 ^b ± 0,17	4,16 ^a ± 0,15
LA	0,53 ^a ± 0,05	7,0 ^a ± 0,12	15,27 ^a ± 0,58	4,27 ^a ± 0,02

FONTE: Elaborada pela autora.

LP: Leite UHT; LA: Mistura de leite UHT + 2,5% de leite em pó.

*Médias seguidas de letras minúsculas iguais na coluna indicam que não diferem significativamente entre si pelo teste t de Student ($p > 0,05$).

Pode-se observar, quanto à acidez, que as amostras LP e LA apresentaram valores acima do preconizado pela legislação, que é de 0,14 a 0,18 g de ácido láctico/100 ml, de acordo com a Portaria Nº 146, de 07 de março de 1996, Regulamento sobre Identidade e Qualidade dos Produtos lácteos (BRASIL, 1996). Além disso, houve aumento da acidez com adição do leite em pó, com diferença significativa entre as amostras ($p \leq 0,05$). As amostras não diferiram significativamente quanto ao pH. Os sólidos solúveis (SS) e lactose aumentaram à medida em que foi adicionado leite em pó, como esperado, por aumentar a quantidade de substrato rico nessas variáveis, entretanto, apenas SS apresentou diferença estatística pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Com isso, pode-se inferir que a mistura de leite UHT com leite em pó apresentou as melhores concentrações (sólidos solúveis e lactose) para utilização como substrato da bebida fermentada.

Os resultados dos parâmetros físico-químicos do kefir fermentado em diferentes temperaturas e tempos, estão descritos na Tabela 5. As variáveis avaliadas ao longo do tempo apresentaram diferença estatística apenas quanto ao pH e diferença de massa dos grãos pelo teste de Tukey a 5% de significância, mas em relação às temperaturas, verificou-se diferença significativa ($p \leq 0,05$) em termos de acidez. Sólidos solúveis e concentração de lactose não apresentaram diferença estatística em ambos parâmetros ($p \leq 0,05$).

Tabela 5 – Parâmetros físico-químicos no kefir fermentado em diferentes temperaturas e tempos.

Temperatura (°C)	Tempo (horas)	Acidez (g ác. láctico/100g)	pH	Sólidos solúveis (°Brix)	Lactose (g /100 mL)	Diferença de massa do grão (g)
25	18	0,76 ^{bA} ± 0,04	5,35 ^{aA} ± 0,07	9,60 ^{aA} ± 0,42	3,82 ^{aA} ± 0,30	13,23 ^{aA} ± 1,40
	24	0,96 ^{aA} ± 0,01	4,45 ^{bA} ± 0,07	8,40 ^{aA} ± 0,28	3,04 ^{aA} ± 0,29	7,76 ^{aA} ± 3,54
30	18	0,85 ^{aA} ± 0,06	4,85 ^{aB} ± 0,07	8,45 ^{aA} ± 0,64	2,79 ^{aA} ± 0,92	2,50 ^{aB} ± 0,14
	24	0,98 ^{aA} ± 0,07	4,45 ^{bA} ± 0,07	8,75 ^{aA} ± 0,78	3,14 ^{aA} ± 0,52	2,15 ^{aA} ± 0,07

FONTE: elaborada pela autora.

*Médias seguidas de letras minúsculas iguais na coluna indicam que não diferem significativamente entre si quanto as temperaturas, para o mesmo tempo, pelo o teste de Tukey ($p > 0,05$). E médias seguidas de letras maiúsculas iguais na coluna indicam que não diferem significativamente entre si quanto aos tempos, para a mesma temperatura, pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

A acidez, em todas as amostras, apresentou-se dentro da faixa estabelecida pela legislação, uma vez que todas encontravam-se abaixo de 1,0 g de ácido láctico/100 g. Segundo a Instrução Normativa N ° 46, de 23 de outubro de 2007 (BRASIL, 2007), leites fermentados devem apresentar de 0,6g a 2,0g de ácido láctico/100 g. Especificamente para kefir, os valores devem ser inferiores a 1,0g de ácido láctico/100g. Ribeiro (2015) também encontrou resultados de acidez semelhantes, variando de 0,72g a 0,85 g de ácido láctico/100g.

Na Tabela 5, no tempo de 18h, nas duas temperaturas testadas, foram observados pHs de 5,35 a 4,85; sendo o maior valor a 25°C. Nesse tempo, a temperatura de 30°C resultou em pH mais adequado à bebida, já que a 25 °C, o pH mais elevado, de 5,35 torna o produto mais propício ao desenvolvimento de microrganismos patogênicos.

Segundo Franco e Landgraf (1996), os alimentos estão divididos em três grupos: de baixa acidez, ou seja, pH acima de 4,5; alimentos ácidos, com pH entre 4,0 e 4,5; e alimentos muito ácidos pH abaixo de 4,0. Essa classificação é baseada no pH limite de multiplicação do patógeno *Clostridium botulinum* e da sua capacidade de produzir toxina, que é 4,5; e no pH mínimo para a multiplicação de outros tipos de bactérias, que é de 4,0. Entretanto, Karagözlü, Karagözlü e Ergönül (2007) relataram que *E. coli* pode ter sobrevivido até pH 4,5, ou até mesmo em pHs menores, dependendo do alimento em que esteja presente.

No tempo de 24h em ambas temperaturas não houve diferença nos resultados, com pHs em torno de 4,45. Ribeiro (2015), em seu estudo, encontrou resultados que variaram de 4,40 a 4,70 (Tabela 5).

Os pHs nos tempos e temperaturas avaliados relacionaram-se com a acidez encontrada, uma vez que as amostras que apresentaram pHs mais elevados, ou seja, no tempo de 18h (5,35 - 4,85), apresentaram acidez mais baixa (0,76g - 0,85g de ácido láctico/100g), enquanto pHs menores, no tempo de 24h (4,45), apresentaram acidez maiores (0,96g - 0,98g de ácido láctico/100g), conforme esperado. Os valores mais baixos de pH e maiores de acidez em 24h indica que a bebida fermentou por mais tempo, e com isso produziu mais compostos voláteis e ácidos orgânicos, principalmente láctico, assim aumentando a acidez do produto e reduzindo seu pH. Segundo Franco e Landgraf (1996), condições de alta acidez e baixo pH contribuem para inibir o desenvolvimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes, que podem vir a representar risco à inocuidade do alimento.

Não foi detectada redução no crescimento de bactérias lácticas em 24h, mesmo a acidez sendo maior e o pH menor, mas a 25°C as bactérias apresentaram um melhor crescimento em relação à temperatura de 30°C.

O teor de sólidos solúveis (SS) não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) em nenhum dos parâmetros estudados. É uma variável importante a ser estudada, pois ela se relaciona diretamente ao teor de açúcares presentes no alimento, que no caso do leite possui como açúcar predominante a lactose. Essa relação direta foi observada nesse estudo, pois a elevação do teor de lactose a 30°C, ao longo do tempo, também resultou em elevação dos SS, assim como a redução da concentração de lactose a 25°C foi acompanhada da redução dos SS ao longo do tempo da fermentação. Destaca-se que os sólidos solúveis exercem influência direta no crescimento do grão, já que a lactose é o substrato e fonte de crescimento dos grãos de kefir (WESCHENFELDER et al., 2011).

Menores concentrações de lactose foram detectadas em kefires fermentados a 25°C em 24h e de 30°C em 18h, enquanto as maiores foram encontradas na fermentação de 25°C de 18h, sendo justificável por ter um menor tempo de fermentação e menor temperatura, uma vez que temperaturas e tempos maiores que 25°C tendem a resultar em maior consumo de lactose pelas bactérias lácticas dos grãos de kefir, e assim redução do seu conteúdo. Sabokbar, Moosavi-Nasab e Khodaiyan (2015), ao avaliarem diversas temperaturas para fermentado de kefir com suco de maçã, encontraram temperatura ótima de 25°C para fermentação e aumento do grão, em que verificou-se a melhor temperatura para desenvolvimento, atividades metabólicas e enzimáticas do grão.

Além disso, Terra (2007), ao estudar as características físico-químicas, com ênfase no teor de lactose, avaliando o filtrado de kefir de leite por períodos de fermentação variados, constatou que o filtrado apresentou queda do teor de lactose ao longo do tempo, e que após 36h de fermentação, atingiu valores abaixo do limite estabelecido para consumo dos intolerantes à lactose.

Entretanto, o kefir da temperatura de 30°C em 24h apresentou maior quantidade de lactose do que este no de 18h na mesma temperatura, divergindo das características de consumo de lactose, apesar disso, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) nas concentrações de lactose em relação à temperatura e tempos avaliados.

A diferença de massa dos grãos de kefir apresentou diferença significativa nas temperaturas e tempos avaliados. O crescimento foi visualizado principalmente na fermentação a 25°C, em ambos os tempos, não se observando crescimento intenso a 30°C.

Nas temperaturas de 25°C e 30°C, em 24h, o grão apresentou menor crescimento, podendo-se sugerir então que o grão tenha crescido, e com o passar do tempo, diminuído ao longo da fermentação, fato que pode ter sido motivado pela presença de metabólitos produzidos ao longo do processo fermentativo, que modificaram as características físico-químicas do leite, resultando na inibição do crescimento dos microrganismos do grão.

Pôde-se observar que as faixas testadas de temperatura e tempo resultaram em variações pertinentes nos dados obtidos. Com isso, foi possível escolher as melhores condições para o processamento da bebida para as etapas seguintes de elaboração de bebidas fermentadas. Em relação aos parâmetros microbiológicos, a 24h, os melhores crescimentos foram observados, tanto de bolores e leveduras como bactérias lácticas, entretanto a 25°C apresentou um crescimento melhor de bactérias lácticas, correlacionando com as respostas de acidez, pH e diferença de massa, que apresentaram os melhores resultados na temperatura de 25°C e no tempo de 24h (Tabela 5).

Assim foi selecionada a temperatura de 25°C durante 24h para a fermentação das bebidas fermentadas a base de kefir.

As bebidas fermentadas que foram elaboradas são formulações que tiveram como base trabalhos existentes na literatura. No estudo de Magalhães et al. (2011) os kefirs foram elaborados pelo método tradicional, utilizando apenas leite e

grãos de kefir, e comparados com a bebida produzida com soro de queijo proteinado e desproteinado. Sabokbar, Moosavi-Nasab e Khodaiyan (2015) também modificaram a forma de preparo do kefir ao utilizar suco de maçã, assim adicionando sabor ao preparado antes do processo de fermentação, ou seja, fazendo com que a fermentação pelos dos grãos de kefir ocorresse já com o suco de fruta adicionado. Nogueira et al. (2016) analisaram a bebida de kefir com polpa de açaí, utilizando a polpa da fruta também antes da fermentação dos grãos.

Contudo, diversos autores utilizam a forma de fermentação do kefir tradicional, saborizando a bebida após o processo de fermentação, sendo uma das formas mais tradicionais. Contim, Oliveira e Cardoso Neto (2018) produziram e avaliaram kefir saborizado com polpa de graviola. Araújo et al. (2017) avaliaram também a produção de bebida fermentada de kefir com adição posterior de polpa de goiaba em diferentes concentrações.

6.2 Kefires Saborizados

6.2.1 Análises microbiológicas dos kefires saborizados

As análises microbiológicas foram realizadas nas formulações KS1-10, KS1-25, KS2-10, KS2-25 KS3-10, KS3-25 e KC. Os resultados obtidos estão disponíveis na Tabela 6.

