



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

LÍVIA GABRIELLE MACIEL SALES

CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DE LEITE FERMENTADO KEFIR
ELABORADO COM ADIÇÃO DE POLPA DE AÇAÍ

FORTALEZA

2017

LÍVIA GABRIELLE MACIEL SALES

**CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DE LEITE FERMENTADO KEFIR
ELABORADO COM ADIÇÃO DE POLPA DE AÇAÍ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Juliane Doering Gasparin Carvalho.

Co-orientadora: Pesquisadora Dra. Laura Maria Bruno.

FORTALEZA - CE

2017

LÍVIA GABRIELLE MACIEL SALES

**CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DE LEITE FERMENTADO KEFIR
ELABORADO COM ADIÇÃO DE POLPA DE AÇAÍ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em: ___/___/_____

BANCA EXAMINADORA

Profª. Dra. Juliane Doering Gasparin Carvalho (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profª. Dra. Sueli Rodrigues
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profª. Dra. Ana Paula Colares de Andrade
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus, por ter dado a oportunidade de fazer o mestrado e força para poder terminá-lo.

A minha mãe por ter enxugado todas as lágrimas durante os dois anos de trabalho.

A meus amigos da CRU Brasil pelo incentivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que abriu as portas do mestrado e me sustentou com mãos fortes até o último dia do mesmo.

A minha mãe, Eunice Maciel, por nunca ter deixado de acreditar em mim, pelo amor e compreensão.

A minha tia, Norma Sales, por sempre me incentivar a lutar pelos meus ideais.

A minha tia, Clarice Maciel e família, por me ajudar no momento em que precisei.

Aos meus amigos, Valécia Bessa, Katarina Mateus, Renato Camilo, Valeska Ribeiro, Mirian Santos, Pedro Henrique, Elias Bruno, Danton França, Ana Paula Rodrigues, Airlane Esteves, Danusa Mendes e Jessica Foster por não me deixarem esquecer que ainda há muita alegria em meio às dificuldades.

A Prof. Dra. Juliane Döering Gasparin Carvalho, por toda a ajuda, confiança, amizade, carinho e ótima orientação.

A Dra. Laura Maria Bruno, pelos ensinamentos e ajuda durante o mestrado.

A toda a equipe; Gizele Almeda, Livia de Oliveira, Paulo Maciel, Katarina Mateus, Nhaira Lima, Gleice Gadelha, Layane, Pedro Maia, Lidiana Lima, Rafaella de Freitas, Iane, Thalita, Régia, Flávia Felix, Tobias, Amanda, Luan Costa, Milena, Sthéfane, Airlane Esteves, Livanina Linhares, Janaina e Jovan Marques; pela amizade e auxílio na realização desse trabalho.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos e funcionários do departamento de Engenharia de Alimentos por proporcionarem um bom ambiente e possibilidade de execução de toda a dissertação.

Aos professores participantes da banca examinadora Dra. Juliane Döering Gasparin Carvalho, Dra. Sueli Rodrigues e Dra. Ana Paula Colares de Andrade pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Ao Departamento de Engenharia de Alimentos, que disponibilizou os laboratórios para realização da pesquisa.

A professora Luciana por permitir a realização de algumas análises nos laboratórios de Microbiologia didático e de Bioquímica e Fisiologia Pós Colheita de Frutos.

A Embrapa Agroindústria Tropical pelo apoio no Laboratório de Microbiologia de Alimentos.

Ao professor Ronildo por disponibilizar o laboratório de Tecnologia Química do Instituto Federal do Ceará para realização de algumas análises.

RESUMO

O Kefir é um leite fermentado que pode apresentar propriedades funcionais, dentre as quais estão à regulação intestinal e aumento da resistência imunológica. A adição de uma fruta, como o açaí, ao Kefir pode agregar valor nutricional e sensorial ao produto. Diante do exposto, esta pesquisa visou elaborar leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí, avaliando sua aceitação sensorial e estabilidade. O Kefir foi elaborado a partir de leite UHT integral, fermentado por meio dos grãos de Kefir, adicionado de diferentes concentrações de polpa de açaí e sacarose. As formulações de Kefir foram determinadas por meio de planejamento fatorial 2^2 contendo quatro ensaios fatoriais em dois níveis com o ensaio central repetido três vezes. Deste planejamento as variáveis independentes foram o tempo de fermentação (24 e 48 h) e a concentração de polpa (10% e 30%) e as variáveis dependentes: a acidez e viscosidade. Nas matérias-primas e no Kefir com polpa de açaí foram avaliados os parâmetros físico-químicos e microbiológicos, assim como as características sensoriais e a estabilidade do produto final. Os resultados das análises físico-químicas e sensoriais foram submetidos ao tratamento estatístico através da análise de variância (ANOVA) e as médias obtidas foram comparadas através do teste de Tukey. Os parâmetros físico-químicos dos produtos elaborados atenderam às especificações legais exigidas. A avaliação sensorial mostrou que as formulações foram aceitas para todos os atributos avaliados não havendo diferença significativa, ($p < 0,05$ %), na preferência e aceitação das amostras, exceto para aroma e consistência. As amostras apresentaram boa intenção de compra pelos potenciais consumidores. Os tempos de fermentação (24 e 36h) e a concentração de polpa de açaí (20%) propiciaram a obtenção de um leite fermentado com acidez, consistência e sabor de açaí adequados para o consumo. O período de armazenamento estudado em 45 dias demonstrou que as formulações elaboradas apresentaram estabilidade microbiológica e físico-química. Portanto, os leites fermentados Kefir elaborados são produtos novos para o mercado brasileiro, com potencial probiótico, boa aceitação sensorial, com atitude positiva de aquisição pelos consumidores e maior estabilidade que os demais leites fermentados.

Palavras-chave: Kefir. Alimento funcional. Açaí.

ABSTRACT

Kefir is a fermented milk that may exhibit functional properties, such as intestinal regulation and increased immune resistance. The addition of a fruit, such as açai, to Kefir can add nutritional and sensory value to the product. Considering the above, this research aimed to elaborate fermented Kefir milk added with açai pulp, evaluating its sensorial acceptance and stability. Kefir was made from whole UHT milk, fermented through Kefir grains, added with different concentrations of açai pulp and sucrose. Kefir formulations were determined by factorial design 2² containing four factorial assays at two levels with the central assay repeated three times. From this planning the independent variables were the fermentation time (24 and 48 h) and the pulp concentration (10% and 30%) and the dependent variables: acidity and viscosity. The physical-chemical and microbiological parameters, as well as the sensorial characteristics and the stability of the final product were evaluated in the raw materials and Kefir with açai pulp. The results of the physical-chemical and sensorial analyzes were submitted to statistical treatment through analysis of variance (ANOVA) and the averages obtained were compared through the Tukey test. The physico-chemical parameters of the products elaborated met the legal specifications required. The sensorial evaluation showed that the formulations were accepted for all attributes evaluated, with no significant difference ($p < 0.05\%$) in the preference and acceptance of the samples, except for aroma and consistency. The samples had a good intention of purchase by the potential consumers. Fermentation times (24 and 36 hours) and açai pulp concentration (20%) led to the production of a fermented milk with acidity, consistency and açai taste suitable for consumption. The storage period studied in 45 days showed that the elaborated formulations showed microbiological and physicochemical stability. Therefore, the elaborated Kefir fermented milks are new products for the Brazilian market, with probiotic potential, good sensorial acceptance, with positive attitude of acquisition by the consumers and greater stability than the other fermented milks.

Keywords: Kefir. Functional food. Acai.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-	Grãos de Kefir para ativação.....	26
Figura 2-	Fluxograma de elaboração do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	29
Figura 3-	Apresentação das amostras de leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	32
Figura 4-	Estimativas dos efeitos lineares das variáveis tempo de fermentação e concentração de polpa de açaí sobre a acidez do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	35
Figura 5-	Curvas de contorno para acidez do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí em função do tempo de fermentação e da concentração de polpa de açaí.....	36
Figura 6-	Estimativas dos efeitos lineares das variáveis tempo de fermentação e concentração de polpa de açaí sobre a viscosidade do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	37
Figura 7-	Caracterização dos provadores.....	49
Figura 8-	Distribuição de respostas dos provadores na avaliação da aceitação do atributo cor do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí	52
Figura 9-	Distribuição de respostas dos provadores na avaliação da aceitação do atributo aparência do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí	53
Figura 10-	Distribuição de respostas dos provadores na avaliação da aceitação do atributo aroma do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí	53
Figura 11-	Distribuição de respostas dos provadores na avaliação da aceitação do atributo sabor do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí	54
Figura 12-	Distribuição de respostas dos provadores na avaliação da aceitação do atributo consistência do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	55
Figura 13-	Distribuição de respostas dos provadores na avaliação da aceitação do atributo impressão global do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	56
Figura 14-	Distribuições das frequências de respostas dos provadores para avaliação da atitude de compra do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	57
Figura 15-	Distribuições das frequências de respostas dos provadores para o teste do ideal da acidez do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí	58
Figura 16-	Distribuições das frequências de respostas dos provadores para o teste do ideal da consistência do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	59


Figura 17-	Distribuições das frequências de respostas dos provadores para o teste do ideal do sabor de açaí do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	60
------------	---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Composição química dos valores nutricionais do Kefir.....	21
Tabela 2-	Níveis das variáveis independentes do planejamento experimental.....	27
Tabela 3-	Ensaio do planejamento experimental do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	28
Tabela 4-	Ensaio e variáveis respostas do planejamento experimental do leite	34

	fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	
Tabela 5-	Análise de variação (ANOVA) do modelo de regressão para acidez aparente do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	36
Tabela 6-	Análise de variação (ANOVA) do modelo de regressão para viscosidade aparente do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	38
Tabela 7-	Valores médios e desvios-padrão da caracterização do leite UHT integral.....	39
Tabela 8-	Valores médios e desvios-padrão da caracterização da polpa de açaí.....	40
Tabela 9-	Valores médios e desvios-padrão da caracterização do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	43
Tabela 10-	Valores médios e desvios-padrão da cor do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	44
Tabela 11-	Resultados médios da análise microbiológica nas matérias-primas.....	46
Tabela 12-	Parâmetros médios para caracterização microbiológica do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	47
Tabela 13-	Médias de acidez total titulável e proteínas utilizadas como critério para análise sensorial do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	48
Tabela 14-	Resultados médios e desvios-padrão do teste de aceitação do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	51
Tabela 15-	Resultados médios e desvios-padrão para a estabilidade físico-química de leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	61
Tabela 16-	Resultados médios e desvio-padrão para a contagem de bactérias ácido lácticas do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí durante o armazenamento.....	64
Tabela 17-	Resultados médios para a estabilidade de bolores e leveduras em leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.....	64

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1	Alimentos Funcionais.....	15
2.2	Probióticos.....	15
2.3	Leites Fermentados.....	17
2.4	Kefir.....	17
2.4.1	Grãos de Kefir.....	18
2.4.2	Características do Kefir.....	20
	Químicas.....	20

☛	Nutricionais.....	20
☛	Microbiológicas.....	21
2.5	Aspectos Legais.....	22
2.6	Adição de Frutas em Leites Fermentados.....	23
2.7	Açaí (<i>Euterpe oleracea</i> Mart).....	24
2.8	Estabilidade de Leites Fermentados.....	25
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.1	Material.....	26
3.2	Métodos.....	26
3.2.1	<i>Ativação dos grãos de Kefir</i>	26
3.2.2	<i>Planejamento experimental do leite fermentado Kefir com adição de açaí</i>	27
3.2.3	<i>Elaboração do leite fermentado Kefir adicionado com polpa de açaí</i>	28
3.2.4	<i>Análises físico-químicas</i>	29
3.2.5	<i>Análises microbiológicas</i>	30
3.2.6	<i>Análise sensorial</i>	31
3.2.7	<i>Análise estatística</i>	32
3.2.8	<i>Avaliação da estabilidade durante o armazenamento</i>	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
4.1	Planejamento Experimental.....	34
4.2	Análises Físico-Químicas.....	38
4.2.1	<i>Caracterização das matérias-primas</i>	38
4.2.2	<i>Caracterização do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí</i>	41
4.3	Análises Microbiológicas.....	
4.3.1	<i>Polpa de açaí e Leite Fermentado Kefir</i>	
4.3.2	<i>Leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí</i>	41
4.4	Análise Sensorial.....	48
4.4.1	<i>Caracterização dos provadores</i>	49
4.4.2	<i>Avaliação da aceitação das amostras</i>	50
4.4.3	<i>Avaliação da atitude de compra das amostras</i>	56
4.4.4	<i>Avaliação da acidez, consistência e sabor de açaí ideal</i>	57
4.5	Estabilidade do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí durante o armazenamento.....	60
4.5.1	<i>Estabilidade físico-químicas</i>	60
4.5.2	<i>Estabilidade microbiológica</i>	62

5 CONCLUSÕES.....	65
REFERÊNCIAS.....	66
ANEXOS.....	75

1 INTRODUÇÃO

As exigências e tendências dos consumidores na questão alimentar tem se modificado, aumentando a busca por alimentos saudáveis, com propriedades funcionais, características sensoriais atraentes e com maior praticidade. Diante dessa realidade, algumas indústrias de alimentos têm buscado atender essa demanda, difundindo estas propriedades em leites fermentados.

O Kefir é um leite fermentado pela microbiota presente em uma estrutura de polissacarídeo denominada Kefirano na qual compõe os grãos de Kefir. Dentro destes encontram-se bactérias ácido lácticas, que podem ser probióticas, por apresentarem propriedades funcionais, que promovem benefícios na regulação intestinal humana, assim como efeitos imunológicos e antagônicos, resultando em um aumento da resistência contra

patógenos (COSTA *et al.*, 2013, SANTOS; BASSO, 2013). Além disso, esses microrganismos estimulam a multiplicação de bactérias que beneficiam o ser humano, aumentando os mecanismos naturais de defesa do organismo (CAETANO; MONTANHINE, 2014).

A microbiota dos grãos promove no leite uma dupla fermentação (WESCHENFELDER *et al.*, 2011) que são responsáveis por proporcionar maior digestibilidade, aroma e sabor específicos no produto final.

O ácido láctico e outros compostos produzidos durante as fermentações agem como conservantes naturais (WESCHENFELDER *et al.*, 2011) o que pode influenciar na estabilidade do Kefir e proporcionar, biologicamente, maior segurança. Além disso, existem relatos científicos que comprovam atividade antitumoral (LIU; MOON, 2002), angiogênica, antiinflamatória (PADRO *et al.*, 2016) e cicatrizantes (HUSEINI *et al.*, 2012).

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados determina que o Kefir, deve possuir acidez em percentagem de ácido láctico menor que 1% e conteúdo de etanol entre 0,5 e 1,5%, contagem de bactérias lácticas totais de no mínimo 10^7 UFC/g e de leveduras específicas de no mínimo 10^4 UFC/g (BRASIL, 2007). Em relação aos padrões microbiológicos, a Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, da Agência de Vigilância Sanitária estabelece que leites fermentados com ou sem adições, resfriados, e com bactérias lácticas viáveis, não poderá apresentar quantidades de coliformes termotolerantes (45°C) superiores a 10 UFC/g (BRASIL, 2001).

Devido às propriedades funcionais mencionadas, o Kefir é fabricado em alguns países da Europa e EUA, mas no Brasil sua produção ainda é artesanal, sendo os grãos, por apresentarem multiplicação rápida, repassados de pessoa para pessoa (LEITE *et al.*, 2013b). Diante desta realidade, a adição de frutas pode tornar o Kefir um produto mais atrativo, assim como auxiliar na população desse produto.