Tabela 6 – Parâmetros microbiológicos dos kefires saborizados com diferentes concentrações de polpa/ suco concentrado de fruta.

Formulações	Análises microbiológicas				
	<i>Salmonella</i> sp./ 25 g	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes termotolerantes (NMP/g)	Bactérias láticas (UFC/mL)	Bolores e leveduras (UFC/mL)
KS1-10	A	< 3	< 3	$4,90 \times 10^7$	$2,08 \times 10^5$
KS1-25	A	< 3	< 3	$2,06 \times 10^8$	$2,88 \times 10^5$
KS2 -10	A	< 3	< 3	$1,67 \times 10^8$	$1,12 \times 10^5$
KS2-25	A	7	< 3	$2,97 \times 10^8$	$6,30 \times 10^4$
KS3-10	A	< 3	< 3	$3,38 \times 10^6$	$4,20 \times 10^5$
KS3-25	A	< 3	< 3	$1,67 \times 10^7$	$2,00 \times 10^5$
KC	A	< 3	< 3	$5,44 \times 10^8$	$3,50 \times 10^4$
*BRASIL (2007) A: ausência; M: valor máximo. KS1-10= kefir com suco de manga a 10%, KS1-25= kefir com suco de manga a 25%; KS2-10= kefir com polpa de pitaya a 10%; KS2-25= kefir com polpa de pitaya a 25%; KS3-10= kefir com suco de caju a 10%; KS3-25= kefir com suco de caju a 25%; KC = kefir puro. *Referência: Instrução Normativa para leites fermentados (BRASIL, 2007)					Bolores e leveduras Leveduras específicas mínimo 10^4

FONTE: elaborada pela autora.

A: ausência; M: valor máximo.

KS1-10= kefir com suco de manga a 10%, KS1-25= kefir com suco de manga a 25%; KS2-10= kefir com polpa de pitaya a 10%; KS2-25= kefir com polpa de pitaya a 25%; KS3-10= kefir com suco de caju a 10%; KS3-25= kefir com suco de caju a 25%; KC = kefir puro.

*Referência: Instrução Normativa para leites fermentados (BRASIL, 2007)

As formulações analisadas apresentaram resultados adequados em termos de inocuidade e caracterização, conforme a legislação específica, sendo então as bebidas consideradas aptas ao consumo. Entretanto a formulação KS3-10 (kefir com suco de caju a 10%) apresentou valores abaixo do mínimo estipulado pela legislação que é de 10^7 UFC/mL. Isso pode ser justificado pela concentração de bactérias encontrava-se já no limite exigido pela legislação, que com a adição de suco, e consequente diluição, reduziu a contagem a um valor inferior. Quanto à análise de bolores e leveduras, não foi identificado o crescimento de bolores, entretanto as leveduras apresentaram características uniformes. As contagens de bactérias láticas apresentaram-se de acordo com o preconizado pela legislação brasileira.

6.2.2 Análises físico-químicas dos kefires saborizados

Os resultados das análises físico-químicas dos kefires saborizados analisados estão descritos na Tabela 7, enquanto a Tabela 8 mostra os parâmetros físico-químicos dos sucos concentrados/polpa utilizados na saborização do kefir.

Tabela 7 – Parâmetros físico-químicos dos kefires saborizados com diferentes concentrações de polpa/suco concentrado de fruta.

Formulações	Parâmetros físico-químicos				
	Acidez (g ác. láctico/100g)	pH	Sólidos solúveis (°Brix)	Lactose (g/ 100 mL)	Diferença de massa do grão (g)
KS1-10	1,26 ^{ab} ± 0,02	4,33 ^{bc} ± 0,15	8,40 ^{abc} ± 0,43	4,24 ^{ab} ± 0,13	8,78 ^a ± 0,10
KS1-25	1,16 ^b ± 0,00	4,16 ^{bc} ± 0,06	8,16 ^c ± 0,31	4,63 ^a ± 0,20	6,78 ^b ± 0,10
KS2-10	1,35 ^a ± 0,00	4,20 ^{bc} ± 0,10	9,06 ^{ab} ± 0,15	3,55 ^{bc} ± 0,11	2,28 ^d ± 0,05
KS2-25	1,30 ^a ± 0,04	4,06 ^c ± 0,06	9,23 ^a ± 0,21	4,23 ^{ab} ± 0,50	2,55 ^d ± 0,02
KS3-10	0,88 ^c ± 0,01	4,43 ^b ± 0,06	7,33 ^{de} ± 0,42	3,91 ^{ab} ± 0,34	2,07 ^d ± 0,46
KS3-25	0,83 ^c ± 0,04	4,23 ^{bc} ± 0,06	6,70 ^d ± 0,10	2,97 ^c ± 0,26	4,66 ^c ± 0,98
KC	0,89 ^c ± 0,02	5,03 ^a ± 0,23	8,26 ^{bc} ± 0,40	3,85 ^{ab} ± 0,40	3,25 ^d ± 0,60

FONTE: Elaborada pela autora.

KS1-10= kefir com suco de manga a 10%, KS1-25= kefir com suco de manga a 25%; KS2-10= kefir com polpa de pitaya a 10%; KS2-25= kefir com polpa de pitaya a 25%; KS3-10= kefir com suco de caju a 10%; KS3-25= kefir com suco de caju a 25%; KC = kefir puro.

*Médias seguidas de letras iguais na coluna indicam que não diferem significativamente entre si, pelo o teste de Tukey (p > 0,05).

Tabela 8 – Médias dos parâmetros físicos químicos dos sucos concentrados/polpa utilizados na saborização do kefir.

Sucos concentrados/Polpa	Parâmetros Físicos químicos		
	Acidez (g ácido cítrico/100g)	pH	Sólidos solúveis (°Brix)
Manga	0,62 ± 0,03	3,57 ± 0,06	8,90 ± 0,10
Pitaya	0,37 ± 0,06	4,17 ± 0,06	11,13 ± 0,32
Caju	0,65 ± 0,13	3,17 ± 0,06	7,13 ± 0,06

FONTE: Elaborada pela autora.

Pôde-se observar que os kefires adicionados de frutas apresentaram elevação na sua acidez, quando comparados ao KC (sem adição de fruta), sendo os kefires saborizados com manga e pitaya (KS1-10; KS1-25; KS2-10 e KS2-25) aqueles com maiores teores de acidez, enquanto o saborizado com caju (KS3-10 E

KS3-25) não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) do controle. Já o aumento da concentração dos sucos/polpa, para todas as frutas avaliadas, não influenciou significativamente ($p > 0,05$) na acidez das bebidas (Tabela 7).

As amostras de kefir saborizado com KS1-10 e KS1-2 apresentaram acidez inferior aos saborizados com a polpa de pitaya (KS2-10 e KS2-25). Entretanto, ao se avaliar os sucos utilizados na elaboração do kefir, verifica-se a polpa de pitaya é a que possui menor acidez (Tabela 8), indicando assim que a menor acidez da bebida com manga é decorrente do próprio processo de fermentação do kefir. Apesar ter sido utilizada a mesma cultura para elaboração de todas as bebidas, as características físico-químicas finais do produto podem ser diferenciadas (MAGALHÃES et al, 2011; BRASIL, 2007).

Os valores de acidez do kefir de caju (KS3-10; KS3-25) e kefir controle (KC) estão dentro dos padrões recomendados pela legislação para kefir, que deve ser menor que 1,0g de ácido láctico/100g, contudo, os demais (KS1-10; KS1-25; KS2-10; KS2-25) estão dentro da margem para leites fermentados, que é até 2,0g de ácido láctico/100g (BRASIL, 2007).

O KC apresentou pH maior e significativamente diferente ($p \leq 0,05$) do que as outras formulações, indicando que a adição das polpas influenciou na diminuição do pH. De uma maneira geral, não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) nos valores de pH entre kefires saborizados, nem entre as diferentes proporções de suco/polpa adicionado para cada sabor estudado. Apenas o KS2-10 e KS2-25 apresentaram relação entre acidez e pH diferente das demais amostras.

Como a saborização ocorreu após a fermentação das bebidas, e por isso a maior parte da lactose presente no leite inicialmente já havia sido consumida pelos microrganismos dos grãos de kefir, os teores de sólidos solúveis (SS) nas bebidas estavam representados principalmente pela lactose remanescente e pelos açúcares e sólidos dos sucos/polpa adicionados.

Os KS2-10 e KS2-25 apresentaram teores maiores de (SS) do que as formulações de KS1-10 e KS1-25, divergindo dos teores de lactose, que foram mais elevados nos kefires de manga, mas corroborando com os valores de SS existentes na polpa utilizada. Os teores de SS presentes nos KS3-10 e KS3-25 são os menores entre as amostras avaliadas. O KC mostrou valores próximos ao do kefir de manga não apresentando diferença significativa entre eles ($p \leq 0,05$).

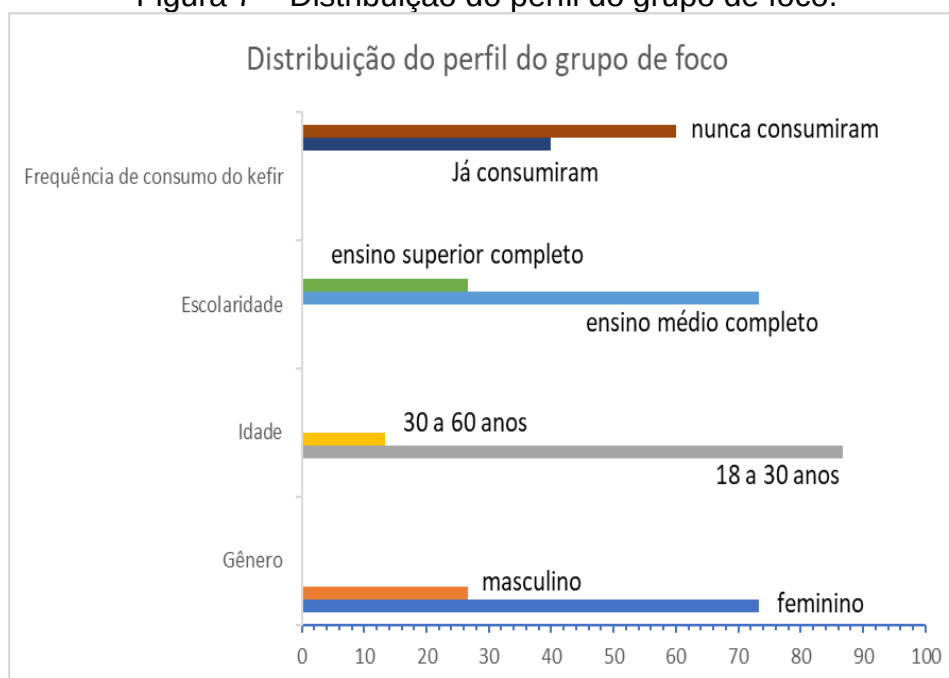
O teor de lactose e a diferença de massa do grão apresentaram variações, mas sem relação com os tipos ou concentrações de sucos adicionados, já que, como citado anteriormente, a fermentação ocorreu antes da adição dos sucos. Entretanto correlacionando-se com o teor de acidez, quanto menor o teor de lactose, menor foi o de acidez.

6.2.3 Análise sensorial dos kefires saborizados

Foram realizadas duas sessões do grupo focal, com as formulações de kefir de manga, pitaya e caju a 10 e 25% (KS1-10; KS1-25; KS2-10; KS2-25; KS3-10 e KS3-25), assim como o kefir puro (KC).

O grupo de foco caracterizou-se por 15 participantes, sendo 11 mulheres e 4 homens. A maioria relatou que não consome kefir com frequência, entretanto 60% já experimentaram, e 40% relataram que nunca consumiram o produto, conforme a Figura 7. Além disso, todos os participantes alegaram consumir produtos derivados do leite, como iogurtes, com frequência.

Figura 7 – Distribuição do perfil do grupo de foco.

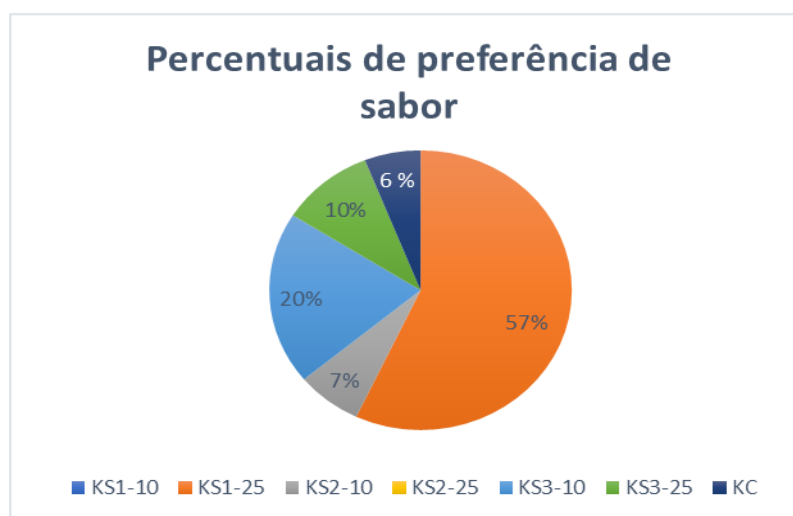


FONTE: Elaborada pela autora.

Quanto aos atributos avaliados relacionados ao sabor e acidez das bebidas, todos os participantes escolheram manga como o sabor mais agradável ao

paladar, e informaram que a amostra de 25% tornou o sabor mais agradável, “mais adocicado”, e que era menos ácida do que a amostra com 10% de suco. A formulação KS1-25 obteve percentual de 57% de aceitação, enquanto as formulações KS1-10 (kefir com 10% de manga) e KS2-25 (kefir com 25% de pitaya) não foram citadas pelo grupo de foco (Figura 8).

Figura 8 – Aceitação dos kefirs saborizados quanto ao sabor.



FONTE: Elaborada pela autora.

As amostras contendo pitaya foram consideradas “não muito agradáveis” nas concentrações apresentadas. Foi relatado que elas deixaram um sabor residual forte, eram bastante ácidas e não agradaram em termos de sabor da fruta. As amostras de caju e controle apresentaram uma boa aceitabilidade, entretanto não se sobressaíram em relação às amostras de manga. O percentual de cada resposta está descrito na Figura 8.

Nogueira et al. (2016) avaliaram a aceitabilidade sensorial do kefir com duas concentrações distintas de polpa de açaí (30% e 70%), e verificaram que a concentração mais elevada de polpa também resultou em valores superiores de aceitação. Araújo et al. (2017), ao avaliar kefir adicionado de polpa de goiaba, obtiveram melhores resultados em formulações com maiores porcentagens da polpa em relação ao kefir natural.

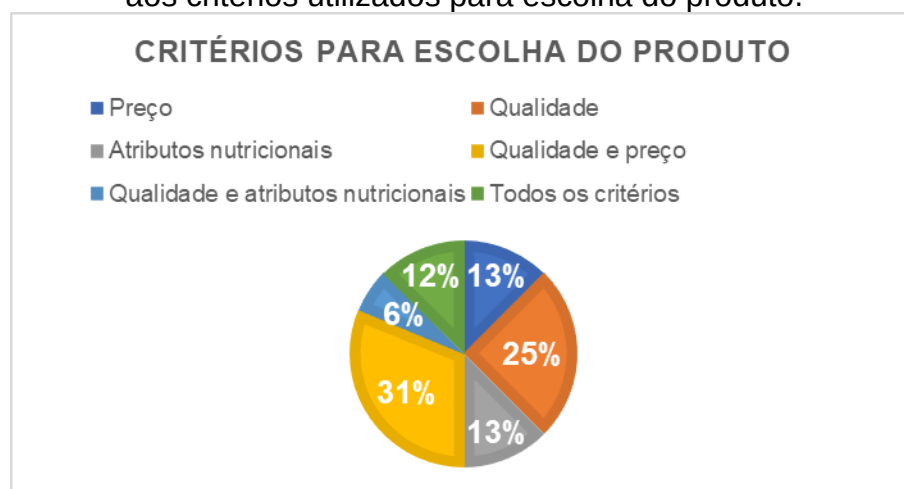
Dentre os participantes, 73,3% comentaram que preferiam, em todos os sabores, acréscimo de açúcar na sua formulação, pelo fato de o kefir ser uma bebida ácida, que adicionada da acidez da fruta, teve essa variável intensificada,

não agradando ao paladar. Entretanto, a amostra que apresentou melhor aceitação foi uma das que tiveram um maior teor de suco adicionado, mesmo sem adição de açúcares, tornando uma bebida com maior palatabilidade, sem a introdução de adoçantes, e com isso, mais saudável.

Semeniuc et al. (2015), ao avaliar a aceitação de kefir adicionado de xarope de pinheiro em diferentes concentrações, também obtiveram maior aceitabilidade em kefires com maior nível de xarope.

Dentre os aspectos relacionados à compra do produto, foram avaliados preço, qualidade e atributos nutricionais. O preço e a qualidade foram citados com frequência, sendo dito que “não adiantava ter preço sem qualidade”, e que atributos nutricionais se tornam importantes nos dias atuais para o bem-estar e saúde. Os percentuais para cada critério estão descritos na Figura 9.

Figura 9 – Frequência das respostas dos provadores quanto aos critérios utilizados para escolha do produto.



FONTE: Elaborada pela autora.

Dluzniewski, Gonçalves e Copetti (2014) analisaram o perfil de compra e consumo de iogurtes funcionais, e dentre os itens citados em relação aos critérios de compra, qualidade, preço e marca foram os mais citados entre os entrevistados pelo grupo focal.

Com isso é possível verificar que a incorporação de sabores e frutas de fácil acesso, baixo custo e qualidade no processamento foram os comentários mais citados nessa pesquisa, por isso devem ser relevantes na elaboração de um produto.

Assim pôde-se constatar que o kefir saborizado com suco concentrado de manga a 25%, com 57% de aceitação, foi o mais aceito conforme as respostas obtidas na realização do grupo de foco, e, portanto, foi a formulação a ser utilizada nas etapas seguintes.

6.3 Bebidas Fermentadas Saborizadas

6.3.1 Análises microbiológicas das bebidas fermentadas saborizadas

Pode-se observar que as análises microbiológicas das bebidas fermentadas de kefir saborizadas com suco de manga (B1; B2; B3 e BC) se apresentaram dentro dos padrões de inocuidade e com valores de bactérias lácticas e bolores e leveduras dentro do preconizado pela legislação.

Além disso, os melhores valores de bactérias lácticas encontrados foram na formulação BC, sem adição de suco de fruta. Os menores valores estavam na formulação B3, elaborada com soro de leite e adição de suco de fruta (Tabela 9).

Tabela 9 – Análises microbiológicas das bebidas fermentadas com kefir e suco de manga.

Amostras	Análises microbiológicas				
	<i>Salmonella</i> sp./ 25 g	Coliformes totais (NMP/g)	Coliformes termotolerantes (NMP/g)	Bactérias lácticas (UFC/g)	Bolores e leveduras (UFC/g)
B1	A	< 3	< 3	$3,17 \times 10^8$	$1,46 \times 10^5$
B2	A	< 3	< 3	$3,83 \times 10^8$	$1,57 \times 10^5$
B3	A	< 3	< 3	$9,48 \times 10^6$	$2,55 \times 10^4$
BC	A	< 3	< 3	$6,80 \times 10^8$	$5,51 \times 10^6$
	A	Máximo: 100	Máximo:10	Mínimo: 10^7	Bolores e leveduras
*BRASIL (2007)					Leveduras específicas mínimo 10^4

FONTE: elaborada pela autora.

A: ausência; B1= Bebida fermentada de kefir com adição de fruta após a fermentação; B2= Bebida fermentada de kefir com adição de fruta antes da fermentação; B3= Bebida fermentada de soro de queijo e kefir adicionada de fruta; BC= Kefir sem adição de fruta.

*Referência: Instrução Normativa para leites fermentados (BRASIL, 2007)

6.3.2 Análises físico-químicas das bebidas fermentadas saborizadas

Na Tabela 10 estão expressos os valores das médias dos resultados das análises físico-químicas das quatro formulações das bebidas fermentadas saborizadas com suco de manga.

Tabela 10 – Análises físico-químicas das bebidas fermentadas saborizadas com suco de manga.

Formulações	Parâmetros físico-químicos					
	Acidez (g ác. Lático/100g)	pH	Sólidos solúveis (°Brix)	Lactose (g/ 100ml)	Diferença de massa do grão (g)	Viscosidade (cP)
B1	1,01 ^b ± 0,01	4,33 ^a ± 0,03	7,47 ^b ± 0,06	4,24 ^b ± 0,43	2,64 ^a ± 0,62	907,93 ^a ± 16,40
B2	0,99 ^b ± 0,01	4,37 ^a ± 0,03	7,33 ^b ± 0,13	4,15 ^b ± 0,27	0,31 ^b ± 0,36	284,76 ^c ± 3,52
B3	0,83 ^c ± 0,01	4,63 ^a ± 0,09	11,83 ^a ± 0,09	6,40 ^a ± 0,07	0,07 ^b ± 0,13	115,33 ^d ± 2,89
BC	1,23 ^a ± 0,03	4,37 ^a ± 0,12	7,40 ^b ± 0,12	4,39 ^b ± 0,08	2,64 ^a ± 0,47	831,60 ^b ± 2,60

FONTE: elaborada pela autora

B1= Bebida fermentada de kefir com adição de fruta após a fermentação; B2= Bebida fermentada de kefir com adição de fruta antes da fermentação; B3= Bebida fermentada de soro de queijo e kefir adicionada de fruta; BC= Kefir sem adição de fruta.

*Médias seguidas de letras iguais na coluna indicam que não diferem significativamente entre si, pelo o teste de Tukey ($p > 0,05$).

É importante destacar que, pela forma de preparo, apenas a bebida BC é denominada kefir natural pela legislação (BRASIL, 2007), entretanto todas elas se enquadram como leites fermentados.

Pôde-se observar que houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as formulações quanto aos parâmetros acidez, sólidos solúveis, lactose, massa dos grãos e viscosidade. O pH não apresentou diferença significativa entre as formulações (Tabela 10).

Segundo Kurmann (1977), o pH ideal para leites fermentados deve ser próximo a 4,5, pois valores inferiores podem levar à rejeição por parte dos consumidores e favorecer a contração do coágulo, devido à redução da hidratação das proteínas, causando dessoramento e valores de pH acima de 4,6 favorecem a separação do soro, devido à má formação do gel.

A adição de frutas influenciou a acidez independente da forma de elaboração, isso foi válido para as formulações B1, B2 e B3, com isso pode-se perceber que a inserção da fruta antes ou após a fermentação não alterou as características de acidez da bebida. A acidez da BC apresentou-se acima do valor preconizado pela legislação. Pôde-se notar também que a bebida B3 elaborada com soro de queijo apresentou acidez mais baixa entre todas, podendo ser explicado pela utilização do soro do queijo (Tabela 10). Caldeira et al., (2010) ao desenvolver bebidas lácteas obteve diminuição da acidez da bebida à medida que se elevaram os níveis de soro de queijo utilizado.