A proposta do trabalho foi adicionar polpa de açaí ao Kefir, pois o açaí é um fruto brasileiro com crescente comercialização e consumo. Sua polpa tem sido estudada em função de seu valor nutritivo e sensorial, além de ser considerada como um alimento funcional devido ao seu conteúdo elevado de antocianinas. Estas são compostas com propriedades antioxidantes, as quais apresentam características farmacológicas e medicinais que previnem a oxidação de proteínas de baixa densidade e doenças neurológicas (MENEZES *et al.*, 2011).

O fruto também possui boa fonte de carboidratos, proteínas, minerais, vitaminas e fibras (PORTINHO, ZIMMERMANN; BRUCK, 2012), as quais auxiliam no bom funcionamento do trânsito intestinal e na promoção da saúde, uma vez que podem ajudar a

reduzir o colesterol sanguíneo e o risco de desenvolvimento de certos tipos de câncer (OLIVEIRA; COSTA; ROCHA, 2015).

A adição desta fruta no leite fermentado Kefir poderá aumentar o conteúdo nutricional e agregar valor ao produto devido o açaí possuir coloração marcante o que pode tornar o Kefir mais atraente aos consumidores.

Esse estudo teve como objetivo geral elaborar leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí, avaliar a aceitação sensorial e a estabilidade do produto. Para complementar o estudo, os objetivos específicos foram, verificar a influência do tempo de fermentação e concentração de polpa de açaí nas características físico-químicos do Kefir; avaliar o efeito do tempo de fermentação e da concentração de polpa de açaí na aceitação sensorial do produto e determinar a estabilidade do produto armazenado sob resfriamento (10°C) por um período de tempo de 0, 17, 30 e 45 dias.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Alimentos Funcionais

A sociedade contemporânea, no decorrer dos anos, tem se tornado mais exigente, em relação à busca por qualidade de vida, o que leva a mudanças seu modo de viver. Recentemente vem-se aumentando a procura por alimentos mais nutritivos, com menores concentrações de aditivos químicos e que possam contribuir para o bom funcionamento do organismo humano. Tais características se adequaram na categoria, hoje conhecida, como alimentos funcionais (WENDLING; WESCHENFELDER, 2013).

De acordo com Baptista *et al* (2013), a definição de alimento funcional está

relacionada a presença de componentes alimentares a saúde, permitindo acrescentar a alegação de efeito benéfico que se espera obter com o consumo diário. Tais alimentos devem ser incluídos na alimentação como parte de uma dieta saudável.

Na legislação brasileira há uma alegação de propriedades funcionais para alimento funcional na qual se encontra um regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas na rotulagem de alimentos (BRASIL, 1999). Estas propriedades têm que ser comprovadas junto às autoridades competentes, quanto ao registro do alimento ou do novo rótulo (OLIVEIRA *et al.*, 2002). Segundo Vidal *et al.*, (2012) alimentos funcionais devem ser consumidos, preferencialmente, em sua forma original, dentro de um padrão alimentar normal, de forma que possam demonstrar o seu real benefício.

O enriquecimento de componentes com atividade reconhecidamente benéfica à saúde, como cálcio e vitaminas, constituam os alimentos funcionais de primeira geração. Nos últimos anos, por outro lado, esse conceito voltou-se principalmente para os compostos bioativos alimentares, que podem exercer efeito benéfico sobre a composição da microbiota intestinal, dentre os quais se destacam os probióticos (OLIVEIRA *et al.*, 2002).

2.2 Probióticos

Os probióticos são organismos vivos que quando ingeridos em quantidade adequada exercem equilíbrio no balanço da flora bacteriana intestinal da pessoa que os consome (GON, 2014). Estes microrganismos são capazes, quando administrados em quantidades e frequência adequadas, de conferir benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2001).

A influência benéfica dos probióticos sobre a microbiota intestinal humana inclui fatores como efeitos antagônicos, competição e efeitos imunológicos, resultando em um aumento da resistência contra patógenos (COSTA *et al.*, 2013). A utilização de culturas bacterianas probióticas estimula a multiplicação de bactérias benéficas em detrimento à proliferação de bactérias potencialmente prejudiciais, reforçando os mecanismos naturais de defesa do organismo (CAETANO; MONTANHINE, 2014).

Para ser considerado probiótico, o microrganismo deverá preencher certos critérios em relação a sua origem, segurança, resistência a ácido gátrico, bile e ser capaz de se fixar na parede do intestino, entre outros, bem como atender a aspectos tecnológicos, como resistir ao processamento (ROCHA *et al.*, 2014; NÓBREGA, 2014; RODRÍGUES, 2015),

além de apresentar as propriedades funcionais já citadas. De acordo com Ouwehand *et al.* (2002) para o probiótico resistir à passagem pelo Trato gastrointestinal (TGI) seria necessário, no mínimo, a ingestão de 10^9 unidades formadoras de colônias (UFC)/g ou mL por porção de 80 mL. No entanto, esta recomendação não tem sido considerada um padrão já que a associação de leites fermentados e bebidas lácteas do Japão recomendam um consumo mínimo de 10^8 UFC/g ou mL por porção de 80 mL (FARNWORTH, 2008).

A necessidade de ingerir um grande número de microrganismos probióticos é preconizada para garantir que um número adequado de microrganismos sobreviventes alcance seus sítios de ação no TGI inferior (FARNWORTH, 2008).

Os microrganismos utilizados como probióticos são usualmente componentes não-patogênicos da microbiota humana, tais como bactérias produtoras de ácido láctico, como destaque para *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* (GALINA *et al.*, 2012), *Pediococcus*, *Leuconostoc*, e alguns *Streptococcus*; e a levedura: *Saccharomyces boulardii* (BARBOSA *et al.*, 2006).

Observa-se que os microrganismos probióticos vêm sendo adicionados em vários produtos que estão disponíveis no mercado para os consumidores, entretanto, o leite fermentado é o veículo popular mais usado na indústria a fim de introduzir esta microbiota em humanos (GALLINA *et al.*, 2012; MARQUES, 2012). Dentre os leites fermentados, o Kefir, por apresentar um aglomerado de microrganismos vivendo em simbiose dentro de grãos, vem sendo alvo de pesquisas com a finalidade de atestar o potencial probiótico desta bebida (LEITE *et al.*, 2013a; LEITE *et al.*, 2013b; LEITE *et al.*, 2012; PAWLOS *et al.*, 2016; COSTA *et al.*, 2013, SANTOS; BASSO, 2013).

2.3 Leites Fermentados

O leite fermentado surgiu acidentalmente quando nômades estocaram pela primeira vez o leite proveniente da ordenha em sacolas feitas de estômago de bode, favorecendo a proliferação de bactérias que modificaram a sua estrutura (COSTA *et al.*, 2013). Esta modificação foi chamada de fermentação, a qual consiste no processo metabólico onde carboidratos e compostos relacionados são parcialmente oxidados, resultando em liberação de energia, sem qualquer acceptor de elétrons externos (COSTA *et al.*, 2013). Segundo Tamime (2002) a fermentação é um dos métodos mais antigos e que pode ser utilizado para prolongar a vida útil do leite e o seu emprego tornou-se comum após ser observado que além do maior tempo de conservação, os produtos fermentados apresentavam

também melhor valor nutricional em relação ao alimento não fermentado (FARNWORTH, 2005; MARTINS, 2006).

Acredita-se que os leites fermentados podem apresentar propriedades terapêuticas por terem, em sua composição, microrganismos probióticos que demonstram efeitos bioquímicos sobre os nutrientes do leite e efeitos fisiológicos sobre o consumidor (GALLINA *et al.*, 2012).

2.4 Kefir

Kefir é um leite fermentado, de fácil preparo e economicamente acessível (SANTOS; BASSO, 2013). É considerado um alimento funcional e possui consistência cremosa, devido à ação de uma microbiota presente nos grãos que lhe dão origem (MONTANUCI, 2010). Um dos relatos mais aceitos sobre a origem do Kefir é que ele era o produto da estocagem do leite de cabra ou de ovelha em odres de barro, acrescentado de fragmentos de estômago de carneiro ou veado. Essa mistura era agitada de tempos em tempos até a sua coagulação. Após o consumo da coalhada formada, sem limpeza prévia do recipiente, acrescentava-se mais leite e esperava-se novamente sua coagulação. Esse processo repetitivo deixava uma crosta nas paredes do odre, a qual era constituída em grande parte por um aglomerado de microrganismos vivos com aparência de couve-flor, que se adaptavam ao meio e nele se propagavam (WESCHENFELDER, 2016; LIU; MOON, 2002).

Segundo Leite *et al.* (2013a) a bebida Kefir é um produto oriundo de uma dupla fermentação. Durante a fermentação láctica, à temperatura ambiente (25 – 35° C), ocorre uma proteólise do leite, na qual as proteínas são desdobradas em peptídeos menores, levando ao acúmulo de aminoácidos. A hidrólise parcial da proteína torna a bebida de mais fácil digestão quando comparada ao leite que lhe deu origem. Na fase de maturação, à temperatura de refrigeração, ao mesmo tempo em que o álcool e o CO₂ são produzidos, acontece o acúmulo de vitaminas do complexo B que são característicos do metabolismo das leveduras presentes no processo (SANTOS *et al.*, 2012). Em consequência, o Kefir apresenta boas concentrações de ácidos láctico, acético e glucônico, etanol, vitamina B₁₂, gás carbônico e polissacarídeos, que lhe conferem características sensoriais bem peculiares (WESCHENFELDER *et al.*, 2011; LEITE *et al.*, 2013b; LEITE *et al.*, 2012).

De acordo com Leite *et al.* (2013a), Leite *et al.* (2013b) e Weschenfelder (2016) no Brasil não há a comercialização de Kefir sendo o seu consumo ainda caseiro e o principal obstáculo para ampliação da produção é a dificuldade de padronização do produto, uma vez

que a constituição microbiológica variável dos grãos de Kefir pode resultar em leites fermentados com características distintas entre um lote e outro, apresentando-se como um entrave para a comercialização. No entanto, a bebida tem sido comercializada em muitos países como Rússia, Canadá, Alemanha, Suécia e Romênia.

O Kefir pode ser considerado biologicamente seguro, devido à ação das bactérias ácido lácticas presentes nos grãos que hidrolisam a lactose e produzem ácido lático, o qual age como um conservante natural (LEITE *et al.*, 2013b; WESCHENFELDER *et al.*, 2011). Além disso, também tem sido comprovado seus efeitos probióticos, atividade terapêutica contra o carcinoma colorretal, retardo do desenvolvimento do cancro da mama (PAWLOS *et al.*, 2016), atividades antitumoral (LIU e MOON, 2002), angiogênica, anti inflamatória (PRADO *et al.*, 2016) e cicatrizantes (HUSEINI *et al.*, 2012).

2.4.1 Grãos de Kefir

Os grãos de Kefir possuem formas irregulares e superfície multilobular, podem variar em tamanho de 0,3 a 3 cm de diâmetro, são amarelos ou esbranquiçados, lembrando pequenas couves-flores (LEITE *et al.*, 2013b; WESCHENFELDER, 2009) e se multiplicam conforme vão sendo cultivados.

Eles atuam em diversas matérias-primas, como leite de vaca, cabra, ovelha e búfala, açúcar mascavo, sucos de frutas, extrato de soja, entre outras. A produção da bebida ocorre diretamente pela adição dos grãos no substrato de preferência, mas, em geral, o sabor e o aroma do Kefir são resultados da atividade metabólica simbiótica das bactérias e das leveduras que os compõem (SANTOS *et al.*, 2012).

São compostos de microrganismos entre os quais estão as bactérias ácido lácticas (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, e *Streptococcus* spp.), bactérias ácido acéticas (*Acetobacter*) e leveduras (*Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Candida* e *Torula*), misturadas a caseína e açúcares (PUERARI, MAGALHÃES; SCHWAN, 2012). No entanto, a composição populacional tende a variar de acordo com a origem dos grãos como também com o método de cultivo e substrato adicionado (LEITE *et al.*, 2012).

Leite *et al.*, (2013b), que fez uma revisão das propriedades microbiológicas, tecnológicas e terapêuticas do Kefir, afirmou que devido a associação simbiótica microbiana presente nos grãos, é difícil cultivar esses microrganismos porque quando isolados em culturas puras eles não se desenvolvem em leite ou tem diminuição da sua bioatividade. Isso quer dizer que mesmo com a presença de todos os microrganismos e dos próprios grãos, não

foi alcançada sua formação espontânea em laboratório. Novos grãos de Kefir só se originam da multiplicação ou da repartição de grão pré-existentes (WESCHENFELDER, 2009).

A multiplicação ocorre, primeiramente, pelo o aumento de tamanho seguido pela subdivisão em novos grãos, o que mantém o mesmo equilíbrio microbiológico presente inicialmente. De acordo com Farnworthe (2005), o seu crescimento depende de muitos fatores, por exemplo, os grãos se desenvolvem mais rapidamente quando não são lavados; quando não são pressionados na peneira e quando o frasco de fermentação é agitado periodicamente durante o processo. Já em operações comerciais é recomendado que os grãos de Kefir sejam mantidos viáveis por propagações diárias, devendo ser substituídos caso os microrganismos não promovam mais a fermentação do leite (FARNWORTH, 2005).

A estrutura dos grãos de Kefir é composta por uma matriz de polissacarídeo chamado Kefiran ou Kefirano, que é produzido pelas bactérias ácido lácticas homofermentativas (ORDOÑEZ, 2005). O Kefiran é uma solução aquosa contendo quantidades iguais de D-glucose e D-galactose, que atua como uma matriz sustentadora entre diversos componentes do grão (LEITE *et al.*, 2013b; MAGALHÃES, 2010), além disso, tem ação bactericida, antitumoral (PUERARI, MAGALHÃES; SCHWAN, 2012), angiogênica e antiinflamatória (PRADO *et al.*, 2016).

2.4.2 Características do Kefir

✓ Químicas

Os principais produtos formados durante a fermentação do Kefir são o ácido láctico, o CO₂ e o álcool (OTLES; CAGINDI, 2003), cujas quantidades podem variar conforme as matérias-primas, a microbiota, a idade dos grãos e a tecnologia utilizada no processamento.

Geralmente o Kefir apresenta as seguintes características: 86,3 % de umidade, 0,8 % de ácido láctico; 0,08 a 2,0 % de álcool, 6,0 % de açúcar, 4,5 % de proteína, 1,2 % de cinzas, conteúdo de gordura dependente do leite utilizado, pH entre 4,2 e 4,6; (LIUTKEVICIUS; SARKINAS, 2004; SARKAR, 2007); textura macia, sabor ácido e picante, resultando numa bebida muito refrescante (BALDISSERA *et al.*, 2011). Como o

carboidrato presente no leite é a lactose, as quantidades de CO₂ e etanol produzidos durante a fermentação são relativamente baixas (CARNEIRO, 2010).

✓ Nutricionais

O Kefir contém minerais, vitaminas e aminoácidos essenciais que auxiliam no tratamento e manutenção das funções do corpo (CARNEIRO, 2010). É fonte de aminoácidos essenciais, como triptofano, precursor do neurotransmissor serotonina, boa fonte de fósforo, segundo mineral mais abundante no corpo, que auxilia na utilização de carboidratos, lipídeos e proteínas para o crescimento celular, manutenção e energia (OTLES; CAGINDI, 2003).