Os teores de sólidos solúveis diferiram significativamente apenas para a bebida B3 (11,83 °Brix). Esse valor mais elevado pode ser justificado pelo fato de o processo de fermentação pelos microrganismos do kefir nessa bebida ter sido incompleto, uma vez que um substrato diferente (soro de leite) foi utilizado. O principal substrato das bactérias pertencentes ao kefir é a lactose, que contribui com a concentração de SS, entretanto é importante enfatizar que no preparo dessa formulação (B3) o soro de queijo em pó foi reconstituído ao um teor de SS equivalente ao do leite, sendo acrescentado também leite em pó, como nas demais preparações. Houve crescimento de bactérias lácticas (Tabela 9), entretanto os parâmetros como SS e teor de lactose não apresentaram características semelhantes às demais.

Outro indício da fermentação incompleta na formulação B3 é o seu elevado teor de lactose, com diferença significativa ($p \leq 0,05$) das outras formulações (Tabela 10).

Verificou-se menor crescimento dos grãos de kefir, com diferença significativa ($p \leq 0,05$), nas bebidas B2 e B3, o que é atribuído à modificação do leite, que é o substrato comum dos microrganismos dos grãos de kefir, pela adição de suco de fruta antes do processo de fermentação (B2) e pela substituição pelo soro de queijo (B3) (Tabela 10).

Nogueira et al. (2016), ao avaliarem kefir adicionado de polpa de açaí em diferentes concentrações antes da fermentação, obteve um melhor desenvolvimento de grãos em amostras com uma quantidade de leite maior, pois nesse caso os grãos se adaptaram a polpa. Magalhães et al. (2011) também encontraram variações ao utilizar soro de queijo em suas formulações, em que observou-se menor utilização

de lactose em comparação ao kefir tradicional, entretanto, com níveis de ácido láctico, ácido acético e pH dentro dos padrões.

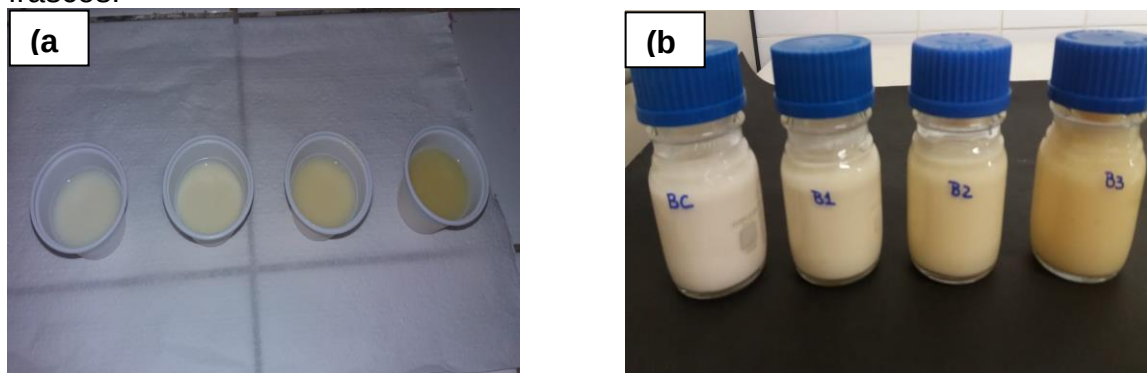
Todas as formulações apresentaram diferença entre si quanto à viscosidade, sendo BC e B1 as com maiores valores, enquanto B3 a com menor valor (115,33 cP) (Tabela 10). A utilização do soro de queijo fez com que houvesse declínio alto na viscosidade, o que pode ser negativo sensorialmente. Caldeira et al. (2010), ao desenvolver bebida láctea com níveis diferentes de iogurtes e soro de queijo obteve perfis negativos em relação à viscosidade à medida que aumentou o teor de soro de queijo.

A viscosidade e a textura apresentam função primordial na qualidade do produto e com isso podem aumentar sua aceitação pelo consumidor. Para se aumentar a viscosidade do produto, a prática utilizada nas indústrias é o aumento do teor de sólidos pela adição de leite, ou soro de leite, em pó, diminuindo assim a sinérese e aumentando a aceitabilidade do iogurte (MATIAS et al., 2013), ou seja, produtos que apresentem viscosidade elevada apresentam uma maior aceitação e ficam visualmente mais apresentáveis.

Com isso, a bebida B3 (bebida com soro de leite) apresentou resultados negativos, principalmente em relação a viscosidade, por ser uma bebida aquosa e ser meio não propício ao crescimento do grão.

As formulações elaboradas estão ilustradas na Figura 10.

Figura 10 – Formulações das bebidas fermentadas com kefir: (a) Visualização superior da esquerda para direita: BC, B1, B2 e B3; (b) Visualização em frascos.



FONTE: Elaborada pela autora.

Pôde-se observar ainda que a bebida B3 destacou-se por apresentar coloração mais próxima ao do suco utilizado, diferindo das demais. Além disso, foi

nítida a separação de fases na bebida B3 após alguns minutos em repouso, apresentando viscosidade semelhante a de sucos, sem consistência semelhante a de leites fermentados, diferente das demais formulações (Figura 10a).

6.3.3 Composição centesimal das bebidas fermentadas saborizadas

A Tabela 11 expõe a composição das quatro formulações de bebidas fermentadas. Quase todos os parâmetros apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as amostras, apenas o teor de cinzas não apresentou diferença.

Tabela 11 – Composição centesimal das bebidas fermentadas saborizadas.

Formulações	Composição Centesimal						
	Umidade (%)	Cinzas (%)	Sólidos totais (%)	Proteínas (%)	Lipídios (%)	Carboidratos (%) *	VET (kcal/100g)
B1	89,03 ^{ab} ± 0,11	0,68 ^a ± 0,08	10,97 ^{ab} ± 0,11	2,29 ^b ± 0,18	1,83 ^a ± 0,58	6,16	50,32
B2	89,20 ^a ± 0,50	0,70 ^a ± 0,02	10,79 ^b ± 0,50	2,56 ^b ± 0,37	0,83 ^b ± 0,29	6,70	44,56
B3	88,04 ^{ab} ± 0,64	0,68 ^a ± 0,10	11,96 ^{ab} ± 0,64	2,41 ^b ± 0,37	0,66 ^b ± 0,29	8,20	48,45
BC	87,99 ^b ± 0,38	0,83 ^a ± 0,07	12,01 ^a ± 0,38	4,28 ^a ± 0,31	2,33 ^a ± 0,29	4,58	56,41

FONTE: elaborada pela autora.

* Valor obtido por diferença ao utilizar o cálculo: $CT = 100 - (P + L + U + C)$. CT – Carboidratos totais; P – Proteínas; L – Lipídeos; U – Umidade; C – Cinzas.

*VET: Valor Energético Total.

B1= Bebida fermentada de kefir com adição de fruta após a fermentação; B2= Bebida fermentada de kefir com adição de fruta antes da fermentação; B3= Bebida fermentada de soro de queijo e kefir adicionada de fruta; BC= Kefir sem adição de fruta.

*Médias seguidas de letras iguais na coluna indicam que não diferem significativamente entre si quanto aos parâmetros de composição centesimal entre as formulações pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Os teores de umidade variaram de 87,99% a 89,20%, entretanto as bebidas B1 e B3 não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$), mesmo tendo sido preparadas de formas diferentes e com diferentes substratos (Tabela 11). O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) de leites fermentados, não estabelece padrões para umidade (BRASIL, 2007). Todavia, bebidas lácteas apresentam teores de umidade elevados, conforme observado por Weschenfelder et al. (2015), que ao analisar leite fermentado kefir também encontraram cerca de 88% de umidade nesse tipo de bebida, corroborando com o presente estudo.

Leite et al. (2016), ao elaborar leite fermentado adicionado de mel, também verificaram em suas formulações valores variando entre 88,44% a 78,31%.

Essa redução citada na porcentagem foi em decorrência do tempo de armazenamento do leite fermentado já pronto.

Os teores de cinzas não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$), variando de 0,70% a 0,83% (Tabela 11). Weschenfelder et al. (2015) mostraram em seu estudo valores em torno de 0,9%, e Boêno et al., (2015), ao avaliarem a composição nutricional de bebidas lácteas fermentadas adicionadas de extrato de arroz vermelho, obtiveram teores de cinzas menores, em torno de 0,58 g/100g a 0,47g/100g.

Os teores de sólidos totais variaram de 10,76% a 12,01%. Apesar dos valores próximos entre as amostras, a diferença foi significativa (Tabela 11). Contudo, Boêno et al. (2015) quantificaram valores maiores de sólidos totais em sua bebida láctea fermentada, variando de 20,66g/100g a 22,65g/100g.

As bebidas fermentadas apresentaram conteúdo de proteína variando de 2,29% a 4,28%, sendo a bebida BC a que apresentou o maior teor de proteínas e a única que apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) (Tabela 11). Esses resultados mostram que as bebidas que foram saborizadas ficaram mais diluídas, e com isso seus teores proteicos foram reduzidos. O regulamento técnico (BRASIL, 2007) estabelece o teor mínimo de 2,9% de proteínas em leites fermentados, entretanto, bebidas que são adicionadas de sabores como frutas ou açúcar podem conter concentrações menores de proteína, todavia não ultrapassando a proporção de 30% de substâncias lácteas não-alimentícias. Diante disso, as formulações apresentam-se dentro da legislação, já que houve adição de apenas de 25% de suco de fruta.

Em relação ao teor de lipídios, as bebidas BC e B1 apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) das bebidas B2 e B3 (Tabela 11). A variação de lipídios foi de 0,66% (B3) até 2,33% (BC), sendo assim classificadas como bebidas parcialmente desnatadas, tendo em vista que esses valores estão dentro do preconizado pela legislação quanto a classificação de bebidas parcialmente desnatadas (0,6 a 2,9%) (BRASIL, 2007). Weschenfelder et al. (2015) encontraram teores de 2,6% no teor de lipídios nos kefires formulados, enquanto Terra (2007) obteve 3,2% em seu experimento.

Assim pode-se perceber que a utilização da saborização do kefir influenciou o nível de lipídios e proteínas nas formulações elaboradas, diminuindo esses teores tanto para lipídios, quanto para proteína.

Em relação aos carboidratos, as bebidas B1 e B2 não apresentaram diferença significativa ($p \geq 0,05$), entretanto BC e B3 houve diferença ($p \leq 0,05$) (Tabela 11). A bebida BC mostrou o menor valor (4,58%), o que pode ser reflexo da não adição de suco de fruta (predominantemente rica em carboidratos), e com isso diferindo das bebidas com acréscimo de suco. A bebida B3 apresentou o valor mais elevado (8,20%), correlacionando-se com valores de sólidos solúveis e lactose encontrados Tabela 9, em que foram encontrados os maiores valores entre as formulações. Santos (2013), ao elaborar kefires saborizados, também encontrou concentrações maiores de carboidratos em amostras que continham porcentagem maiores de fruta em suas formulações.

O valor energético total (VET) foi expresso em kcal/100g, calculado com base nos teores de carboidratos, proteínas e lipídios das formulações. Pode-se notar que as bebidas apresentaram valor calórico baixo, inferior a 100kcal/100g, tornando-se uma opção saudável, funcional e de baixa caloria.