A composição de nutrientes é determinada pelo tipo de leite e pela microbiota dos grãos. Kneifel; Mayer (1991) usaram 10 diferentes culturas de grãos de Kefir e leites de vaca, ovelha, cabra e égua e produziram Kefir em condições de laboratório. Eles observaram que a concentração de vitaminas solúveis em água aumentou para igual ou mais que 20% em tiamina (Kefir de leite de ovelha), piridoxina (Kefir de todas as espécies de leite, exceto de leite de vaca) e ácido fólico (Kefir de todas as espécies de leite, exceto de leite de égua). Fil'chakova; Koroleva, (1997) observaram que houve aumento no teor de proteína, quando os grãos de Kefir foram cultivados em soro de leite.

A presença de *Propionibacterium peterssoni* e *Propionibacterium pituitosuu* provocou uma diminuição no teor de vitamina B12 da bebida, enquanto que *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* levou ao decréscimo de vitamina B12 e ácido fólico e leve aumento de ácido pantotênico e vitamina B6, evidenciando a influência da microbiota na composição nutricional do Kefir (SARKAR, 2007).

Durante a fermentação do leite há uma mudança no perfil de aminoácidos, que leva a um aumento da quantidade de treonina, serina, alanina, lisina e amônia no Kefir (SARKAR, 2007).

A composição química e nutricional do Kefir é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição química dos valores nutricionais do leite fermentado Kefir

Componentes	100 g	Componentes	100 g
Energia	65 kcal	Conteúdo mineral (g)	
Gordura (%)	3,5	Cálcio	0,12
Proteína (%)	3,3	Fosforo	0,10
Lactose (%)	4,0	Magnésio	12,0

Umidade (%)	87,5	Potássio	0,15
		Sódio	0,05
Acidez do leite (g)	0,8	Cloreto	0,10
Álcool (g)	0,9		
Ácido láctico (g)	1,0	Elementos traços	
Colesterol (mg)	13,0	Ferro (mg)	0,05
Aminoácidos essenciais (g)		Molibdênio (µg)	5,5
Triptofano	0,05	Manganês (µg)	5,0
Fenilalanina + Tirosina	0,35	Zinco (mg)	0,36
Leucina	0,34		
Isoleucina	0,21	Compostos aromáticos	
Treonina	0,17	Acetaldeído	
Metionina + cisteína	0,12	Diacetil	
Lisina	0,27	Acetona	
Valina	0,22		
Vitaminas (mg)			
A	0,06	Complexo B	1,21
C	1,0	E	0,11

Fonte: Otles; Cagindi (2003).

✓ Microbiológicas

A bebida Kefir contém bactérias ácido lácticas (BAL) fisiologicamente distintas que geralmente são descritas como gram-positivas, com morfologia de cocos não esporulados ou bastonetes, pertencentes aos gêneros *Lactobacillus*, tais como *L. delbrueckii* subespécie *Bulgaricus*, *L. Helveticus*, *L. Kefiranofaciens* subespécie *Kefiranofaciens*, *L. Kefiranofaciens* subespécie *Kefirgranum* e *L. acidophilus*; *Lactococcus*, Tais como *L. lactis* subespécie *Lactis* e *L. lactis* subespécie *Cremoris*; *Leuconostoc*, *Pediococcus* e *Streptococcus* (LEITE *et al.*, 2012; MAGALHÃES, 2010).

Elas são de grande importância na conservação de alimentos fermentados porque, ao se multiplicarem, convertem o principal carboidrato do leite em ácido láctico, o que resulta na diminuição do pH do meio, podendo também produzir bacteriocinas, as substâncias que possuem atividade antimicrobiana contra patógenos e deteriorantes (LEITE *et al.*, 2013b; LIMA, 2011), além de contribuírem para digestão da lactose em indivíduos intolerantes a esse carboidrato (FERNANDES, 2013).

Várias pesquisas indicam que a concentração dos microrganismos varia consideravelmente nos grãos de Kefir, na cultura mãe e na bebida. Segundo Montanuci

(2010) a variação da microbiota se deve a alguns fatores como, as condições durante a fermentação e a localização dos microrganismos nos grãos.

Os grãos são compostos por cerca de 80% de *Actococcus* e *Leuconostoc* spp., 10-15% de leveduras e 5-10% de lactobacilos. Enquanto os lactobacilos são responsáveis pela produção de ácido láctico, as leveduras, incluindo espécies de *Candida*, *Kluyveromyces* e *Saccharomyces*, produzem compostos que tornam a bebida peculiar (REIS, 2013).

Embora as bactérias sejam mais estudadas, as leveduras têm um importante papel na fabricação de leites fermentados, uma vez que modificam o meio criando condições para o crescimento bacteriano e produzem metabólitos que contribuem com o sabor do Kefir (FARNWORTH, 2005; VILJOEN, 2001).

2.5 Aspectos Legais

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, leites fermentados são definidos como sendo os produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidas pela coagulação e diminuição do pH do leite, ou reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de microrganismos específicos, os quais devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade (BRASIL, 2007). Iogurte, leite fermentado, leite acidófilo, Kefir, kumys e coalhada são exemplos desse tipo de produto.

Kefir, especificamente, é definido como um tipo de leite fermentado cuja fermentação é realizada com o cultivo ácido láctico elaborado com grãos de Kefir, *Lactobacillus Kefir*, espécies dos gêneros *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Acetobacter* com produção de ácido láctico, etanol e dióxido de carbono. Os grãos de Kefir são constituídos por leveduras fermentadoras de lactose (*Kluyveromyces marxianus*) e leveduras não fermentadoras de lactose (*Saccharomyces omnispurus* e *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces exiguus*) e *lactobacillus casei*, *Bifidobacterium sp* e *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* (BRASIL, 2007).

No Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados são descritos os requisitos físico-químicos para os leites fermentados. Em relação ao teor de gordura esses produtos podem ser classificados como: com creme (mínimo de 6%), integral (3% a 5,9%), parcialmente desnatado (0,6% a 2,9%) e desnatado (máximo de 0,5%), apresentando teor de proteína de no mínimo 2,9% (BRASIL, 2007). O Kefir, particularmente, deve possuir acidez em percentual de ácido láctico menor que 1% e conteúdo de etanol entre

0,5% e 1,5%, além de contagem de bactérias lácticas totais de no mínimo 10^7 UFC/g e contagem de leveduras específicas de no mínimo 10^4 UFC/g (BRASIL, 2007). Em relação aos critérios microbiológicos, o Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos estabelece que para leite fermentado com ou sem adições, refrigerado, e com bactérias lácticas viáveis a quantidade de coliforme termotolerante (45°C) não deve ultrapassar 10 UFC/g (BRASIL, 2001).

2.6 Adição de Frutas em Leites Fermentados

As frutas são conceituadas como fontes importantes de micro e macronutrientes, podendo conter também outros componentes com propriedades bioativas, que podem promover benefícios adicionais à saúde e protegem o corpo humano contra diferentes doenças crônicas (DEMBITSKY *et al.*, 2011).

Ao longo dos anos, o setor agroindustrial tem desenvolvido novas tecnologias no processamento de frutas para minimizar as perdas de produção, reduzir o impacto ambiental de uma quantidade crescente de resíduos agroindustriais gerados em todo o mundo e aumentar a taxa de utilização de alimentos (MELO *et al.*, 2015).

Bebidas baseadas em frutas e derivados de leite estão, atualmente, recebendo atenção considerável devido ao potencial crescimento do seu mercado, pois além de sensorialmente agradáveis, estas bebidas possuem elevado valor nutritivo (SANTOS *et al.*, 2008a). Na literatura há diversos exemplos do desenvolvimento de leites fermentados adicionados de frutas como manga (SANTOS *et al.*, 2008b), goiaba (GALLINA *et al.*, 2012) e umbu (GARCIA; TRAVASSOS, 2012), entre outras.

2.7 Açaí (*Euterpe oleracea* Mart)

O Brasil é o principal produtor, consumidor e exportador do açaí. Esse fruto é comercializado e consumido pela população local nas regiões produtoras do Pará, Maranhão, Amapá, Acre e Rondônia (PORTINHO, ZIMMERMANN; BRUCK, 2012), sendo utilizado como matéria-prima para a obtenção do suco de açaí (MENEZES *et al.*, 2011).

O açaí (*Euterpe oleracea* Mart) é uma baga globosa, fibrosa com 0,5 cm de diâmetro, de cor pardo-violácea, contendo uma polpa oleaginosa e comestível, a semente possui o endocarpo duro e fibroso. Quando completamente maduro, é recoberto por uma capa branca acinzentada (SANTOS *et al.*, 2008a).

A polpa do açaí tem sido objeto de estudos em função de seu valor nutritivo e sensorial, além de ser considerada como um alimento funcional face ao seu rico conteúdo de antocianinas, compostos com propriedades antioxidantes, e por apresentar propriedades farmacológicas e medicinais, incluindo anticarcinogênica, antiinflamatória e antimicrobiana, prevenindo a oxidação de proteínas de baixa densidade, enfermidades cardiovasculares e doenças neurológicas (GARZÓN *et al.*, 2017; COUTINHO *et al.*, 2017; MENEZES; TORRES; SRUR, 2008).

Além do alto teor de antocianinas, o açaí é uma importante fonte de lipídios, carboidratos, proteínas, fibras, minerais (Mn, Fe, Zn, Cu, Cr) e vitaminas (PORTINHO, ZIMMERMANN; BRUCK, 2012; SANTOS *et al.*, 2008a).

Dentre os lipídios da polpa do açaí destacam-se os ácidos graxos essenciais Ômega 6 e Ômega 9, que são responsáveis pela sensação gordurosa da polpa e lhe conferem um alto valor energético (OLIVEIRA, COSTA; ROCHA, 2015).

Por ser rico em fibras, o açaí ajuda no trânsito intestinal e na promoção da saúde, uma vez que as fibras solúveis podem ajudar a reduzir o colesterol sanguíneo e as fibras insolúveis podem ajudar a reduzir o risco de desenvolvimento de certos tipos de câncer (OLIVEIRA, COSTA; ROCHA, 2015).

2.8 Estabilidade de Leites Fermentados

A vida útil ou vida de prateleira de um alimento se define como o tempo que transcorre até que o produto se torne inaceitável (POTTER; HOTCHKISS, 1999). Para produtos probióticos, por exemplo, ela engloba desde a etapa de produção e embalagem até o momento em que o produto esteja com o prazo de validade vencido, ou seja, impróprio para o consumo (HUNGRIA; LONGO, 2009). De acordo com Sivieri; Oliveira *et al.* (2002), o tempo geralmente estabelecido como ideal para vida útil de bebidas lácteas é 28 dias.

Segundo Gallina *et al.* (2012), a viabilidade e a estabilidade de culturas probióticas é o principal desafio tecnológico para as indústrias processadoras. Alimentos probióticos devem conter linhagens específicas de micro-organismos probióticos e manter um nível apropriado de células viáveis durante o armazenamento do produto, sem interferir no sabor e textura.

Em bebidas fabricadas com adição de microrganismos é importante que eles se mantenham viáveis durante a estocagem do produto. De acordo com Gallina *et al.* (2012), valores de pH abaixo de 4 são prejudiciais para a maioria das cepas probióticas reduzindo assim, a contagem das células viáveis de *Lactobacillus*. Outros fatores que podem acarretar diminuição ou interferência na viabilidade de microrganismos probióticos são controle inadequado da cultura, pontos falhos ou deficiência na manipulação ou até mesmo condições de estocagem incorretas (HUNGRIA; LONGO, 2009).

Oliveira *et al.* (2002) estudando os aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos observaram que as contagens de *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* e *L. rhamnosus* permaneceram estáveis após 14 dias de armazenamento em temperatura de 4 °C havendo alteração dos microrganismos no período de tempo após 28 dias. Ramos *et al.* (2013) ao estudarem a viabilidade de culturas probióticas em bebida láctea fermentada sabor cajá observaram que as formulações das bebidas avaliadas se mantiveram constantes quanto ao pH e acidez durante o período de 28 dias de armazenamento, demonstrando que possivelmente a polpa de cajá tenha contribuído para o aumento da estabilidade.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nos laboratórios de pesquisa, do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará (UFC), da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) Campus Fortaleza, localizados no município de Fortaleza – CE.

3.1 Materiais

A matéria-prima e os ingredientes utilizados para a preparação de leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí foram: leite UHT integral e açúcar cristal, grãos de Kefir oriundos da região de Toscana, Itália e que foram doados ao Laboratório de

Laticínios, da Universidade Federal do Ceará (UFC) e polpa de açaí pasteurizada, utilizada na forma descongelada. O leite UHT integral, o açúcar cristal e a polpa de açaí foram adquiridos no comércio do município de Fortaleza.

3.2 Método

3.2.1 Ativação dos grãos de Kefir

Para ativação dos grãos de Kefir, 336 g dos grãos de Kefir (FIGURA 1) mantidos em Leite Desnatado Reconstituído (LDR)10%, foram separados com auxílio de peneira (aço inoxidável) e lavados com água destilada, sendo o leite descartado.

Figura 1 – Grãos de Kefir para ativação



Fonte: Próprio autor (2017).

Em seguida, os grãos foram inoculados em 400 mL de leite UHT integral e mantidos a 25°C em estufa incubadora tipo BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio) por 24 horas. Este procedimento foi repetido cinco vezes com o intuito de aumentar a ação dos microrganismos dos grãos, em seguida, os mesmos foram utilizados na produção do leite fermentado conforme metodologia de Carvalho (2011) com adaptações.

3.2.2 Planejamento experimental do leite fermentado Kefir com adição de açaí

Para elaboração das formulações de leite fermentado Kefir, foi realizado planejamento experimental onde foram variados o tempo de fermentação e a concentração de polpa de açaí. Os níveis mínimo e máximo do tempo de fermentação e da concentração de polpa de açaí foram estabelecidos com base nos limites legais, dados da literatura e testes preliminares (TABELA 2).

Tabela 2 – Níveis das variáveis independentes do planejamento experimental

Variáveis independentes	Níveis		
	-1	0	1
Tempo de fermentação (h) - X ₁	24	36	48
Concentração de polpa de açaí (%) - X ₂	10	20	30

Fonte: Próprio autor (2017).

Foi empregado o fatorial 2², com ponto central repetido três vezes, totalizando sete ensaios (TABELA 3). Foi elaborada também uma formulação controle (F8) com 24 h de fermentação e 0 % de polpa de açaí a fim de realizar comparação entre as amostras. Para tanto o tempo de fermentação da formulação (F8) foi determinado baseando-se em literaturas onde o tempo de fermentação (24 h) é o período mais utilizado para produção de leite fermentado Kefir (FIORDA *et al.*, 2016; KAZAKOS *et al.*, 2016; LEITE *et al.*, 2013; NURLIYANI *et al.*, 2015; NOGUEIRA *et al.*, 2016).

Os dados obtidos no planejamento experimental foram tratados estatisticamente com auxílio do Protimiza Experimental Design. Aplicou-se a análise de variância (ANOVA) com o intuito de testar a adequação dos modelos gerados através da avaliação do coeficiente de determinação (R²) e do teste *F*.

Tabela 3 - Ensaios do planejamento experimental do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí

Amostra	Variáveis Codificadas		Variáveis Reais	
	X ₁	X ₂	Tempo de fermentação (h)	Concentração da polpa (% v/v)
F1	-1	-1	24	10
F2	-1	1	24	30
F3	0	0	36	20
F4	0	0	36	20
F5	0	0	36	20
F6	+1	-1	48	10
F7	+1	+1	48	30

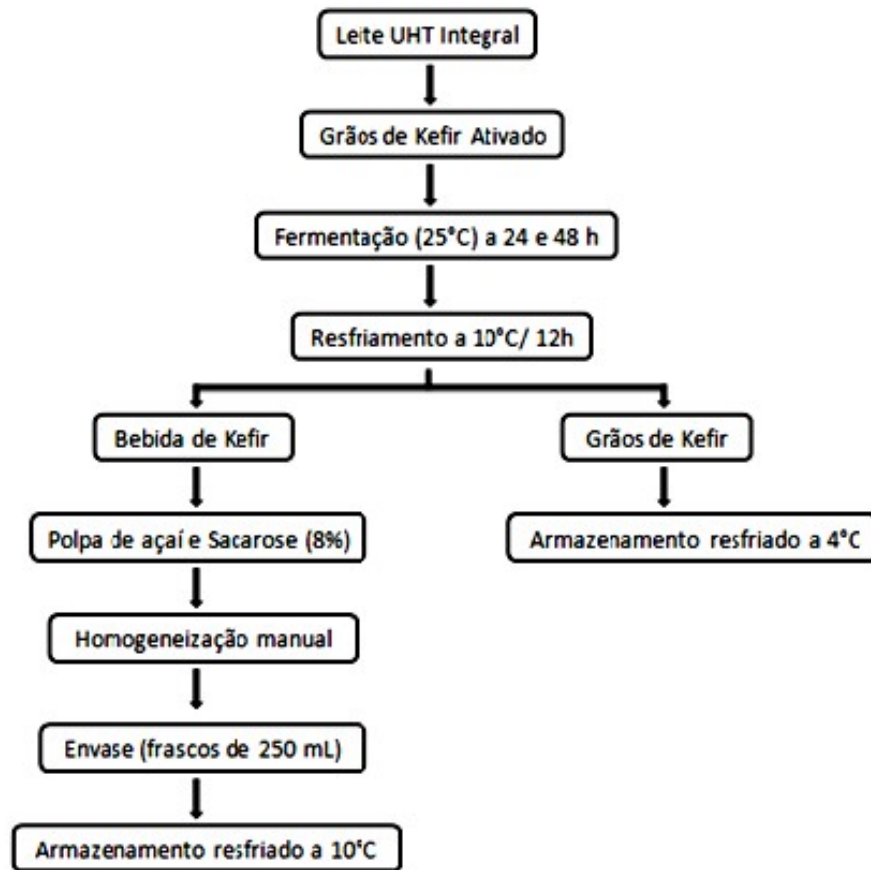
Fonte: Próprio autor (2017).

3.2.3 Elaboração do leite fermentado Kefir adicionado com polpa de açaí

As formulações do leite fermentado foram processadas no Laboratório de Laticínios, do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará – UFC (FIGURA 2).

O leite UHT integral foi inoculado com 2 % dos grãos de Kefir previamente ativados. A fermentação das formulações foram conduzidas em estufa incubadora tipo BOD a 25 °C nos tempos pré-estabelecidos. Durante a fermentação as amostras foram agitadas 4 vezes com o intuito de promover a dispersão dos microrganismos do grão no leite. Os grãos de Kefir foram separados do leite fermentado com auxílio de peneira de aço inoxidável, lavados com água destilada e preservados em LDR 10% sob resfriamento (4 °C). O leite fermentado foi adicionado de sacarose (8 % p/v) e das concentrações da polpa de açaí, sendo homogeneizado manualmente, por um minuto, com o auxílio de bastão de vidro. O produto foi distribuído em frascos de vidro de 250 mL (análises físico-químicas e microbiológicas) e em frascos de 1,5 Litros (análise sensorial), previamente esterilizados, e armazenados sob resfriamento a 10 °C (SEMENIUC *et al.*, 2016) com adaptações (FIGURA 2).

Figura 2 - Fluxograma da elaboração do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí



Fonte: Próprio autor (2017).

3.2.4 Análises físico-químicas

A determinação dos parâmetros físico-químicos foi realizada para caracterização das matérias-primas e do Kefir adicionado com polpa de açaí. Todas as análises foram realizadas em triplicata nos Laboratórios da Universidade Federal do Ceará (UFC), da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) Campus Fortaleza.

No leite foram avaliados pH (AOAC, 2016), Acidez Dornic (g de ácido lático / 100g), Densidade (g/mL), Gordura (%), Extrato Seco Total (%), Extrato Seco Desengordurado (%) e Índice Crioscópico (H°) segundo metodologias recomendadas pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

Na polpa de açaí foi determinado teores de Sólidos Solúveis Totais (SST - %), Acidez Total Titulável (ATT - %), pH e Umidade (%), segundo metodologias recomendadas pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

A determinação da atividade antioxidante total da polpa de açaí foi realizada através do método ABTS^{•+} segundo Re *et al.* (1999). Para tal, foi obtido, primeiramente, o extrato da amostra, para qual se pesou 2 g de polpa em tubos de falcon de 50 mL. Ao extrato foi adicionado 20 mL de etanol (50 %) e realizado repouso por uma hora em ambiente escuro. Essa mistura foi centrifugada a 15000 rpm por 15 minutos e filtrada em balão volumétrico âmbar de 50 mL. O material retido na filtração foi adicionado de 20 mL de acetona (70 %), mantido em descanso por uma hora e submetido a centrifugação em rotação de 15000 rpm por 15 min. Esse sobrenadante foi acrescentado ao que estava no balão, o qual foi completado com água destilada até atingir os 50 mL e a atividade antioxidante foi determinada no extrato da polpa.

A técnica baseia-se na produção direta do radical cromóforo ABTS^{•+} de cor azul esverdeada através da reação entre ABTS^{•+} [2,2'-azino-bis-(ácido 3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico)], e persulfato de potássio. O decréscimo da absorbância foi medida espectrofotometricamente a 734 nm. Foi utilizada uma curva padrão da solução padrão de Trolox 2 mM como referência e os resultados foram expressos em μM Trolox/ g amostra.

As amostras de Kefir adicionadas com a polpa de açaí foram analisadas quanto ao pH, Acidez Total Titulável (ATT - %), Sólidos Solúveis Totais (SST - %), Umidade (%), Cinzas (%), Gordura (%), segundo metodologia do IAL (2008) e Proteína pelo método de Kjeldahl (AOAC, 2016). A cor do produto foi analisada através do sistema de leitura dos parâmetros CIELAB e a viscosidade foi determinada pelo viscosímetro, modelo DV2T Viscometer com spindle RV/HA/HB-1, velocidade de 40 rpm, temperatura de 10 °C e sensor ULA.

3.2.5 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas nas matérias-primas (Kefir e polpa de açaí) e no produto final (leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí).

Na polpa de açaí, foram realizadas análises de contagem de coliformes termotolerantes a 45°C, pela técnica do Número Mais Provável com três tubos (NMP/mL) e pesquisa de *Salmonella* (UFC/g), de acordo com o que estabelece a Resolução RDC n°12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001), seguindo metodologia de Feng *et al.* (2013) e Andrews *et al.* (2016), respectivamente, relatadas no Bacteriological Analytical Manual – BAM da Food and Drug Administration – FDA.

No leite fermentado Kefir e no Kefir adicionado de polpa de açaí foi realizada contagem de coliformes termotolerantes a 45°C, pela técnica do NMP com três tubos (NMP/mL) seguindo o que indica a Resolução RDC nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001) e metodologia descrita por Feng *et al.*, 2013.

A contagem de bactérias ácido lácticas totais e de bolores e leveduras (UFC/g) foi realizada conforme o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (BRASIL, 2007), observando metodologias recomendadas pelo American Public Health Association – APHA (1992).

3.2.6 Análise sensorial

O projeto foi enviado ao Comitê de Ética da Universidade Federal do Ceará, e após a sua aprovação realizou-se a análise sensorial as amostras.

Os testes de Aceitação foram realizados no Laboratório de Enologia do Instituto de Cultura e Arte (ICA) da UFC, com 64 provadores não treinados, convidados aleatoriamente sem distinção de sexo e idade entre 17 a 60 anos. A divulgação da análise sensorial foi realizada por meio de cartazes afixados nos Blocos do Campus do Pici/UFC, com abordagem direta aos alunos.

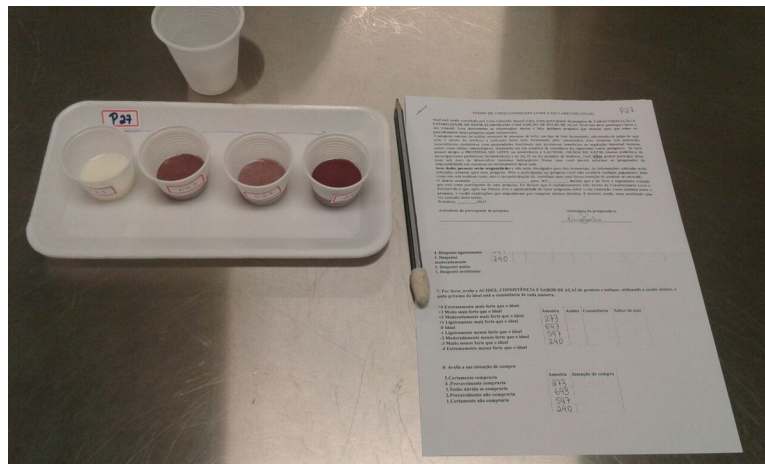
Antes da realização dos testes, foi entregue um questionário a fim de avaliar o perfil dos potenciais consumidores, arguindo sobre sua faixa etária, sexo, escolaridade, o quanto gostavam de leite fermentado e açaí, frequência e forma de consumo de produtos lácteos.

A apresentação das amostras foi realizada de forma monádica sequencial com as formulações codificadas com números aleatórios de três dígitos e servidas em copos plásticos descartáveis, em quantidade padronizada (15 mL), sob temperatura de resfriamento. Entre as amostras avaliadas, foi fornecida água à temperatura ambiente para limpeza do palato. A forma de apresentação das amostras de leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí está apresentada na Figura 3.

Foram aplicados três testes: aceitação que avaliou a cor, aparência, aroma, sabor, consistência e impressão global por meio da Escala Hedônica estruturada com nove pontos variando de 1 (desgostei muitíssimo) a 9 (gostei muitíssimo) segundo Garmus *et al.* (2016) com adaptações. Um teste de idealidade do produto com o intuito de determinar o ponto ideal para acidez, consistência e sabor de açaí através da Escala do Ideal composta de valores

mínimos (-1, +1: “ligeiramente menos ou mais forte”), valores máximos (-4, +4: “extremamente menos ou mais forte”) e um valor ideal (0) (DUTCOSKY, 2013; MINIM, 2013). Já o terceiro teste foi a intenção de compra estruturada de 1 (certamente não compraria) a 5 (certamente compraria) (DUTCOSKY, 2013; MINIM, 2013).

Figura 3- Apresentação das amostras de leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí



Fonte: Próprio autor (2017).

3.2.7 Análise estatística

Os resultados das análises físico-químicos e sensoriais receberam tratamento estatístico através do teste de Análise de Variância – ANOVA para determinação de significância estatística dos resultados através do auxílio do software Protimiza Experimental Design (PROTIMIZA, 2014). As médias obtidas para as amostras de Kefir adicionado de polpa de açaí foram comparadas através do teste de Tukey, com nível de significância de 5 % e os dados foram tratados com o auxílio do software Estatística 7.0 (STATSOFT, 2007).

3.2.8 Avaliação da estabilidade durante o armazenamento

A estimativa da vida útil do leite fermentado Kefir com adição de polpa de açaí foi estudada através da avaliação da estabilidade microbiológica (contagem de bactérias ácido lácticas totais e de bolores e leveduras segundo a metodologia recomendada pelo APHA (APHA (1992))). A estabilidade física, química e físico-química foi analisada por meio da mensuração de acidez (pH e acidez titulável), pela viscosidade e atividade antioxidante total

por meio do método ABTS^{•+}. Todas as análises foram realizadas em função do tempo de armazenamento (0, 17, 30 e 45 dias) sob resfriamento a 10 °C.

As análises microbiológicas foram realizadas em duplicata e as demais em triplicata.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Planejamento Experimental

Os resultados para acidez e viscosidade do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí podem ser observados na Tabela 4. Constatou-se que os valores para acidez variaram de 0,59 a 1,12 g/100 g de ácido láctico.

Tabela 4 – Ensaios e variáveis respostas do planejamento experimental do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí

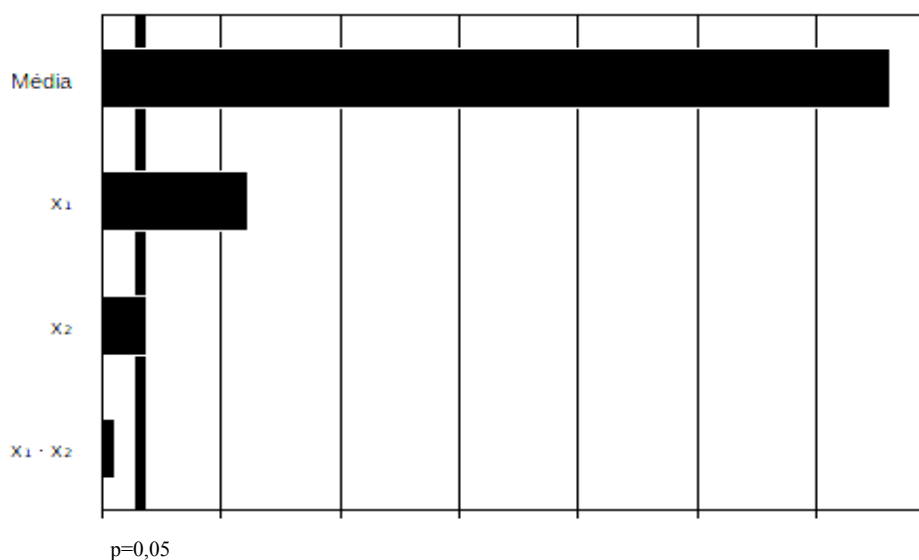
Amostra	Variáveis Codificadas		Variáveis Independentes		Variáveis Respostas	
	X ₁	X ₂	Tempo de fermentação (h)	Concentração da polpa (% v/v)	Acidez (g/100g de ácido láctico)	Viscosidade (cP) a 10° C
F1	-1	-1	24	10	0,69 ± 0,01	12,99 ± 0,06

F2	-1	1	24	30	$0,59 \pm 0,01$	$15,47 \pm 0,02$
F3	0	0	36	20	$0,78 \pm 0,02$	$25,83 \pm 0,06$
F4	0	0	36	20	$0,83 \pm 0,02$	$29,33 \pm 0,02$
F5	0	0	36	20	$0,85 \pm 0,01$	$27,52 \pm 0,03$
F6	+1	-1	48	10	$1,12 \pm 0,03$	$22,01 \pm 0,01$
F7	+1	+1	48	30	$0,98 \pm 0,01$	$32,88 \pm 0,00$

Fonte: Próprio autor (2017).

O ácido láctico produzido pelas bactérias ácido lácticas dos grãos de Kefir favorece o aumento da acidez do leite fermentado promovendo alterações físico-químicas durante a fermentação do leite (SATIR; GUZEL-SEYDIM, 2015). Os resultados correspondentes aos efeitos estimados para a variável acidez a nível de 5 % de significância mostrou que as variáveis independentes (tempo de fermentação e concentração de polpa de açaí) tiveram efeito significativo no estudo realizado (FIGURA 4). No entanto a interação entre as duas variáveis não foi estatisticamente significativa.