Entre os resultados, houve variação de 44,56kcal/100g (B2) a 56,41kcal/100g (BC), correlacionando-se com o teor de sólidos solúveis totais encontrados, que foi maior também na bebida BC, sendo está a única bebida que não houve adição de suco de fruta. Santos (2013) obteve valor calórico em torno de 100,07kcal/100g, com redução a até 73,32kcal/100g à medida que foram adicionadas frutas às formulações.

Assim pode-se perceber que apesar da diferença significativa entre algumas formulações, não houve diferenças bruscas no valor energético total, e que o modo de preparo e acréscimo de substâncias influenciaram nos teores de nutrientes como esperado, tornando-se bebidas com valores proteicos diferenciados, bem como com teores diferenciados de gordura, podendo cada uma atingir um público diferente. Em relação ao VET todas as bebidas apresentaram valores próximos, havendo variações pequenas entre elas.

6.3.4 Sensorial das bebidas fermentadas saborizadas

6.3.4.1 Caracterização dos provadores

Participaram dos testes 120 provadores, dos quais 70% foram do sexo feminino e os outros 30% do sexo masculino, tendo a sua maioria até 25 anos de

idade (84,17%). Os outros 15,83% apresentaram faixa etária entre 26 a 45 anos. Quanto à escolaridade, a maioria (60%) apresentava-se dentro da faixa de ensino superior incompleto, 6,67% de pós-graduandos e 33,33% de ensino médio.

6.3.4.2 Testes Sensoriais

Foram utilizados na análise sensorial das bebidas fermentadas as formulações BC (kefir sem adição de fruta); B1 (bebida fermentada com adição do suco de manga após a fermentação); B2 (bebida fermentada com adição do suco de manga antes da fermentação); B3 (bebida fermentada com soro de leite e suco de manga). A escolha do sabor e a elaboração das formulações ocorreram após o teste de grupo focal, utilizando-se 25% do suco concentrado de manga nas formulações B1; B2 e B3.

Observou-se que a forma de preparo das bebidas influenciou estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo teste de *Tukey* em todos os atributos avaliados. As formulações apresentaram variações de escores 7 (gostei moderadamente) até 3 (desgostei moderadamente), sendo a bebida B3 (com soro de leite) a que obteve as menores médias em todos os atributos. A bebida B1 deteve os melhores valores apresentados, apenas o atributo sabor obteve uma média menor (Tabela 12), entretanto obteve valor maior que a BC.

Tabela 12 – Valores hedônicos (média $\pm$ desvio padrão) atribuídos pelos avaliadores para aceitação sensorial das formulações das bebidas fermentadas de kefir saborizadas com suco de manga.

Atributos	Formulações			
	BC	B1	B2	B3
Impressão global	6,08 ^{ab} $\pm$ 2,15	6,37 ^a $\pm$ 1,96	5,66 ^b $\pm$ 2,09	4,56 ^c $\pm$ 2,11
Aparência	7,11 ^a $\pm$ 1,65	7,06 ^a $\pm$ 1,58	6,42 ^b $\pm$ 1,89	4,56 ^c $\pm$ 2,04
Aroma	5,91 ^b $\pm$ 2,06	6,76 ^a $\pm$ 1,79	6,26 ^{ab} $\pm$ 2,08	5,84 ^b $\pm$ 2,08
Textura	6,47 ^a $\pm$ 1,88	6,65 ^a $\pm$ 2,03	5,75 ^b $\pm$ 2,08	4,71 ^c $\pm$ 1,96
Sabor	4,46 ^c $\pm$ 2,27	5,30 ^a $\pm$ 2,43	4,70 ^{ab} $\pm$ 2,32	3,72 ^c $\pm$ 2,18

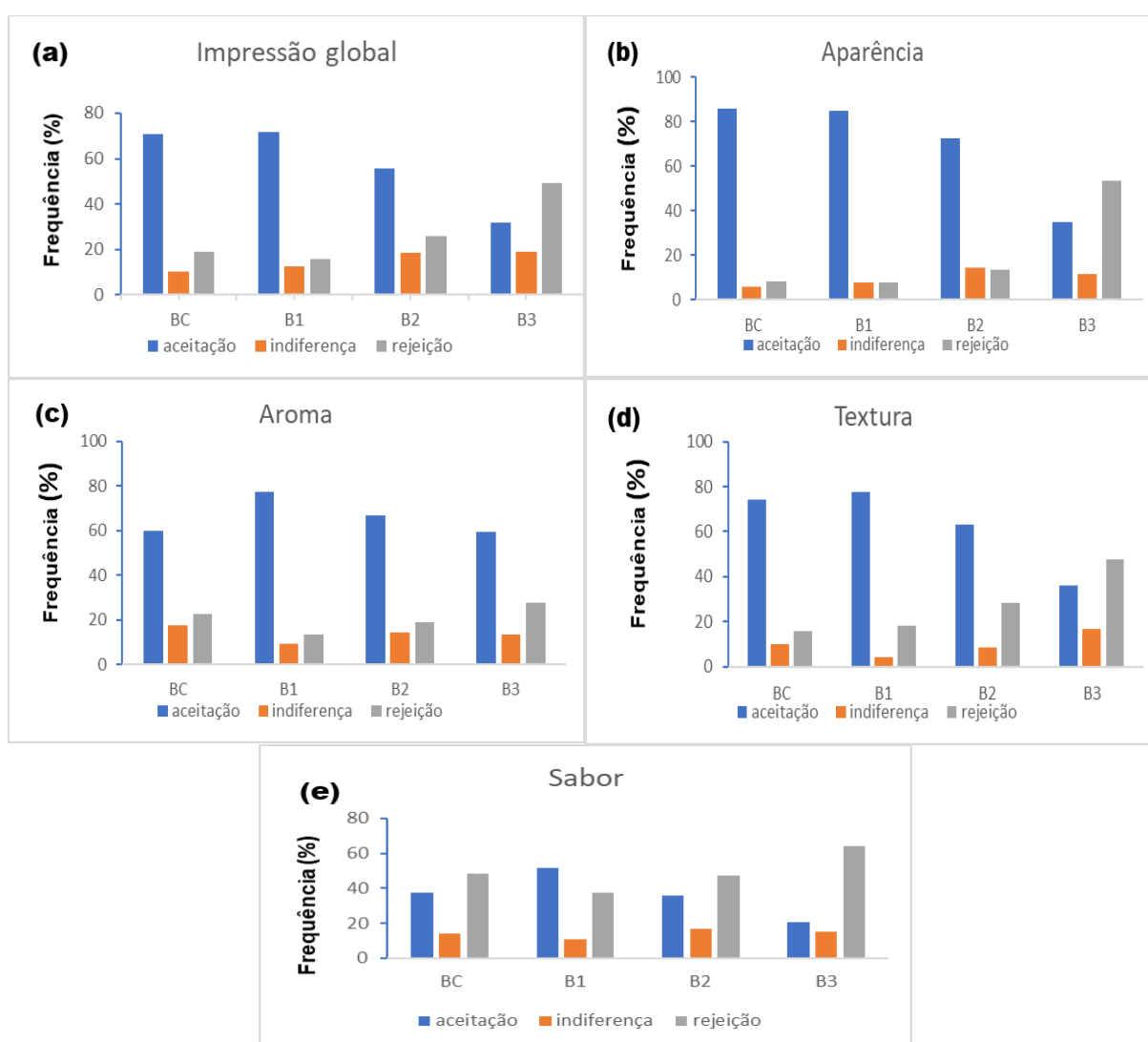
FONTE: elaborada pela autora.

BC= Kefir sem adição de fruta; B1= Bebida fermentada de kefir com adição de fruta após a fermentação; B2= Bebida fermentada de kefir com adição de fruta antes da fermentação; B3= Bebida fermentada de soro de queijo e kefir adicionada de fruta;

*Médias seguidas de letras iguais nas linhas indicam que não diferem significativamente entre si quanto aos valores hedônicos entre as formulações realizadas, pelo o teste de *Tukey* ($p > 0,05$).

A frequência hedônica também foi avaliada, sendo considerados os escores 9 (gostei muitíssimo), 8 (gostei muito), 7 (gostei moderadamente) e 6 (gostei ligeiramente) como faixa de aceitação; 5 (nem gostei, nem desgostei) como faixa de indiferença; e 4 (desgostei ligeiramente), 3 (desgostei moderadamente) e 2 (desgostei muito) e 1 (desgostei muitíssimo) como faixa de rejeição (Figura 11).

Figura 11 – Percentuais de provadores por faixas de respostas sensoriais das quatro formulações das bebidas fermentadas de kefir saborizadas com suco de manga avaliadas na análise sensorial: (a) Impressão global, (b) Aparência, (c) Aroma, (d) Textura, (e) Sabor.



FONTE: Elaborada pela autora

BC= Kefir sem adição de fruta; B1= Bebida fermentada de kefir com adição de fruta após a fermentação; B2= Bebida fermentada de kefir com adição de fruta antes da fermentação; B3= Bebida fermentada de soro de queijo e kefir adicionada de fruta;

Pôde-se observar que as formulações elaboradas se apresentaram em sua maioria dentro da faixa de aceitação sensorial em todos os atributos avaliados.

A formulação B1 obteve as melhores frequências em todos os atributos, com 71,67% para impressão global (Figura 11a), 85% para aparência (Figura 11b), 77,5% para aroma (Figura 11c), para textura (Figura 11d) e 51,67% para sabor (Figura 11e).

A Tabela 13 expõe os índices de aceitabilidade das quatro formulações avaliadas sensorialmente.

Tabela 13 – Índice de Aceitabilidade (IA) das quatro formulações de bebidas fermentadas de kefir saborizado com suco de manga avaliadas na análise sensorial.

Formulações	Índice de Aceitabilidade das bebidas fermentadas (%)				
	Impressão global	Sabor	Aroma	Textura	Aparência
BC	77,78	55,56	66,67	77,78	88,89
B1	77,78	66,67	77,78	77,78	77,78
B2	66,67	55,56	77,78	66,67	77,78
B3	55,56	33,33	66,67	55,56	44,44

FONTE: Elaborada pela autora.

BC= Kefir sem adição de fruta; B1= Bebida fermentada de kefir com adição de fruta após a fermentação; B2= Bebida fermentada de kefir com adição de fruta antes da fermentação; B3= Bebida fermentada de soro de queijo e kefir adicionada de fruta;

Pode-se notar que as formulações BC e B1 apresentaram os maiores percentuais de aceitabilidade, apresentando valores abaixo de 70% apenas o atributo sabor. Teixeira, Meinert e Barbeta (1987) e Dutcosky (2013) afirmam que para que um produto desenvolvido possa ser considerado como aceito quanto às suas características sensoriais é necessário que este apresente um Índice de Aceitabilidade (IA) igual ou superior a 70%. Entretanto as amostras B2 obteve aspectos positivos em seu aroma e aparência, enquanto a B3 não obteve resultados satisfatórios em nenhum dos atributos avaliados. Assim a formulação B1 apresentou os melhores percentuais em termos de aceitabilidade.

Em termos de intenção de compra, a formulação B3 apresentou escore mais elevado, ou seja, menor intenção de compra, além disso, com diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ($p > 0,05$) após comparação de médias entre as quatro formulações de bebida fermentada (Tabela 14).

Tabela 14 – Intenção de compra (média $\pm$ desvio padrão) das formulações de bebidas fermentadas de kefir saborizadas com suco de manga avaliadas na análise sensorial.