Figura 4 – Estimativa dos efeitos lineares das variáveis tempo de fermentação e concentração de polpa de açaí sobre a acidez do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.



Fonte: Próprio autor (2017).

Legenda: X₁ = Tempo de fermentação (h); X₂ = Concentração de polpa de açaí (%). Valores significativos a p ≤ 0,05.

O modelo estatístico reduzido propostos para representar a acidez do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí está descrito na equação 1.

$$A = 0,84 + 0,20 (X_1) - 0,06 (X_2) \quad (1)$$

Onde: A = acidez (g/100g de ácido láctico); X_1 = Tempo de fermentação (h); X_2 = Concentração de polpa de açaí (%).

Os resultados para a análise de variância (ANOVA) do modelo de regressão escolhido para acidez aparente do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí estão dispostos na Tabela 5.

Avaliando os resultados obtidos após a aplicação da ANOVA, observou-se que o modelo de regressão para acidez foi significativo em nível de 95 % de confiança (F calculado superior F tabelado) com coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,9890; evidenciando que o modelo explicou 98,9 % da variação dos dados experimentais. Além disso, a falta de ajuste não foi significativa, demonstrando que o modelo pode ser considerado preditivo.

Tabela 5 – Análise de variação (ANOVA) do modelo de regressão para acidez aparente do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí

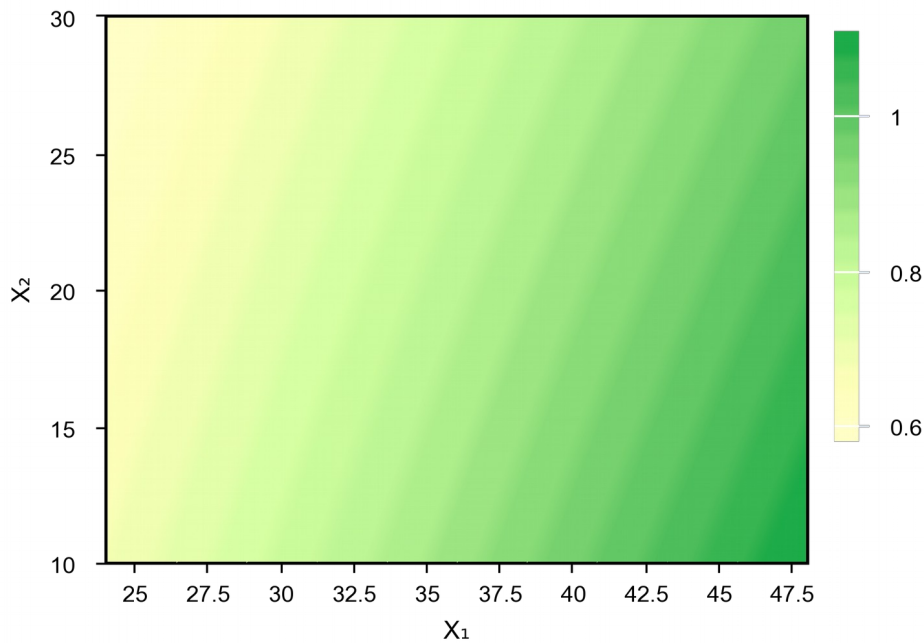
Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F calculado	F tabelado
Regressão	0,2	3	0,1	54,3	9,3
Resíduos	0,0	3	0,0		
Falta de Ajuste	0,0	1	0,0	1,8	18,5
Erro Puro	0,0	2	0,0		
Total	0,2	6			

Fonte: Próprio autor (2017).

Legenda: (R^2) = 98,9 %.

As curvas de contorno geradas por meio do modelo proposto confirmaram a análise de efeitos, permitindo visualizar a variação da resposta para os parâmetros estudados (tempo de fermentação e concentração de polpa). Observou-se que as variáveis independentes influenciaram na variável dependente acidez, à medida que o tempo de fermentação aumentou e a concentração de polpa diminuiu, a acidez também aumentou (FIGURA 5).

Figura 5 – Curvas de contorno para a acidez do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí em função do tempo de fermentação e da concentração de polpa de açaí

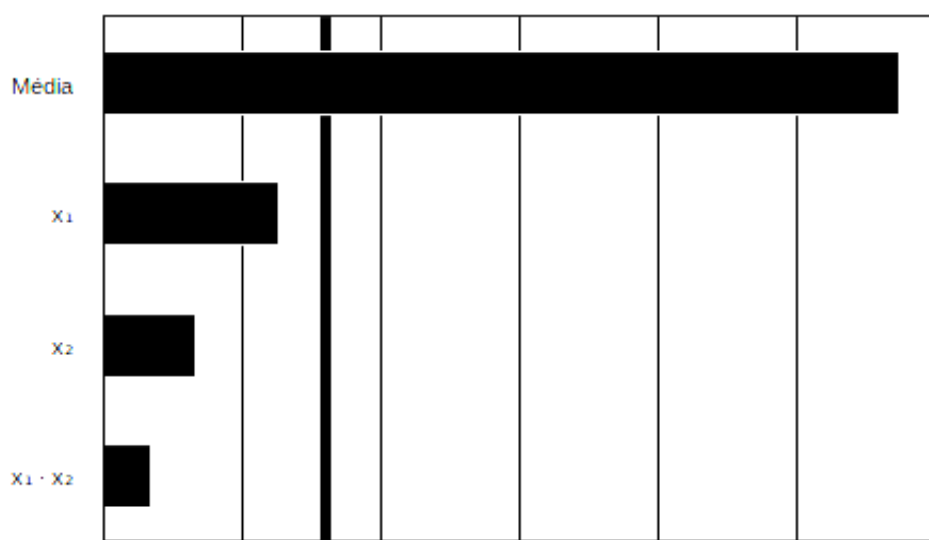


Fonte: Próprio autor (2017).

Legenda: X_1 = Tempo de fermentação (h); X_2 = Concentração de polpa de açaí (%). Valores significativos a $p \leq 0,05$.

A viscosidade aparente é uma característica importante para o leite fermentado Kefir (SADIAH; NURLAELASARI; HANDAYANI, 2017). Os valores encontrados para viscosidade foram de 12,99 a 32,88 cP (TABELA 4). As variáveis tempo de fermentação e concentração de polpa de açaí não demonstraram ter efeito estatístico a nível de 5 % de significância sobre este parâmetro (FIGURA 6).

Figura 6 – Estimativa dos efeitos lineares das variáveis tempo de fermentação e concentração de polpa de açaí sobre a viscosidade do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí



p=0,05

Fonte: Próprio autor (2017).

Legenda: X_1 = Tempo de fermentação; X_2 = Concentração de polpa de açaí. Valores significativos a $p \leq 0,05$.

Os valores obtidos na análise de variância (ANOVA) do modelo de regressão para a viscosidade do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6 - Análise de variância (ANOVA) do modelo de regressão para viscosidade aparente do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí

Fonte de Vari- ação	Soma dos Quadrados	Graus de Li- berdade	Quadrado Médio	F calculado	F tabelado
Regressão	236,8	3	78,9	2,6	9,3
Resíduos	89,4	3	29,8		
Falta de Ajuste	81,3	1	81,3	20,3	18,5
Erro Puro	8,0	2	4,0		
Total	326,1	6			

Fonte: Próprio Autor (2017).

Legenda: $(R^2) = 72,60 \%$.

Analisando os valores gerados na análise de variância (ANOVA) do modelo de regressão para a viscosidade aparente (TABELA 6), observou-se que o coeficiente de determinação (R^2) foi 0,7260, confirmando que o modelo explicou 72,60 % das variáveis experimentais. No entanto, não houve significância em nível de 95 % de confiança devido o F calculado ter apresentado-se inferior ao F tabelado e a falta de ajuste expressou-se significativa, indicando que o modelo escolhido não foi preditivo.

4.2 Análises Físico-Químicas

4.2.1 Caracterização das matérias-primas

Na Tabela 7 são apresentados os parâmetros físico-químicos avaliados no leite UHT integral.

Os parâmetros físicos, químicos e físico-químicos avaliados no leite UHT integral encontraram-se dentro dos requisitos estabelecidos pela Portaria nº 146 de 1996, que define os padrões do regulamento técnico de identidade e qualidade do leite UHT (BRASIL, 1996), com exceção do teor de sólidos não-gordurosos, o qual se apresentou inferior ao exigido pela legislação, que estabelece mínimo de 8,2 %. O teor médio de sólidos não-gordurosos encontrado no leite analisado foi de 8,07 % (TABELA 7). Honorio *et al.* (2015) ao estudarem o efeito do armazenamento na qualidade do leite UHT, consideraram válido o resultado de 8,02 % para o teor de sólidos não gordurosos nos primeiros trinta dias de armazenamento de uma das marcas de leite avaliadas. Os demais parâmetros foram similares aos resultados de outros autores (ROSA *et al.*, 2015; CAMARA ; WESCHENFELDER, 2014; VESCONSI *et al.*, 2012).

Tabela 7 – Valores médios e desvios-padrão da caracterização do leite UHT integral

Parâmetros	Leite UHT integral	Portaria nº 146 de 1996	Instrução Normativa nº 62 de 2011
pH	6,61 ± 0,01	----	----
Acidez (g de ácido láctico /100g)	0,16 ± 0,46	0,14 a 0,18	----
Densidade a 15° C (g/L)	1,03 ± 0,01	----	1,028 a 1,034
Gordura (%)	3,01 ± 0,15	Min. 3,0	----
Extrato seco total (%)	10,91 ± 0,06	----	Min. 11,5
Extrato seco desengordurado (%)	8,07 ± 0,01	Min. 8,2	----
Índice Crioscópico (°C)	-0,527	----	-0,512 a -0,531

Fonte: Próprio autor (2017).

A acidez do leite, determinada pelas análises de pH e acidez titulável, demonstrou que não houve aumento da produção de ácido láctico, pois o mesmo estava dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação. Camara e Weschenfelder (2014) ao estudarem a

avaliação da rotulagem nutricional e os padrões de identidade e qualidade do leite UHT integral, afirmaram que a acidez é um parâmetro importante para avaliar a conservação do leite, uma vez que, quando evidenciada fora dos padrões, o alimento é considerado inapropriado para o consumo.

A Portaria nº 146 de 1996 (Brasil, 1996) não exige que seja realizado as análises de densidade a 15 °C, extrato seco total (EST) e índice crioscópico, para entanto esses parâmetros foram comparados com Instrução Normativa nº 62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (Brasil, 2011). A densidade do leite representada a 15 °C (1,029 g/mL) estava dentro dos padrões vigentes na legislação (TABELA 7). Este parâmetro é considerado indicativo na detecção de fraude por adição de soro ou água e ainda pode ser utilizado na determinação do extrato seco total em leites (ROSA *et al.*, 2015).

O extrato seco total (EST) ajuda a determinar a qualidade do leite porque a sua determinação pode indicar alterações na matéria-prima (CAMARA; WESCHENFELDER, 2014). No leite estudado, o EST foi 10,9 % (TABELA 7) podendo ser considerado abaixo do mínimo permitido pela Instrução Normativa nº 62 de 2011 que estabelece um mínimo de 11,5 % para leite cru resfriado (BRASIL, 2011). No entanto como a comparação foi realizada em parâmetros estabelecidos para leite resfriado cru, o resultado encontrado na pesquisa pode ser considerado satisfatório, já que durante o processamento térmico do leite ocorre diminuição de sólidos. Resultados semelhantes ao desta pesquisa foram observados por Domareski *et al.* (2010) ao estudarem a avaliação físico-química e microbiológica do leite UHT comercializado em três países do Mercosul. Os autores afirmaram que os baixos valores do EST indicaram que houve redução no teor dos sólidos do leite como proteína e lactose.

O Índice crioscópico da matéria-prima, por sua vez, foi (-0,527 °C) (TABELA 7). Tal resultado encontra-se de acordo com parâmetros estabelecidos pela Normativa nº 62 de 2011, que determina variação na faixa de -0,512 a -0,531 °C (BRASIL, 2011). Valores diferentes foram observados por Honorio *et al.* (2015) em uma das marcas de leite UHT estudada. Os autores concluíram que componentes como, alguns minerais, certas proteínas solúveis, lactose e cloreto podem influenciar na redução do ponto de congelamento.

Os resultados da caracterização da polpa de açaí utilizada como matéria-prima para elaboração do leite fermentado Kefir adicionado de polpa foram comparados com Instrução Normativa nº 01 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (Brasil 2000), que estabelece os padrões de identidade e qualidade para o açaí (TABELA 8).

Tabela 8 – Valores médios e desvios-padrão da caracterização da polpa de açaí

Parâmetros	Polpa de açaí	Normativa nº 01 de 2000
pH	5,22 ± 0,03	4,0-6,2
Acidez (g de ácido cítrico/100g)	0,29 ± 0,01	0,27-0,45
Sólidos solúveis totais (°Brix)	2,36 ± 0,05	40,0 a 60,0
Umidade (%)	85,15 ± 0,22	---
Antioxidante ABTS ⁺⁺ (µM Trolox/ g amostra)	6,57 ± 0,49	---

Fonte: Próprio autor (2017).

Os parâmetros constatados para acidez e pH foram 0,29 g/100g e 5,22, respectivamente (TABELA 8), estes encontravam-se de acordo com a legislação. Coutinho *et al.* (2017) e Freitas *et al.* (2015), ao estudarem as características físico-químicas, bromatológicas e microbiológicas de polpa de açaí congeladas do tipo B também observaram valores permitidos pela legislação.

A umidade da polpa de açaí foi 85,6% (TABELA 8), o que se era de esperar, visto que a mesma é um alimento que poder ser adicionado água durante o processamento. De acordo com Yuyama *et al.* (2011) a umidade é um ponto que pode sofrer variação decorrente de vários fatores como, desenvolvimento de mecanismos de adaptação morfológica e anatômica, dinamismo entre os ambientes, mudanças climáticas e ciclos de produção agrícola. Os referidos autores obtiveram valores aproximados ao da polpa pesquisada, ao estudarem a caracterização físico-química do suco de açaí oriundo de diferentes ecossistemas amazônicos (YUYAMA *et al.*, 2011).

O teor de sólidos solúveis totais, expressos em °Brix foi em torno de 2,36 °Brix (TABELA 8). Este parâmetro se encontra abaixo do permitido pela legislação que preconiza um valor mínimo de 40,0 °Brix, porém pode ser justificado devido à adição de água no processo de produção da polpa acarretando diluição dos constituintes da fruta (OLIVEIRA; SANTOS, 2011) já que a polpa utilizada na pesquisa foi adquirida na forma comercial. Valores semelhantes foram observados por Freitas *et al.* (2015) e Carvalho *et al.* (2016) o qual estudaram a composição química e capacidade antioxidante de genótipos de açaí de polpas comerciais.

O resultado da atividade antioxidante total para a polpa de açaí foi 6,57 µM Trolox/g amostra (TABELA 8). Esse resultado pode ter sido influenciado pelo tratamento térmico e adição de água durante o processamento do fruto. Gordon *et al.* (2012) após realizarem a caracterização química e avaliação de propriedades antioxidante de frutos de açaí durante o amadurecimento, encontraram um valor de 2,78 µM Trolox por 100 g de

amostra seca em frutos maduros. Os autores afirmaram que esta capacidade antioxidante está de acordo com valores encontrados para diferentes polpas de açaí comerciais. O mesmo não foi encontrado por Carvalho *et al.* (2017) ao determinar a atividade antioxidante do fruto açaí.

4.2.2 Caracterização do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí

Os parâmetros com suas médias para a caracterização do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí estão distribuídos na Tabela 9.

De acordo com a caracterização físico-química das formulações de leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí (TABELA 9), observou-se que, os parâmetros gordura e proteína atenderam a legislação, visto que o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (BRASIL, 2007) estabelece faixa limite de 3,0 a 5,9% (m/m) de gordura para o produto integral e de 0,5 a 2,9% para produto semidesnatado e mínimo de 2,9% (m/m) de proteínas. Em estudo semelhante, Semeniuc *et al.* (2016) analisaram a caracterização físico-químicas de Kefir adicionado de xarope de pinheiro, observando teor de proteína de 3,83 %, teor de gordura de 3,45 % e acidez de 0,927 %. Zelovitis *et al.* (2016) quando avaliaram a fabricação de leite fermentado funcional com adição de extrato de plantas, também obtiveram resultados semelhantes.

Para o parâmetro pH, as formulações (F1, F2, F6, F7 e F8) diferiram significativamente entre si ao nível de 5 % de significância (TABELA 9). No entanto a amostra F6 foi a que apresentou o pH mais baixo (3,96 %). Tal resultado pode ser explicado pelo tempo de fermentação e a concentração de polpa adicionada à formulação após a fermentação, pois o aumento do tempo de fermentação e a baixa concentração de polpa de açaí podem ter favorecido o decréscimo deste parâmetro. Valores mais elevados de pH foram observados por Semeniuc *et al.* (2016) e Nogueira *et al.* (2016) quando adicionaram concentrações maiores de polpa em fermentado de Kefir. Kazakos *et al.* (2016) ao analisarem a produção de bebidas de frutas com baixo teor alcoólico através da fermentação de romã e suco de laranja com grãos de Kefir obtiveram variações nos valores de pH (3,15 a 3,45 %).

Todos os teores de sólidos solúveis totais (°Brix), foram significativos entre si ($p < 0,05$). Nogueira *et al.* (2016) e Nurliyane *et al.* (2015) também observaram variações de °Brix entre as amostras de Kefir avaliadas por eles. Já Corona *et al.* (2016) ao estudarem a caracterização de bebidas tipo Kefir produzidas a partir de sucos de vegetais observaram diminuição do °Brix em amostras analisadas. Os autores correlacionaram esta diminuição com a de ácido láctico, etanol e CO₂ nas bebidas (TABELA 9).

Os teores de cinzas das amostras avaliadas não apresentaram diferença estatística em nível de 5% de significância (TABELA 9) estando de acordo com os resultados apontados por Zelovitis *et al.* (2016) que em seu estudo encontraram teor de cinza de 0,72 a 0,76 %.

Na análise de umidade, apenas a amostra F1 diferiu significativamente ($p < 0,05$) apresentando o menor valor médio com 81,81% (TABELA 9). A umidade de um alimento está diretamente associada a sua estabilidade, por tanto os leites fermentados Kefirs elaborados caracterizaram-se como leites fermentados de alta umidade.

Para atividade antioxidante total, observou-se que os resultados foram (0,90 a 3,52 $\mu\text{M Trolox/g}$), o que podem ser explicado pelo tempo de fermentação e concentração da polpa adicionada ao leite fermentado, uma vez que os valores diferiram com os aumentos do tempo de fermentação e concentração de polpa como podem ser observados nas formulações (F7, F2 e F4) com 3,58; 2,20 e 2,01 $\mu\text{M Trolox/g}$ de amostra respectivamente (TABELA 9). No entanto, todas as formulações diferiram significativamente em nível de 5 %. Chunchom; Talubmook; Deeseenthum (2017) após estudarem a atividade antioxidante de componentes bioquímicos e toxicidade sub crônica de diferentes pós de Kefir em arroz integral.

Tabela 9 – Valores médios e desvios-padrão da caracterização do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí

Parâmetros	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
pH	4,36±0,01 ^c	4,51±0,01 ^a	4,17±0,00 ^d	4,15±0,01 ^{de}	4,12±0,01 ^e	3,96±0,01 ^g	4,04±0,01 ^f	4,48±0,01 ^b
Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	14,40±0,00 ^a	12,70±0,00 ^d	13,93±0,06 ^c	13,80±0,00 ^e	13,57±0,06 ^f	13,70±0,00 ^e	14,17±0,06 ^b	13,53±0,49 ^f
Ácido Total Titulável (g ácido láctico/ 100 g amostra)	0,69±0,01 ^e	0,59±0,01 ^f	0,78±0,02 ^d	0,83±0,02 ^{cd}	0,85±0,01 ^c	1,12±0,03 ^a	0,98±0,01 ^b	0,63±0,01 ^f
Cinzas (%)	0,69±0,01 ^a	0,69±0,01 ^a	0,69±0,02 ^a	0,74±0,05 ^a	0,68±0,03 ^a	0,67±0,00 ^a	0,71±0,00 ^a	0,43±0,06 ^a
Gorduras (%)	2,33±0,58 ^b	3,33±1,15 ^{ab}	3,67±0,58 ^{ab}	3,00±0,00 ^{ab}	2,67±0,58 ^{ab}	3,33±0,58 ^{ab}	4,00±0,00 ^a	2,67±0,58 ^{ab}
Proteínas (%)	25,99±0,12 ^a	22,99±0,12 ^c	24,09±0,04 ^b	24,29±0,12 ^{bc}	24,07±0,08 ^{bc}	24,45±0,21 ^{bc}	23,71±0,21 ^{bc}	27,35±0,12 ^a
Umidade (%)	81,81±0,39 ^a	84,33±0,28 ^b	83,01±0,05 ^{cd}	84,64±0,24 ^b	83,51±0,19 ^c	82,68±0,18 ^d	82,83±0,39 ^{cd}	83,17±0,05 ^{cd}
Antioxidante total ABTS ^{•+} (µM Trolox/ g amostra)	0,9012±0,09 ^g	2,2053±0,19 ^b	1,9759±0,18 ^d	2,0133±0,19 ^c	1,9099±0,17 ^e	1,1780±0,10 ^f	3,5287±0,19 ^a	-----
Viscosidade (cP) a 10 °C	12,99±0,06 ^h	15,47±0,02 ^g	25,83±0,06 ^d	29,33±0,02 ^b	27,52±0,03 ^c	22,01±0,01 ^e	32,88±0,00 ^a	17,23±0,12 ^f

Fonte: Próprio autor (2017).

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, na mesma linha, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância;

Legenda: F1 (Kefir com 24 h de fermentação e 10 % de polpa), F2 (Kefir com 24 h de fermentação e 30 % de polpa), F3 (Kefir com 36 h de fermentação e 20 % de polpa), F4 (Kefir com 36 h de fermentação e 20 % de polpa), F5 (Kefir com 36 h de fermentação e 20 % de polpa), F6 (Kefir com 48 h de fermentação e 10 % de polpa), F7 (Kefir com 48 h de fermentação e 30 % de polpa) e F8 (Kefir controle).

A viscosidade é um parâmetro de grande importância na fermentação do leite (SADIAH; NURLAELASARI; HANDAYANI, 2017). Na Tabela 9 observou-se que todos os valores para viscosidade diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre si. O mesmo foi observado por Temiz; Kezer (2015) ao estudarem os efeitos de substituto de gordura sobre a viscosidade de leites fermentados Kefir. Cais-Sokolińska; Wójtowski; Pikul (2016) ao compararem as propriedades reológicas, sensoriais e de texturas do Kefir do leite de égua e suas misturas com leite de cabra e ovelha, constataram que para o leite de égua houve diferença estatística entre as amostras variando de 438 a 81 g.s.

Os resultados médios para os parâmetros de cor do leite fermentado estão dispostos na Tabela 10.

Tabela 10 - Valores médios e desvios-padrão da cor do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí

Cor	L*	a*	b*	C*	H°
F1	59,81±0,84 ^b	10,92±0,04 ^d	2,91±0,23 ^{bc}	11,30±0,01 ^c	14,92±0,74 ^{bc}
F2	43,68±0,04 ^{fg}	13,55±0,02 ^a	2,40±0,21 ^c	13,77±0,04 ^a	10,04±0,00 ^e
F3	45,65±0,15 ^e	12,18±0,22 ^c	3,39±0,12 ^d	12,78±0,11 ^{bc}	15,53±0,03 ^b
F4	48,01±0,21 ^d	12,38±0,19 ^b	3,45±0,39 ^d	12,89±0,06 ^b	14,14±0,49 ^c
F5	45,56±0,16 ^{ef}	12,60±0,23 ^{ba}	3,17±0,15 ^{bd}	13,14±0,14 ^a	14,10±0,04 ^c
F6	52,42±0,57 ^c	12,37±0,34 ^b	3,57±0,06 ^d	12,94±0,24 ^b	16,05±0,02 ^b
F7	42,08±0,31 ^g	13,05±0,14 ^{ab}	2,56±0,07 ^{bc}	13,30±0,14 ^a	11,11±0,20 ^d
F8	88,35±1,57 ^a	-3,06±0,20 ^e	8,74±0,49 ^a	9,53±0,28 ^d	109,32±0,05 ^a

Fonte: Próprio autor (2017).

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, na mesma linha, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância;

Legenda: F1(Kefir com 24 h de fermentação e 10 % de polpa), F2 (Kefir com 24 h de fermentação e 30 % de polpa), F3 (Kefir com 36 h de fermentação e 20 % de polpa), F4 (Kefir com 36 h de fermentação e 20 % de polpa), F5 (Kefir com 36 h de fermentação e 20 % de polpa), F6 (Kefir com 48 h de fermentação e 10 % de polpa), F7 (Kefir com 48 h de fermentação e 30 % de polpa) e F8 (Kefir controle).

A análise de cor é um procedimento importante para monitorar alimentos com a finalidade de desenvolver características sensoriais adequadas (CHUNG *et al.*, 2016). Para tanto a análise teve a relevância de verificar quantitativamente os atributo da cor do produto elaborado. Os valores obtidos para luminosidade L* não apresentaram diferença, ao nível de 5% de significância entre as amostras (F3 e F5) e (F5 e F2), porém nas demais foi observada diferença estatística. Para a coordenada a*, observou-se que as amostras (F2, F6, F3, F1 e F8) se alteraram significativamente entre as demais. No entanto na coordenada b* houve

diferença em nível de 5% para as formulações (F2, F6 e F8) (TABELA 10). Randazzo *et al.* (2016) ao avaliarem estes parâmetros em amostras de bebidas não alcoólicas de frutas fermentadas com grãos de Kefir observaram que as mesmas não apresentaram diferença significativa para a coordenada b^* , entretanto o parâmetro luminosidade L^* aumentou após a fermentação e a coordenada a^* reduziu estatisticamente.

O parâmetro luminosidade L^* da pesquisa demonstrou que a formulação F8 foi apontada como a mais clara (88,35) uma vez que esta não recebeu adição de polpa e a amostra F7 (30 % de polpa) foi considerada a mais escura com 42,08. Entretanto nas coordenadas a^* e b^* a formulação F2 apresentou maior e menor pontuação com 13,55 e 2,40 respectivamente indicando que esta se aproximou mais do vermelho e do azul, Já a amostra F8 foi observada com a menor (-3,06) e maior (8,74) pontuação em tais coordenadas respectivamente (TABELA 10).

Segundo Corona *et al.* (2016) ao estudarem a caracterização de bebidas tipo Kefir produzidas a partir de sucos de vegetais constataram que todas as amostras mudaram de cor após o processamento fermentativo sendo a formulação elaborada com suco de melão a mais notável.

A amostra F8 apresentou um ângulo de tonalidade (H°) de $109,32^\circ$ e croma (C^*) de 9,53 indicando que a formulação apresentou uma coloração amarelada. No entanto, as demais formulações apresentaram ângulo de tonalidade de $16,05^\circ$ a $10,04^\circ$ e croma de 13,77 a 11,30 demonstrando que se encontravam mais próximas do vermelho (TABELA 10). Randazzo *et al.* (2016) que também analisaram cor em amostras de bebidas de suco não alcoólicas fermentadas com microrganismos de grãos de Kefir de água, obtiveram variações de $345,04^\circ$ a $25,98^\circ$ e 20,06 a 9,28 para o ângulo de tonalidade (H°) e croma (C^*) respectivamente.

4.3. Análises Microbiológicas

4.3.1 Polpa de açaí e Leite Fermentado Kefir

Os resultados das análises microbiológicas para polpa de açaí e leite fermentado Kefir estão expressos na Tabela 11.

A Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA dispõe os padrões microbiológicos em alimentos (BRASIL, 2001), estabelecendo para Polpas de Fruta: ausência de *Salmonella* em 25g e limite máximo menor que 10^2 NMP/g na contagem de coliformes a

45 °C; e para Leites Fermentados com ou sem adições, refrigerado, e com bactérias láticas viáveis a quantidade de coliforme termotolerante (45°C) não deve ultrapassar 10 UFC/mL (BRASIL, 2001).

A partir dos resultados obtidos na avaliação de microrganismos para a polpa de açaí (TABELA 11), observou-se que os mesmos atenderam aos parâmetros legais concordando com Coutinho *et al.* (2017), os quais obtiveram, em seu estudo, parâmetros semelhantes para *E. coli* em polpas de açaí comercializadas. Os autores afirmaram que os valores reportados estavam abaixo do permitido pela legislação vigente da Espanha, podendo ser considerado legal. Freitas *et al.* (2015) observaram valores similares para quantidade de coliformes a 45 °C avaliados em amostras de polpa de açaí pasteurizadas.

Tabela 11 – Resultados médios da análise microbiológica nas matérias-primas

Amostra	<i>Salmonella</i>	Coliformes 45 °C	Bactérias ácido láti- cas Totais	Bolores e leveduras
Polpa de açaí	Ausência	<3 NMP/g	----	----
Kefir	----	<3 NMP/mL	1,5 x 10 ⁸ UFC/g	1,5 x 10 ⁶ UFC/g

Fonte: Próprio autor (2017).

Os valores expressos na Tabela 11 demonstraram que o Kefir encontra-se de acordo com os requisitos exigidos pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (BRASIL, 2007). Este regulamento descreve que a contagem de bactérias láticas totais do Kefir deverá ser no mínimo de 10⁷ UFC/mL e a contagem de leveduras específicas de no mínimo 10⁴ UFC/mL (BRASIL, 2007). Ribeiro (2015) também observou contagens satisfatórias para bactérias ácido láticas e leveduras ao avaliarem a caracterização microbiológica de bebida produzida a partir dos grãos de Kefir artesanal na região Noroeste do Rio Grande do Sul.

Almeida *et al.* (2011) ao compararem padrões microbiológicos e sensoriais de Kefir artesanal produzido a partir de leite de cabra e leite de vaca, observaram contagens de 2,5 x 10⁶ UFC/mL e 1,4 x 10³ UFC/mL para bactérias ácido láticas e bolores e leveduras respectivamente. Os autores afirmaram que o baixo valor das bactérias ácido láticas pode ter sido influenciado pela análise que foi realizada no início da ativação dos grãos. No caso do Kefir estudado, a análise foi realizada após as ativações e fermentação do leite. Londero *et al.* (2012) ao compararem contagens de bactérias ácido láticas entre soro de leite e leite fermentados por grãos de Kefir, constataram que as mesmas encontraram-se em menor

concentração em soro de leite fermentado, porém ao analisarem os valores de levedura, observaram que estes foram menores no leite fermentado.