Formulações	Média e desvio padrão
BC	3,26 ^b $\pm$ 1,16
B1	2,95 ^b $\pm$ 1,29
B2	3,09 ^b $\pm$ 1,25
B3	3,92 ^a $\pm$ 1,18

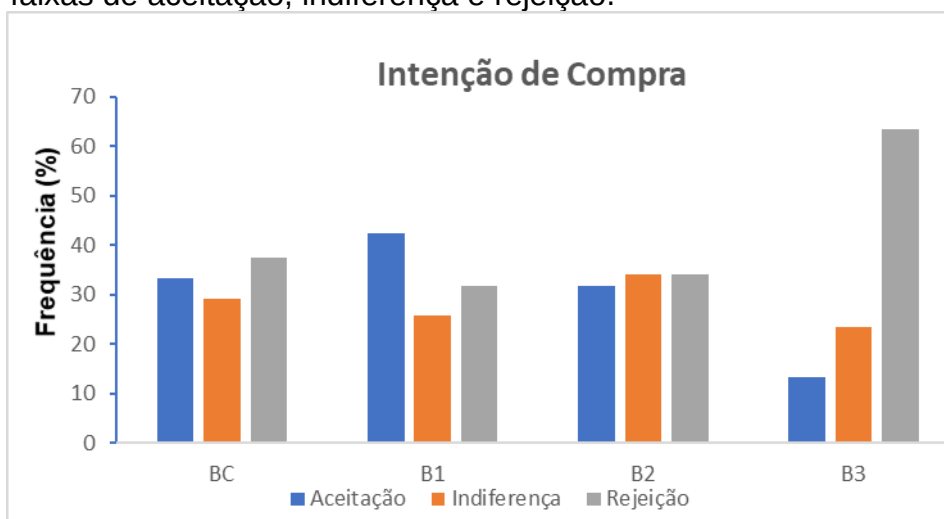
FONTE: elaborada pela autora

BC= Kefir sem adição de fruta; B1= Bebida fermentada de kefir com adição de fruta após a fermentação; B2= Bebida fermentada de kefir com adição de fruta antes da fermentação; B3= Bebida fermentada de soro de queijo e kefir adicionada de fruta;

*Médias seguidas de letras iguais nas colunas indicam que não diferem significativamente entre si, pelo o teste de Tukey ($p > 0,05$).

Em observação à frequência de intenção de compra das bebidas fermentadas, estas foram classificadas também por faixas de aceitação, indiferença e rejeição, sendo (1) certamente compraria e (2) provavelmente compraria como faixa de aceitação; (3) tenho dúvidas como indiferença e (4) provavelmente não compraria e (5) certamente não compraria como faixa de rejeição.

Figura 12 – Frequência da Intenção de compra das bebidas fermentadas de kefir saborizadas com suco de manga entre as faixas de aceitação, indiferença e rejeição.



FONTE: Elaborada pela autora.

B1= Bebida fermentada de kefir com adição de fruta após a fermentação; B2= Bebida fermentada de kefir com adição de fruta antes da fermentação; B3= Bebida fermentada de soro de queijo e kefir adicionada de fruta; BC= Kefir sem adição de fruta.

No aspecto intenção de compra, é possível identificar que a formulação B1 foi a única que apresentou aceitação maior que rejeição, salientando que a bebida BC, obteve 37,50% de rejeição e B3 com 63,34% de rejeição, sendo está a mais rejeitada (Figura 12).

O teste de ordenação preferência teve como objetivo determinar a ordem de preferência entre as formulações elaboradas. A diferença mínima entre os totais de ordenação para estabelecer diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$) de preferência entre quatro formulações avaliadas por 120 avaliados é de 40 pontos, segundo disposto na tabela de Christensen (DUTCOSKY, 2013).

Após o somatório das diferenças dos totais obtidos em cada formulação, pode-se constatar que houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre quase todas as formulações, não havendo diferença apenas entre as formulações BC e B2 (Tabela 14), assim não havendo preferência significativa, ou seja, as duas amostras foram igualmente preferidas.

A diferença entre as amostras pode ser observada principalmente na amostra B1 e B3, entretanto B1 obteve a melhor colocação entre as formulações conforme expresso na Tabela 15.

Tabela 15 – Somatórios dos escores obtidos pelo teste de ordenação-preferência das quatro formulações de bebidas fermentadas de kefir saborizado com suco de manga.

Amostras	BC	B1	B2	B3	Totais dos somatórios de ordenação	Diferença entre os totais de ordenação
BC	-	47*	5 ^{ns}	134*	323	BC – B1 ^a = 47
B1		-	52*	181*	370	BC ^b - B2 ^b = 5
B2			-	129*	318	BC - B3 ^c = 184
B3				-	189	B1 - B2 = 52 B1 - B3 = 181 B2- B3 =129

*Diferença crítica significativa ($p \leq 0,05$) = mínimo de 40, para quatro amostras e 120 provadores, segundo (CHRISTENSEN et al., 2006). ns – não significativo.

* Bebidas foram classificadas em ordem crescente da menos preferida (1) para a mais preferida (4).

É importante salientar que a diferença significativa entre as formulações configura que o modo de preparo e a mudanças de ingredientes básicos mudaram

características importantes da bebida como aroma, sabor, textura, entre outros atributos que foram observados pelos avaliadores e que influenciaram na intenção de compra e percepção destes.

Dentre os comentários preenchidos nas fichas de avaliação os avaliadores relataram que a amostra B3 era “muito fina” e ácida, correlacionando-se com os resultados obtidos de viscosidade, cujos valores nesta bebida foram baixos (Tabela 10). Entretanto no parâmetro acidez, a bebida considerada pelos provadores mais ácida não corrobora com os dados de acidez encontrados nas análises físico-químicas. Muitos ainda alegaram que preferem bebidas mais adocicadas, o que pode estar associado aos índices de aceitabilidade observados (Tabela 14). Nada específico foi relatado em relação ao aroma, apenas que todas as bebidas apresentavam aromas semelhantes.

Nogueira et al. (2016) mostrou em seu estudo sobre kefir fermentado com polpa de açaí que todas as formulações obtiveram valores de atributos médios dentro da faixa aceitável (acima de 5.0), mas as amostras com uma maior quantidade de polpa foram as mais aceitas.

Além disso, Araújo et al. (2017) ressaltam que médias baixas obtidas em intenção de compra estão associadas ao fato de o kefir não ser um produto muito consumido pela população brasileira, e que incorporação primeiramente da fruta seria uma forma de aumentar sua aceitabilidade.

7 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, foi possível elaborar kefir e identificar as condições de temperatura e tempo mais propício para a fermentação, que foi de 25°C no em 24h.

Em relação a análises microbiológicas dos testes preliminares foi identificado um crescimento adequado de bactérias lácticas em todas as amostras, mas a faixa de 25°C em 24h apresentou os melhores resultados. Nas análises físico-químicas as variáveis de acidez, pH e diferença de massa dos grãos também apresentaram melhores resultados na temperatura de 25°C.

Os kefires saborizados de manga, pitaya e caju, assim como o controle, foram elaborados, obtendo resultados satisfatórios de inocuidade microbiológica.

Os parâmetros microbiológicos dos kefires saborizados de manga, pitaya e caju apresentaram valores dentro da faixa recomendada, mesmo com adição de sucos e polpa. Quanto aos parâmetros físico-químicos, a acidez dos kefires aumentou com a adição da fruta, mas permaneceu dentro da faixa estabelecida para leites fermentados. Com isso, adição de suco ou polpa de frutas nas concentrações testadas não descaracterizaram o produto.

As análises de grupo de foco com os kefires de manga, caju e pitaya indicaram maior aprovação da amostra com 25% de suco concentrado de manga.

Sobre os parâmetros físico-químicos das diferentes bebidas fermentadas de kefir, pôde-se observar que a acidez e pH não foram influenciados pela forma de preparo das bebidas, entretanto a formulação contendo soro de queijo teve parâmetros como sólidos solúveis, lactose, diferença de massa do grão e viscosidade da bebida influenciados.

As bebidas fermentadas de kefir que tiveram adição de fruta apresentaram diferenças em compostos como proteínas e lipídios, entretanto sem grandes diferenças no valor energético total.

O índice de aceitabilidade mostrou que as amostras de kefir sem adição de suco (BC) e de kefir com adição de suco após a fermentação (B1) apresentaram uma boa aceitabilidade quanto aos atributos sensoriais, com percentual menor que 70% apenas no atributo sabor, provavelmente devido à não adição de açúcar. A amostra com soro de leite (B3) que obteve maior rejeição.

Em relação à forma de preparo das bebidas, a saborização teve influência positiva no índice de aceitabilidade, principalmente no sabor e aroma, entretanto a utilização do soro de leite impossibilitou um total processo de fermentação, impedindo a obtenção da viscosidade considerada ideal para a bebida kefir.

Possivelmente o desconhecimento e o pouco consumo desse produto pela população brasileira resultaram em aversão ao sabor em quase todas as formulações, o que pode ser melhorado com a utilização de adoçantes que possam tornar a bebida mais adocicada. Outras formas de melhorar o sabor, viabilizando a introdução do kefir na alimentação para aproveitar seus benefícios à saúde, é adicionar frutas com menor teor de acidez, ou utilizá-lo em outros tipos de preparações que possam mascarar sua característica de acidez.

REFERÊNCIAS

AHMED, Z.; WANG, Y.; AHMAD, A.; KHAN, S. T.; NISA, M.; AHMAD, H.; AFREEN, A. Kefir and Health: a contemporary perspective. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, n. 5, p. 422- 434, 2015.

AL-MUZAFAR, H., AMIN, K. Efficacy of functional foods mixture in improving hypercholesterolemia, inflammatory and endothelial dysfunction biomarkers-induced by high cholesterol diet. **Journal Lipids in Health and Disease**. v. 16, n. 1, p. 1-10, 2017.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. APHA Committee on Microbiological Methods for Foods. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington, 2001. 676 p.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists**. 18 ed. Gaithersburg: Maryland, 2005. 771 p.

ARAÚJO, N. G.; SILVA, J. B.; BARBOSA, I. M.; MACEDO, C. S. Influência da concentração de polpa de goiaba na aceitação de fermentado de kefir. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 72, n. 4, p. 184-191, 2017.

ATWATER, W.O. **Principles of nutrition and nutritive value of food materials**.1. ed. Washington: U.S. Department of Agriculture, 1900. 48 p.

BARROSO NETO, J.; MANOS, M.G L.; GALVÃO, D.M. de O. Grupo focal como ferramenta para testes de aceitação com consumidores: o caso do flocão de milho biofortificado. In Reunião de Biofortificação no Brasil, 5, 2015, São Paulo, **anais...**, Brasília, DF: Embrapa, 2015. p. 208-211.

BINNS, N. Probióticos, Prebióticos e a microbiota intestinal. **Ilsi europe concise monograph series**. Tradução ilsi brasil internacional life sciences institute do brasil. Bélgica. v. 1, s/n, 2014. 33 p.

BOÊNO, J. A.; NICOLAU, E.S.; ASCHIERI, D. P. R.; OLIVEIRA, C.F.D. composição nutricional de bebidas lácteas fermentadas adicionadas de extrato de arroz vermelho. In: 5º Simpósio de segurança alimentar alimentação e saúde, 5, 2015, Bento Gonçalves. **Anais...**Bento Gonçalves, RS:SBCTA, 2015, p.10-17.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1, p. 45.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional De Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução nº. 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 03 mai. 1999. Seção 1, p. 16.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 26 dez. 2003. Seção 1, p.33.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Instrução Normativa nº46, 23 de outubro de 2007. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 out. 2007. Seção 1, p. 5.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Portaria nº 146, de 07 de Março de 1996. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 07 mar. 1996. Seção 1, p.3977.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº 466 do Conselho Nacional de Saúde. Aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo Brasília, DF, 12 dez. 2013, Seção 1, p. 59.