A análise de coliformes termotolerantes a 45 °C é considerada importante, pois este grupo de microrganismos é um indicativo das condições higiênico-sanitárias de produtos alimentícios (RIBEIRO, 2015). Na pesquisa de coliformes a 45 °C (TABELA 11) observou-se que os valores obtidos não ultrapassaram o padrão (10 UFC/mL) exigido pela legislação vigente (BRASIL, 2001). Ribeiro (2015) também constatou resultados semelhantes em seu estudo.

4.3.2 Leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí

Os resultados obtidos na análise microbiológica para o leite fermentado Kefir adicionados de polpa de açaí estão expressos na Tabela 12.

Tabela 12 – Parâmetros médios para caracterização microbiológica do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí

Amostra	Coliformes 45 °C (NMP)	Bactérias Ácido Láticas Totais (UFC/mL)	Bolores e Leveduras (UFC/mL)
F1	3,6	1,87 x 10 ⁸	3,4 x 10 ⁶
F2	93	2,16 x 10 ⁸	4,6 x 10 ⁶
F3	1100	2,53 x 10 ⁸	6,3 x 10 ⁶
F4	<3	2,72 x 10 ⁸	2,7 x 10 ⁶
F5	<3	2,08 x 10 ⁸	5,8 x 10 ⁶
F6	<3	2,96 x 10 ⁸	1,5 x 10 ⁶
F7	<3	1,91 x 10 ⁸	6,3 x 10 ⁶
F8	9,4	1,74 x 10 ⁸	2,2 x 10 ⁶

Fonte: Próprio autor (2017).

Legenda: F1(Kefir com 24 h de fermentação e 10 % de polpa), F2 (Kefir com 24 h de fermentação e 30 % de polpa), F3 (Kefir com 36 h de fermentação e 20 % de polpa), F4 (Kefir com 36 h de fermentação e 20 % de polpa), F5 (Kefir com 36 h de fermentação e 20 % de polpa), F6 (Kefir com 48 h de fermentação e 10 % de polpa), F7 (Kefir com 48 h de fermentação e 30 % de polpa) e F8 (Kefir controle).

A partir dos valores determinados pela caracterização microbiológica das formulações de leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí, observou-se que todas as amostras produzidas atenderam aos padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2007). Exceto para a contagem de coliformes a 45 °C (BRASIL, 2001) nas formulações F2 e F3, nas quais os valores se apresentaram acima do permitido (TABELA

12). Apesar dos baixos valores de pH ser um fator limitante para o crescimento de coliformes a 45 °C (SANTOS; COELHO; CARREIRO, 2008), a amostra F3 apresentou pH de 4,17 e uma maior contagem para tais microrganismos. É importante ressaltar, que esta amostra foi produzida nas mesmas condições que as demais, porém foi à única contaminada das três elaboradas no ponto central (F3, F4, F5) do planejamento experimental.

A formulação F6 apresentou a maior contagem de bactérias ácido lácticas ($2,96 \times 10^8$ UFC/mL) indicando que, provavelmente, a mesma foi influenciada pelo tempo de fermentação (48 h), pois observou-se que o aumento do tempo de fermentação favoreceu o crescimento bacteriano no leite fermentado Kefir (TABELA 12). Fernandes *et al.* (2017) ao avaliarem a quantidade total de isoflavonóides e fenóis no armazenamento de leite de soja fermentado com Kefir, obtiveram resultados distintos para bactérias ácido lácticas. No entanto Corona *et al.* (2016) ao pesquisarem a caracterização de bebidas tipo Kefir produzidas a partir de sucos vegetais observaram variações semelhantes ao encontrado no Kefir estudado.

4.4 Análise Sensorial

Antes da aplicação da análise sensorial foi realizada uma seleção das amostras com o intuito de eliminar as formulações contaminadas com coliformes a 45 °C e de reduzir o número de formulações que iriam ser apresentadas aos provadores a fim de evitar fadiga gustativa. Na Tabela 13 estão distribuídas as amostras que foram selecionadas.

Tabela 13 – Médias de acidez total titulável e proteínas utilizadas como critério para análise sensorial do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí

Amostras	Médias (%)		Parâmetros da Legislação (%)	
	Acidez	Proteína	Acidez	Proteína
F1	0,69	25,99	0,5-1,0	>2,9
F4	0,82	24,29		
F7	0,98	23,71		
F8	0,63	27,35		

Fonte: Próprio autor (2017).

Legenda: F1 (Kefir com 24 h de fermentação e 10 % de polpa), F4 (Kefir com 36 h de fermentação e 20 % de polpa), F7 (Kefir com 48 h de fermentação e 30 % de polpa) e F8 (Kefir controle).

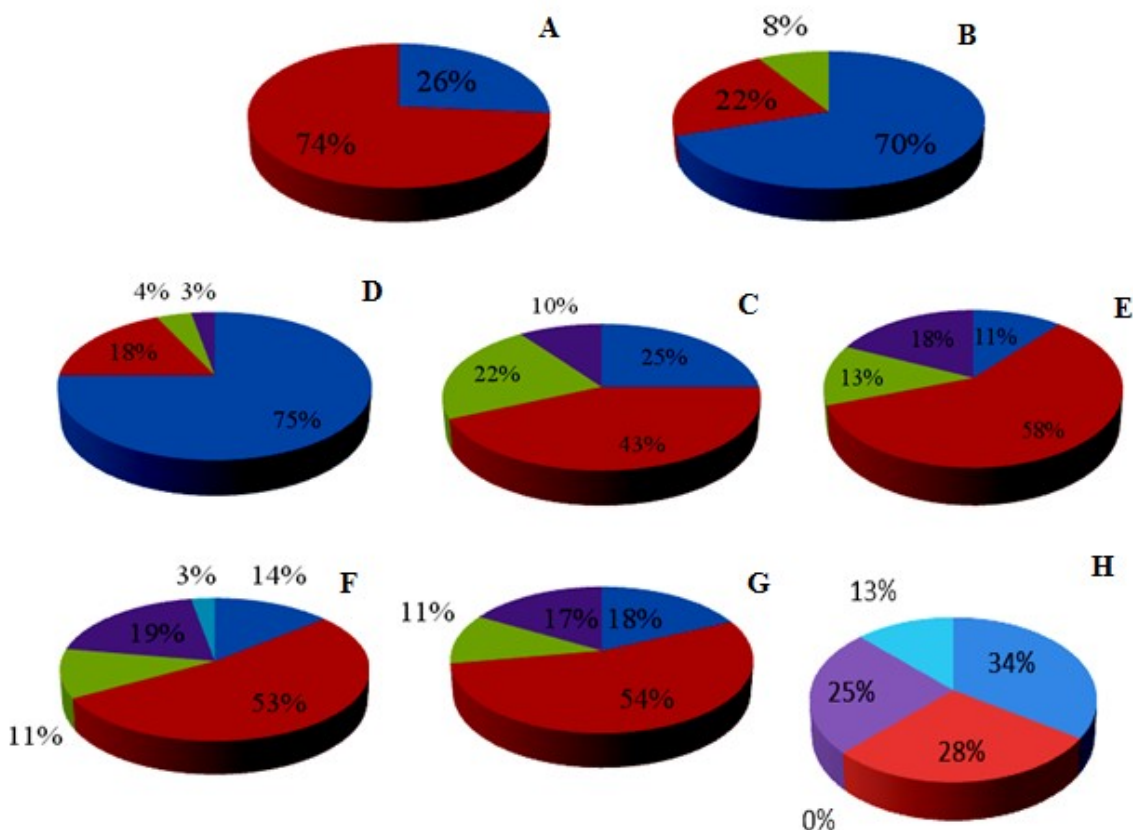
A seleção das amostras de leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí para realização da análise sensorial foi realizada conforme os parâmetros de acidez e teor de proteína. Para a acidez levou-se em consideração os parâmetros da legislação vigente (Brasil,

2007) onde está estabelecido que o leite fermentado Kefir deve apresentar de 0,5 a 1,0 % de acidez. Para os teores de proteína, optou-se pelos maiores percentuais, com o intuito de obter-se Kefir com maior teor proteico (TABELA 13).

4.4.1 Caracterização dos provadores

Na caracterização dos 64 provadores que participaram dos testes aplicados na análise sensorial do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí observou-se que 74,0 % eram do sexo masculino e 26,0 % do sexo feminino (FIGURA 7).

Figura 7 – Caracterização dos provadores



Fonte: Próprio autor (2017).

Legenda: A = Sexo dos provadores, B = Faixa etária dos provadores, C = Grau de escolaridade, D = Com que frequência você consome produtos lácteos?, E = Com que frequência você consome produtos com açaí?, F = O quanto você gosta de leite fermentado?, G = Com que frequência você consome leite fermentado?, H = O quanto você gosta de açaí?.

A faixa etária predominante foi de 18 a 25 anos (70,0 %), sendo que 43,0 % dos provadores possuíam nível superior incompleto, enquanto que apenas 10,0 % deles possuíam mestrado ou doutorado (FIGURA 7).

Do total de provadores, 53,0 % alegaram gostar moderadamente de leite fermentado, 19,0 % afirmaram gostar muito, 14,0 % pontuaram gostar muitíssimo, 11,0 % relataram não gostar desse produto e 3,0 % alegaram gostar ligeiramente. Em relação ao açaí, 31,0 % alegaram gostar muitíssimo, 25,0 % gostaram moderadamente, 22,0 % gostaram muito e 11,0 % afirmaram que não gostam do fruto. Estes resultados demonstram distribuição entre as respostas com concentração nas categorias de apreciação do leite fermentado e açaí (FIGURA 7).

A maioria dos participantes (75,0 %) consumiam produtos lácteos semanalmente, 13,0 % consumiam em dias ocasionais, 3,0 % consumiam quinzenalmente e 2,0 % relataram que nunca consumiram. Para o consumo de produtos com açaí, observou-se que 11,0 % consumiam semanalmente, 13,0 % consumiam quinzenalmente e 18,0 % alegaram nunca consumir esse fruto (FIGURA 7).

4.4.2 Avaliação da aceitação das amostras

Os resultados da avaliação de aceitação das quatro formulações de Kefir adicionado de polpa de açaí: F8 (Kefir controle), F1 (Kefir com 24 horas de fermentação e 30% de polpa de açaí), F4 (Kefir com 36 horas de fermentação e 20,0% de polpa de açaí) e F7 (Kefir com 48 horas de fermentação e 10% de polpa de açaí) estão apresentados na Tabela 14.

Todas as amostras analisadas apresentaram diferença entre si, ao nível de 5% de significância, para os atributos cor e sabor. Na característica consistência não foi observado diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre as amostras (F1 e F4), (F1 e F7) e (F4 e F7) (TABELA 14). O mesmo foi observado por Cais-Sokolińska¹, Wójtowski e Pikul (2016) ao estudarem propriedades reológicas e texturais de Kefirs produzidos com leite de égua, cabra, ovelha e suas misturas quando aplicaram o teste de tukey ($p \leq 0,05$) nas amostras estudadas.

Santos e Basso (2013) avaliaram o atributo aroma e atestaram que não houve diferença significativa entre as amostras de gelatina elaborada com fermentado de Kefir e gelatina padrão. A pesquisa em estudo não demonstrou diferença entre as formulações (F8 e F4) e (F1 e F4) para o aroma. Já nas características aparência e impressão global não foi apontado diferença estatística para as amostras (F8 e F7) e (F4 e F7) respectivamente (TABELA 14). Nicolaou *et al.* (2017) ao compararem cultura de Kefir livre e imobilizada em fermentações simultâneas de cidra alcoólicas também não obtiveram diferença estatística para qualidade geral.

Tabela 14 – Resultados médios e desvios-padrão do teste de aceitação do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí

Atributos	F1	F4	F7	F8
Cor	7,58 ± 1,20 ^b	6,73 ± 1,19 ^c	5,66 ± 1,61 ^d	7,31 ± 1,36 ^a
Aparência	7,33 ± 1,29 ^b	6,59 ± 1,33 ^c	5,47 ± 1,65 ^a	7,23 ± 1,44 ^a
Aroma	7,05 ± 1,51 ^b	6,08 ± 1,44 ^{ab}	6,16 ± 1,50 ^c	5,88 ± 1,77 ^a
Sabor	5,63 ± 1,84 ^b	5,98 ± 1,75 ^c	6,41 ± 1,50 ^d	6,95 ± 1,37 ^a
Consistência	6,5, ± 1,53 ^{bc}	6,52 ± 1,35 ^{bd}	6,50 ± 1,36 ^{cd}	6,95 ± 1,33 ^a
Impressão Global	6,50 ± 1,56 ^b	6,45 ± 1,34 ^c	6,25 ± 1,42 ^c	7,00 ± 1,28 ^a

Fonte: Próprio autor (2017).

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, na mesma linha, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância;

Legenda: F1 (Kefir com 24 horas de fermentação e 30% de polpa de açaí), F4 (Kefir com 36 horas de fermentação e 20% de polpa de açaí), F7 (Kefir com 48 horas de fermentação e 10% de polpa de açaí) e F8 (Kefir controle).

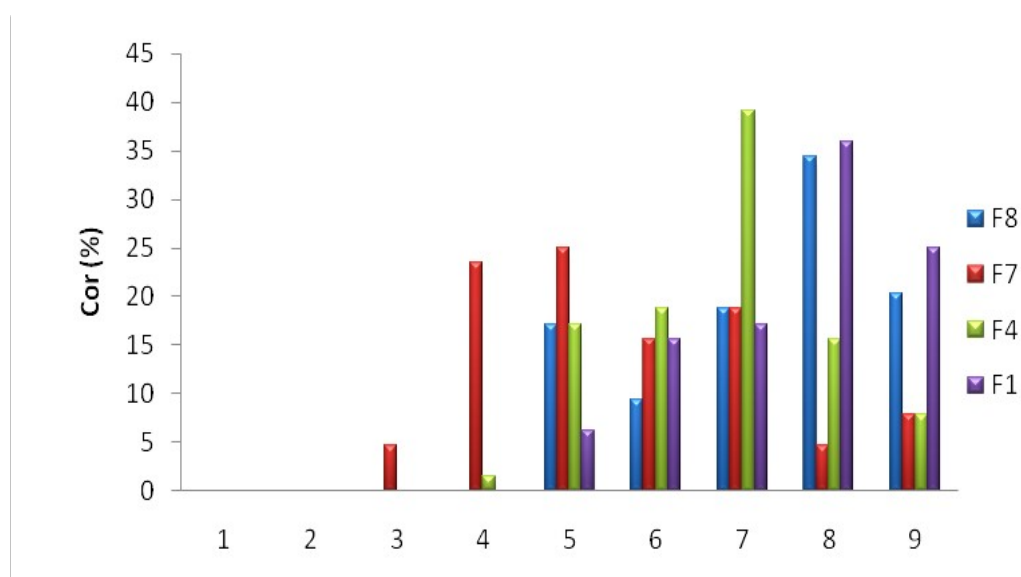
Escala Hedônica de nove pontos: 1 (desgostei muitíssimo), 2 (desgostei muito), 3 (desgostei moderadamente), 4 (desgostei ligeiramente), 5 (nem gostei nem desgostei), 6 (gostei ligeiramente), 7 (gostei moderadamente), 8 (gostei muito) e 9 (gostei muitíssimo).

Nicolaou *et al.* (2017) relataram que o fato das novas bebidas não terem passado por tratamento pós-fermentação e apresentarem baixos teores de CO₂, o que contribui para o frescor, não influenciaram na aceitação. Nogueira *et al.* (2016) encontraram resultados satisfatórios ao testarem que os valores médios dos atributos apresentaram-se acima da ordem 5, atestando que as bebidas fermentadas a partir de cultura de Kefir original e Kefir adaptado adicionadas com variações de polpa de açaí obtiveram aceitação sensorial. Zelovitis *et al.* (2016) também observaram aceitação positiva ao analisarem a fabricação de leite fermentado “funcional” com adição de um extrato de origem de plantas alcoólicas.