CALDEIRA, L. A.; FERRÃO, S.P.B.; FERNANDES, S. A. A.; MAGNAVITA, A. P. A.; SANTOS, T. D. R. Desenvolvimento de bebida láctea sabor morango utilizando diferentes níveis de iogurte e soro lácteo obtidos com leite de búfala. **Revista Ciência Rural**, v.40, n.10, p. 2193-2198, 2010.

CAMPOLINA, G. A.; FARIA, M. A. S.; CARVALHO, N. B.; VILLANOEVA, C. N. B. **Caderno Ciências Agrárias**., v. 9, n. 3, supl. 1, p. 24–31, 2017.

CECCHI, H. M. **Fundamentos Teóricos e Práticos em Análises de Alimentos**.^{1ª} ed. São Paulo: Unicamp, 2003. 207 p.

CHRISTENSEN, Z. T.; OGDEN, L. V.; DUNN, M. L.; EGGETT, D. L. Multiple comparison procedures for analysis of paired data. **Journal Food Science**, v.71, s/n, p:132-143, 2006.

CONTIM, L. S. R.; OLIVEIRA, I. M. A.; CARDOSO NETO, J. Avaliação microbiológica, físico-química e aceitação sensorial do kefir com polpa de graviola. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 73, n. 1, p. 1-9, 2018.

COSTA, A. V. S.; NICOLAU, E. S.; TORRES, M. C. L.; FERNANDES, P. R.; ROSA, S. I. R.; NASCIMENTO, R. C. Desenvolvimento e caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de bebida láctea fermentada elaborada com diferentes estabilizantes/espessantes. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 209-226, 2013.

COSTA, N. M.B.; ROSA, C. O. B.; **Alimentos Funcionais: compostos bioativos e efeitos fisiológicos**. 2^a ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2016. 504 p.

DELLA LÚCIA, S. M.; SOUZA, S.; SARAIVA, S. H.; CARVALHO, R.V.; CARNEIRO, J. C; S. Impacto de características sensoriais e não sensoriais na escolha e na aceitação de iogurte sabor morango. **Enciclopédia biosfera**, v. 6, n. 9, p. 1-13, 2010.

DERTLI, E.; ÇON, A. H. Microbial diversity of traditional kefir grains and their role on kefir aroma. **Food Science and Technology**, v. 85, s/n, p. 151-157, 2017.

DLUZNIEWSKI, D. M.; GONÇALVES, E. S.; COPETTI, M. **Análise do perfil de compra e consumo de iogurtes funcionais nas cidades de Matelândia e Medianeira através do grupo focal**. 2016. 83p. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, 2016.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 4^a ed. rev. ampl. Curitiba: Champagnat, 2013. 531p.

FIORDA, F. A.; PEREIRA, G. V. M.; THOMAZ-SOCCOL, V.; RAKSHIT, S. K.; PAGNONCELLI, M. G. B.; VANDENBERGHE, L. P. S.; SOCCOL, C. R. Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation - A review. **Food Microbiology**, v. 66, s/n, p. 86-95, 2017.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996.182 p.

GALLINA, D. A.; ALVES, A.T.S.; TRENTA, F.K.H. S.; CARUSI, J., Caracterização de leites fermentados com e sem adição de probióticos e prebióticos e avaliação da viabilidade de bactérias lácticas e probióticas durante a vida-de-prateleira. **UNOPAR Científica Ciência Biológica e Saúde**. v. 13, n. 4. p. 239-244, 2011.

GARROTE, G.L.; ABRAHAM, A. G.; DE ANTONI, G. L. Preservation of kefir grains, a comparative study. **Internacional Journal of food Science and technology**, v. 30, n/s, p. 77-84, 1997.

GIBSON, G.R.; RASTALL, R.; TOUKY, K; HOTCHKISS, A.; DUBERT-FERRANDON, A.; GAREAU, M.; SAULNIER, D.; BUDDINGTON, R. Dietary prebiotics: current status and new definition. **IFIS Functional Foods Bulletin**. v. 7, n. 1, p. 1- 19, 2011.

GIRARDIN, M.; SEIDMAN, E.G. Indications for the use of probiotics in gastrointestinal diseases. **Digestive diseases**, v. 29, s/n, p. 574-587, 2011.

GUPTA, P. Functional Foods for Cancer Therapeutics. **Natural Products Chemistry & Research**, v. 4, n. 2, p. 2329 - 6836, 2016.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ-IAL. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 5ª ed. São Paulo, 2008. 1020 p.

ISLAM S.; Clinical uses of probiotics. **Medicine (Baltimore)**, v. 95, n. 5, p. 26-58, 2016.

KARAGÖZLÜ, N.; KARAGÖZLÜ, C.; ERGÖNÜL, B. Survival Characteristics of E. coli O157:H7, S. typhimurium and S. aureus during Kefir Fermentation. **Czech J. Food Sci**, v. 25, n. 4, p. 202–207, 2007.

KESENKAŞ, H.; GÜRSOY, O.; & ÖZBAŞ, H. Capítulo 14: Kefir. **Fermented Foods in Health and Disease Prevention**, v. 12, s/n, p. 339–361, 2017.

KESENKAS, H., YERLIKAYA, O., & OZER, E. A. Functional milk beverage: Kefir. **Agro FOOD Industry Hi Tech**, v. 24, s/n, p. 53–55, 2013.

KITZINGER, J. Focus groups with users and providers of health care. In: POPE, C.; MAYS, N. (Org.). **Qualitative research in health care**. 2. ed. London: BMJ Books, 2000.

KRAEMER, F. B.; PRADO, S. D.; FERREIRA, F. R.; CARVALHO, M. C. V. S. O discurso sobre a alimentação saudável como estratégia de biopoder. **Revista de Saúde Coletiva**, v. 24, n. 4, p. 1337-1359, 2014.

KUMPOUN, W.; MOTOMURA, Y.; NISHIZAMA, T. Free and bound polyphenols in mango fruit peel as functional food ingredients with high antioxidant activity. **Acta Horticulturae**, v.1, n.1088, p. 515-519, 2015.

KURMANN, J. A. Os fatores biológicos e técnicos da fabricação do iogurte. In: CONGRESSO DE LATICÍNIOS, 4., Juiz de Fora. **Anais...**, 1977.

LEITE, A.M.O.; MIGUEL, M.A.L.; PEIXOTO, R.S.; ROSADO, A.S.; SILVA, J.T.; PASCHOALIN, V.M. F. Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 2, p. 341-349, 2013.

LEITE, K. F.; POIATTI, M. L.; PRANDINI, M. S.; MENEZES, T. J. Elaboração de leite fermentado a partir dos probióticos *Lactobacillus acidophilus* e *Streptococcus thermophilus* adicionado mel de *Apis mellífera*. In: 1º Encontro Internacional de Ciências Agrárias e Tecnológicas, 1, 2016. **Anais...** Dracena, SP, 2016, p. 431-439.

LIUT KEVICIUS, A.; SARKINAS, A. Studies on the growth conditions and composition of Kefir grains – as a food and forage biomass. **Dairy Science Abstracts**, v. 66, s/n, p. 903, 2004.

MACHADO, B. A. S.; REIS, J. H. O.; PIRES, E. A.; SANTOS, F. L. Mapeamento tecnológico de patentes de kefir. **Cadernos de Prospecção**, v. 5, n. 2, p. 86-97, 2012.

MAGALHÃES, K. T.; DRAGONE, G.; PEREIRA, G. V. M.; OLIVEIRA, J. M.; DOMIGUES, L.; TEIXEIRA, J. A.; SILVA, J. B. A.; SCHWAN, R. F. Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. **Food Chemistry**, v.126, s/n, p. 249-253, 2011.

MAGALHÃES, K. T.; PEREIRA, G. V. M.; CAMPOS, C. R.; DRAGONE, G.; SCHWAN, F. Brazilian Kefir: structure, microbial communities and chemical composition. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 42, n. 2, p. 693-702, 2011.

MAHAN, L.K; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. 13ª ed. São Paulo: Roca, 2012. 1227 p.

MARCHI, L.; PALEZI, S.C.; PIETTA, G. M. Caracterização e avaliação sensorial do kefir tradicional e derivados. **Unoesc & Ciência - ACET**, Edição Especial, p. 15-22, 2015.

MARQUES, V. B.; MOREIRA, R. A.; RAMOS, J. D.; ARAÚJO, N. A.; SILVA, F. O. R. Reproductive phenology of red pitaya in Lavras, MG, Brazil. **Ciência Rural**, v. 41, n. 6, p.984-987, 2011.

MATIAS, T. R. S.; ANDRADE, K. C. S.; ROSA, C. L. S.; SILVA, B. A. Avaliação do comportamento reológico de diferentes iogurtes comerciais. **Brazilian Journal of food Technology**. Campinas, v. 16, n. 1, p. 12-20, 2013.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial: estudo com consumidores**. 4. ed. Viçosa (MG): UFV, 2018. 362p

MOJICA, L., GONZALEZ DE MEJIA, E., GRANADOS-SILVESTRE, M. Á., & MENJIVAR, M. Evaluation of the hypoglycemic potential of a black bean hydrolyzed protein isolate and its pure peptides using in silico, in vitro and in vivo approaches. **Journal of Functional Foods**, v. 31, s/n, p. 274–286, 2017.

NOGUEIRA, L. K.; AGUIAR-OLIVEIRA, E.; KAMIMURA, E. S.; MALDONADO, R. R. Milk and açai berry pulp improve sensorial acceptability of kefir-fermented milk beverage. **Acta Amazonica**, v.46, n. 4, p.417–424, 2016.

OLIVEIRA, J. L.; ALMEIDA, C.; BONFIM, N.S. A importância do uso de probióticos na saúde humana. **Unoesc & Ciência - ACBS**, v. 8, n. 1, p. 7-12, 2017.

OTZOA, F.L; REMENTERIA, A.; ELGUEZABAL, N.; GARAIZAR, J. Kefir: A symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. **Revista Ibero-americana Micologia**, v. 23, n. 2, p. 67-74, 2006.

PANZOLINI, C. R. L. D.; LIMA, J. P.; NASCIMENTO, P. G. B. D.; GHESTI, G. F. Estudo prospectivo sobre tecnologia desenvolvida para obtenção de produtos à base

de quinoa para a indústria alimentícia. **Caderno de Prospecção**, v. 10, n. 4, p. 765-775, 2017.

RAIZEL, R.; SANTINI, E.; KOPPER, A. M.; FILHO, A. D. R. Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano. **Revista Ciência & Saúde**, v. 4, n. 2, p. 66-74, 2011.

RIBEIRO, A.S. **Caracterização de microrganismos com potencial probiótico isolados a partir de Kefir produzidos na região noroeste do estado do Rio Grande do Sul**. 2015. 78 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Catarina, 2015.

SAAD, S. M.I.; Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 1, p. 1-16, 2006.

SABOKBAR, N; MOOSAVI-NASAB, M.; KHODAIYAN, F.; Preparation and Characterization of an Apple Juice and Whey Based Novel Beverage Fermented Using Kefir Grains. **Food Science Biotechnology**, v. 24, n. 6, p. 2095-2104, 2015.

SALJOUGHIAN, S., ROOHINEJAD, S., BEKHIT, A. E.-D. A., GREINER, R., OMIDIZADEH, A., NIKMARAM, N., & MOUSAVI KHANEGHAH, A. The effects of food essential oils on cardiovascular diseases: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n.10, p. 1688–1705, 2018.

SANTOS, A. V. **Desenvolvimento de produtos lácteos fermentados por grãos de kefir com teor de colesterol reduzido e saborizados com frutas tropicais**. 2013.130 f. Tese (Doutorado em engenharia de processos) – Universidade Tiradentes, Sergipe, 2013.

SARKAR, S.; Potential of kefir as a dietetic beverage – a review, **British Food Journal**, v. 109, n. 4, p. 280-290, 2007.

SEMIENIUC, C. A., ROTAR, A., STAN, L., POP, C. R., SOCACI, S., MIREȘAN, V., MUSTE, S. (2015). Characterization of pine bud syrup and its effect on physicochemical and sensory properties of kefir. **CyTA - Journal of Food**, v. 14, n. 2, p. 213–218, 2015.

STATSOFT. (2007). **Statistica for Window** – Computer programa manual, Versão 7.0. Tulsa: Statsoft Inc.

STRINGHETA, P. C.; DE OLIVEIRA, T. T.; GOMES, R. C.; DO AMARAL, M. P. H.; DE CARVALHO, A. F.; VILELA, M. A. P. Políticas de saúde e alegações de propriedades funcionais e de saúde para alimentos no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 2, p. 181-194, 2007.

TEIXEIRA, A. C. M.; OSELAME, C. S.; O uso de alimentos funcionais no cotidiano e seus benefícios a saúde. **Revista Kur'yt'yba**, v. 5, n. 1, p. 67- 76, 2013.

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; BARBETTA, P. A. **Análise sensorial de alimentos**. Florianópolis: Ed.UFSC, 1987. p. 66-119.

TERRA, F. M. **Teor de lactose em leites fermentados por grãos de kefir**. 2007. 62 f. Monografia (Especialização em Tecnologia de Alimentos) - Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

TOVAR, J.; JOHANSSON, M.; BJÖRCK, I. A multifunctional diet improves cardiometabolic-related biomarkers independently of weight changes: an 8-week randomized controlled intervention in healthy overweight and obese subjects. **European Journal of Nutrition**, v. 55, n. 7, p. 2295- 2306, 2016.

VIDAL, A. M.; DIAS, D. O.; MARTINS, E. S. M.; OLIVEIRA, R. S.; NASCIMENTO, R. M.S.; CORREIA, M.G.S.; A ingestão de alimentos funcionais e suas contribuições para a diminuição da incidência de doenças. Cadernos de Graduação. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1, n.15, p. 43-52, 2012.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C.; TEIXEIRA, F. C.; **Alimentos Funcionais: Conceitos Básicos**. Documentos 312: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Pelotas: RS, 2010, 16 p.

WESCHENFELDER, S.; MONTEIRO, P. L.; PAIM, M. P.; GERHARDT, C.; HECK, J.; WIEST, J. M. Produção e caracterização de leite fermentado kefir. In: 5º Simpósio de segurança alimentar alimentação e saúde, 5, 2015, Bento Gonçalves. **Anais...Bento Gonçalves**, RS:SBCTA, 2015, p.1-4.

WESCHENFELDER, S.; PEREIRA, G. M.; CARVALHO, H.H.C.; WIEST, J. M. Caracterização físico-química e sensorial de kefir tradicional e derivados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 2, p. 473-480, 2011.

WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION. Diretrizes Mundiais da Organização Mundial de Gastroenterologia. **Probióticos e prebióticos**, 2011, p.29.

Disponível em: <<http://www.worldgastroenterology.org/probiotics-prebiotics.html>>.
Acesso em: 09 abr. 2018.

APÊNDICE A - FICHA CADASTRAL PARA GRUPO DE FOCO
BEBIDA ELABORADA COM KEFIR SABORIZADO

DATA: ____/____/____

Nome completo: _____ idade: _____

Sexo: (☐) F (☐) M

Você tem interesse em participar voluntariamente de um grupo de foco, relacionado a uma pesquisa de mestrado? Serão realizados 2 encontros de aproximadamente 20 a 30 minutos, onde serão servidos formulações de kefir saborizados com frutas. Nesses encontros serão indagados a você a melhor opção de sabor para a bebida elaborada, bem como outros aspectos pertinentes a preparação.

Será realizado um encontro dia 17/12 às 9:30 da manhã na sala de reunião de análise sensorial do laboratório de análise sensorial do IFCE-campus Limoeiro do Norte. O segundo encontro será realizado em janeiro data ainda a combinar.

Você apresenta alguma restrição aos produtos elaborados com leite, como intolerância à lactose ou alergia a proteína do leite?

Você consome produtos derivados do leite, como bebida lácteas, iogurtes ou leites fermentados? Se sim, especifique qual o de maior consumo.

Você já consumiu kefir? (☐) SIM (☐) NÃO

Já ouvir falar sobre ele? (☐) SIM (☐) NÃO



APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

ESTUDO DE BEBIDAS FERMENTADAS COM GRÃOS DE KEFIR SABORIZADAS COM FRUTAS

KIVIA KELLY BEZERRA DO NASCIMENTO; VIRNA LUIZA DE FARIAS

Você está sendo convidado a participar como voluntário de uma pesquisa. Este documento, chamado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, visa assegurar seus direitos como participante e é elaborado em duas vias, uma que deverá ficar com você e outra com o pesquisador.

Por favor, leia com atenção e calma, aproveitando para esclarecer suas dúvidas. Se houver perguntas antes ou mesmo depois de assiná-lo, você poderá esclarecê-las com o pesquisador. Se preferir, pode levar este Termo para casa e consultar seus familiares ou outras pessoas antes de decidir participar. Não haverá nenhum tipo de penalização ou prejuízo se você não aceitar participar ou retirar sua autorização em qualquer momento.

O objetivo é elaborar e caracterizar bebidas fermentadas com grãos de kefir saborizadas com polpa de fruta, além de ter objetivos como observar a aceitabilidade, intenção de compra e frequência de consumo.

A necessidade da criação de outros produtos inovadores, capazes de agregar valor nutricional ao mesmo a partir de suas propriedades funcionais, tendo em vista, ser uma necessidade dos alimentos atuais. A incorporação da polpa de fruta e do kefir trará dentre inúmeros benefícios, como o aumento no potencial antioxidante do produto, melhora no perfil proteico e teor de fibras, além de agregar sabor ao mesmo.

Participando do estudo você está sendo convidado a: participar de um teste sensorial, onde você receberá amostras codificadas de bebidas fermentadas com grãos de kefir com polpa de fruta, receberá também uma ficha onde será avaliará sua aceitabilidade, sua intenção de compra e sua frequência de consumo, onde você escolherá através de escala e notas. Esse teste sensorial será realizado nas dependências do IFCE- campus Limoeiro do Norte e a sua duração é estimada de 10 a 25 minutos. As respostas serão guardadas mais sem identificação nos resultados.

Você **não** deve participar deste estudo se apresentar intolerância à lactose ou quaisquer alergias aos componentes presentes na preparação, alergias a leites ou derivados.

Caso apresente constrangimento em responder, poderá também não aceitar participar da pesquisa.

Assim estando fora desses itens de exclusão da pesquisa, os riscos são mínimos em participar da pesquisa.

Caso haja algo desconforto físico durante o teste, você será encaminhado ao SESP para possível atendimento médico.

A pesquisa apresenta benefícios em poder incorporar resultados positivos ou negativos a referente pesquisa, e assim ajudar na busca de novos produtos alimentícios para a população, onde sua ajuda seria de grande importância.



Você tem a garantia de que sua identidade será mantida em sigilo e nenhuma informação será dada a outras pessoas que não façam parte da equipe de pesquisadores. Na divulgação dos resultados desse estudo, seu nome não será citado.

Não será necessária nenhuma despesa financeira sua, já que a pesquisa será realizada nas dependências do IFCE em seu horário normal de trabalho ou estudo. Você terá a garantia ao direito a indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa.

Em caso de dúvidas sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com os pesquisadores:

KIVIA KELLY BEZERRA DO NASCIMENTO Endereço: Rua Dr Daltro Holanda, 836, Centro, Russas - CE

Telefone: (88) 999490764 Email: kiviakellynutri@gmail.com

VIRNA LUIZA DE FARIAS Endereço: Instituto Federal *Campus* Limoeiro do Norte, situado na Rua Estevam Remígio, n. 1145, Centro, Limoeiro do Norte- CE.

Telefone: (88) 34476423 Email: virna@ifce.edu.br

Em caso de denúncias ou reclamações sobre sua participação e sobre questões éticas do estudo, você poderá entrar em contato com a secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do IFCE das 08:00hs às 12:00hs e das 13:00hs as 17:00hs na Reitoria - R. Jorge Dumar, 1703 - Jardim América, Fortaleza - CE, 60410-426; fone (85) 34012332 e-mail: cep@ifce.edu.br

Consentimento livre e esclarecido:

Após ter recebido esclarecimentos sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos, benefícios previstos, potenciais riscos e o incômodo que esta possa acarretar, aceito participar e declaro estar recebendo uma via original deste documento assinada pelo pesquisador e por mim, tendo todas as folhas por nós rubricadas:

Nome do(a) participante:

Contato telefônico (opcional):

e-mail (opcional):

(Assinatura do participante ou nome e assinatura do seu RESPONSÁVEL LEGAL)

Data: ____/____/____.



Responsabilidade do Pesquisador:

Asseguro ter cumprido as exigências da resolução 466/2012 CNS/MS e complementares na elaboração do protocolo e na obtenção deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Asseguro, também, ter explicado e fornecido uma via deste documento ao participante. Informo que o estudo foi aprovado pelo CEP perante o qual o projeto foi apresentado. Comprometo-me a utilizar o material e os dados obtidos nesta pesquisa exclusivamente para as finalidades previstas neste documento ou conforme o consentimento dado pelo participante.

Nome do(a) participante:

Contato telefônico (opcional):

e-mail (opcional):

(Assinatura do participante)

Data: ____/____/____.

APÊNDICE C - FICHA DE ANÁLISE SENSORIAL

SEXO: () Masculino () Feminino

DATA: ____/____/____

ESTUDOS: () sem estudos () fundamental () médio () superior
() pós-graduação: () incompleto () completo

FAIXA ETÁRIA - anos: () 15-20 () > 20-30 () > 30-40 () > 40-50 () > 50-60 () > 60

Você está recebendo três amostras codificadas bebidas fermentadas com grãos de kefir saborizadas com fruta. Prove as amostras da esquerda para a direita e avalie cada amostra e utilizando a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra.

9 gostei muitíssimo

8 gostei muito

7 gostei moderadamente

6 gostei ligeiramente

5 nem gostei / nem desgostei

4 desgostei ligeiramente

3 desgostei moderadamente

2 desgostei muito

1 desgostei muitíssimo

Amostra	Impressão Global	Aparência	odor	Textura	sabor

Comentários _____

Por favor, prove as amostras da esquerda para a direita e ordene-as de acordo com a sua preferência, colocando em primeiro lugar a que você mais gostou e por último a que menos gostou.

+ gostei

- gostei

Comentários: _____

Indique sua atitude de compra em relação às amostras avaliadas anteriormente, a partir da escala abaixo:

() - Certamente compraria

() - Provavelmente compraria

() - Tenho dúvidas

() - Provavelmente não compraria

() - Certamente não compraria