Nas figuras 8 a 13 são apresentadas as distribuição de notas atribuídas pelos provadores na avaliação da aceitação da cor, aparência, aroma, sabor, consistência e impressão global do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí.

Para a cor das formulações, as amostras F1, F4, F7 e F8 obtiveram percentuais na faixa de aceitação de, 93,79; 81,24; 46,86 e 88,80 % respectivamente, enquanto os percentuais encontrados na faixa de rejeição foram de 0; 1,56; 28,11 e 0 %, respectivamente. A maior frequência de respostas para as amostras F8 e F1 encontrou-se na categoria 8 da escala, enquanto a amostra F4 apresentou maior frequência de respostas na categoria 7, referente a “gostei moderadamente” (FIGURA 8).

Figura 8 – Distribuição de respostas dos provadores na avaliação da aceitação do atributo cor do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí



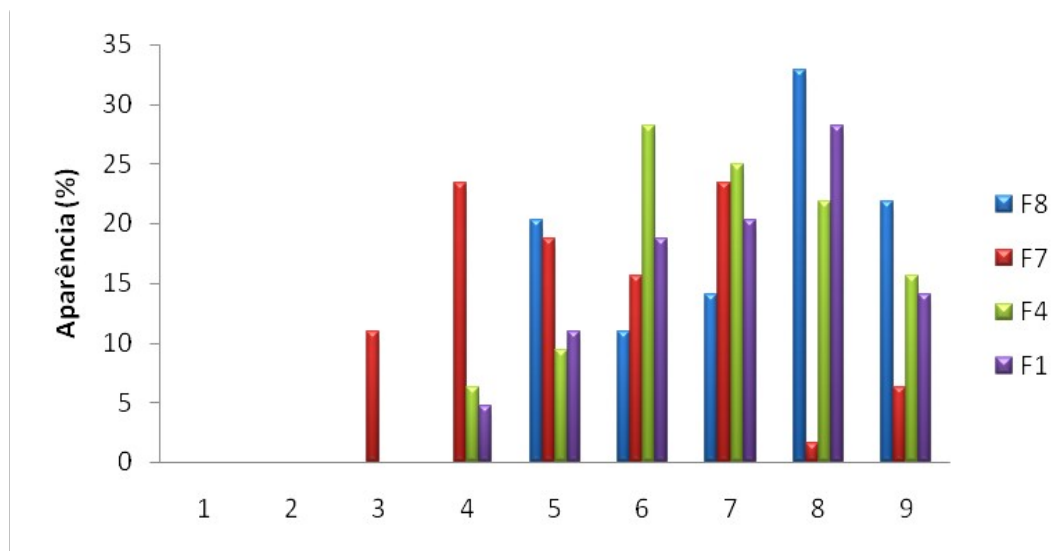
Fonte: Próprio autor (2017).

Legenda: F1 (Kefir com 24 horas de fermentação e 30% de polpa de açaí), F4 (Kefir com 36 horas de fermentação e 20% de polpa de açaí), F7 (Kefir com 48 horas de fermentação e 10% de polpa de açaí) e F8 (Kefir controle).

Escala Hedônica: 1 = desgostei muitíssimo; 5 = nem gostei, nem desgostei; 9 = gostei muitíssimo.

Mais de 90 % das notas obtidas para a aparência das quatro amostras estavam na faixa de aceitação (notas de 6 a 9), enquanto que 34 % das respostas encontraram-se na faixa de rejeição (notas de 1 a 4). Dentre as amostras avaliadas, a amostra F4 obteve a maior frequência de respostas na zona de aceitação (90,61 %) e a menor frequência de respostas na zona de rejeição (6,25 %). Além disso, as maiores percentagens de respostas, foram na categoria 8 da escala hedônica, correspondente a “gostei muito”(FIGURA 9).

Figura 9 – Distribuição de respostas dos provadores na avaliação da aceitação do atributo aparência do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí

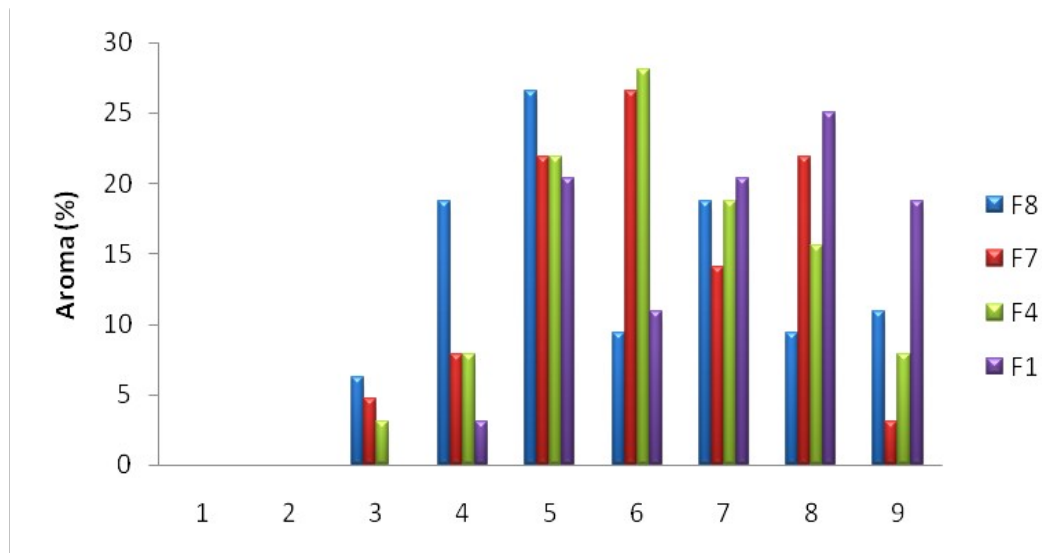


Fonte: Próprio autor (2017).

Legenda: F1 (Kefir com 24 horas de fermentação e 30% de polpa de açaí), F4 (Kefir com 36 horas de fermentação e 20% de polpa de açaí), F7 (Kefir com 48 horas de fermentação e 10% de polpa de açaí) e F8 (Kefir controle).

Escala Hedônica: 1 = desgostei muitíssimo; 5 = nem gostei, nem desgostei; 9 = gostei muitíssimo.

Figura 10 – Distribuição de respostas dos provadores na avaliação da aceitação do atributo aroma do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí



Fonte: Próprio autor (2017).

Legenda: F1 (Kefir com 24 horas de fermentação e 30% de polpa de açaí), F4 (Kefir com 36 horas de fermentação e 20% de polpa de açaí), F7 (Kefir com 48 horas de fermentação e 10% de polpa de açaí) e F8 (Kefir controle).

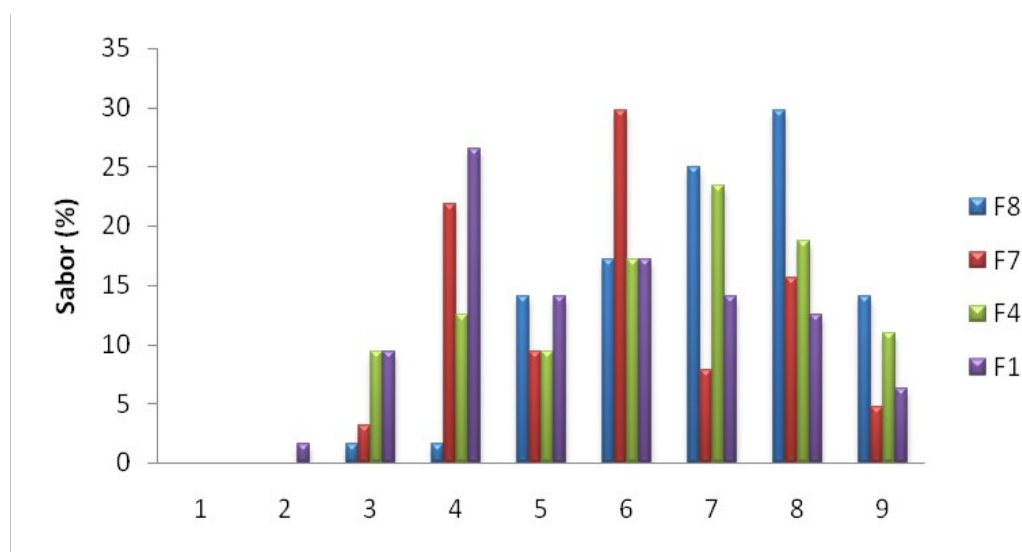
Escala Hedônica: 1 = desgostei muitíssimo; 5 = nem gostei, nem desgostei; 9 = gostei muitíssimo.

As respostas referentes ao aroma das amostras situaram-se principalmente nas categorias de gostar da escala (6 a 9). As amostras F1 e F7 apresentaram maior frequência de

respostas na categoria 8 (gostei muito) e a amostra F4 obteve maior frequência na categoria 6 da escala hedônica (gostei ligeiramente). A soma do percentual de respostas distribuídas na faixa de aceitação para as amostras F1, F4, F7 e F8 foram de, respectivamente, 74,99; 70,3; 65,61 e 48,42 %. Na faixa de rejeição, a soma dos percentuais obtidos foram de, respectivamente, 3,12; 10,93; 12,49 e 25,0 % (FIGURA 10).

Para o atributo sabor, as maiores frequências de respostas das amostras F4 e F8 situaram-se na categoria 8 (gostei muito). Enquanto a amostra F7 apresentou maior frequência de respostas na categoria 6 da escala hedônica (gostei ligeiramente). As amostras F1, F4, F7 e F8 alcançaram soma, respectivamente, 49,93; 70,29; 57,79 e 85,92 % das notas nas categorias de gostar (6 a 9). Na faixa de rejeição, os percentuais encontrados foram de, respectivamente, 37,49; 21,87; 24,99 e 3,12 %, indicando um bom percentual de aceitação do sabor das amostras (FIGURA 11).

Figura 11 – Distribuição de respostas dos provadores na avaliação da aceitação do atributo sabor do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí



Fonte: Próprio autor (2017).

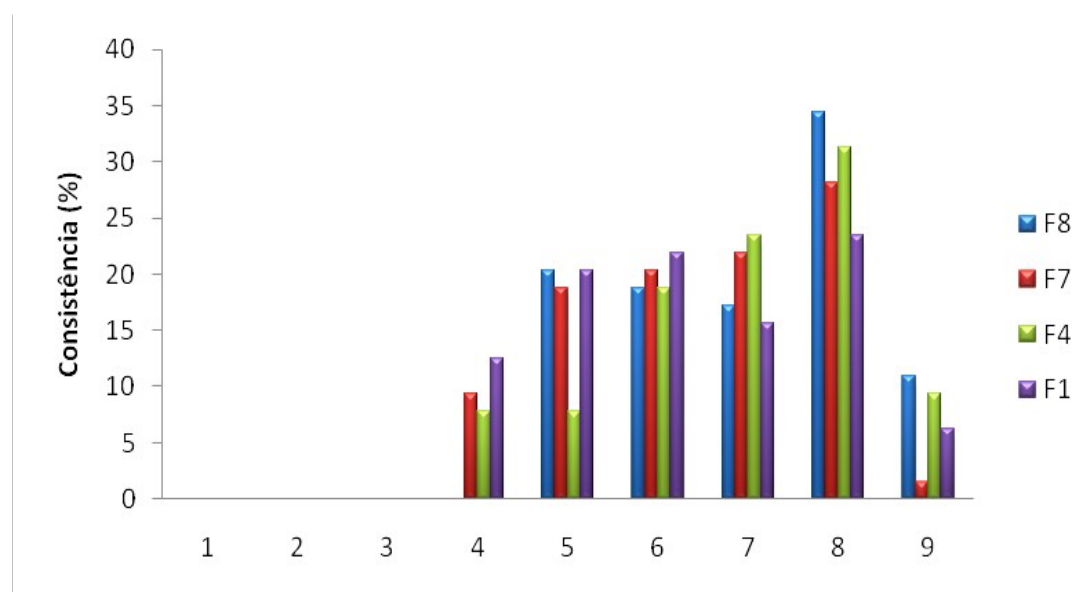
Legenda: F1 (Kefir com 24 horas de fermentação e 30% de polpa de açaí), F4 (Kefir com 36 horas de fermentação e 20% de polpa de açaí), F7 (Kefir com 48 horas de fermentação e 10% de polpa de açaí) e F8 (Kefir controle).

Escala Hedônica: 1 = desgostei muitíssimo; 5 = nem gostei, nem desgostei; 9 = gostei muitíssimo.

A distribuição das notas referentes à consistência das amostras situou-se principalmente nas categorias de gostar da escala (6 a 9). As amostras F1, F4, F7 e F8 obtiveram soma de percentuais na faixa de aceitação de, respectivamente, 67,17; 82,73; 71,86 e 81,23 % enquanto a soma dos percentuais alcançados na faixa de rejeição foram de 12,5;

7,81; 9,37 e 0 %, respectivamente. A maior frequência de respostas para todas as amostras encontrou-se na categoria 8 da escala referente a “gostei muito”, enquanto que a menor frequência de respostas para todas as amostras se encontrou na categoria 9, referente a “gostei muitíssimo” (FIGURA 12).

Figura 12 – Distribuição de respostas dos provadores na avaliação da aceitação do atributo consistência do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí



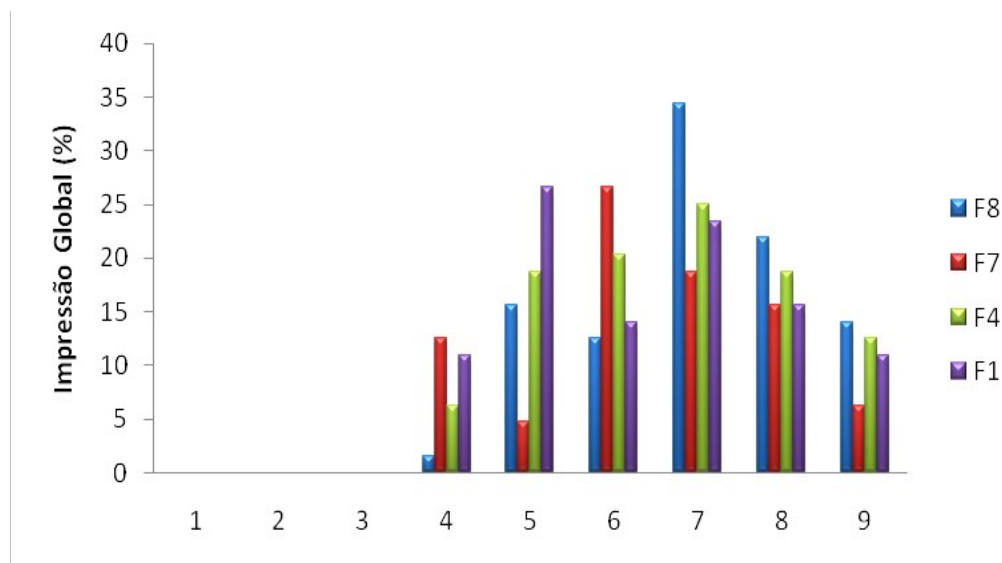
Fonte: Próprio autor (2017).

Legenda: F1 (Kefir com 24 horas de fermentação e 30% de polpa de açaí), F4 (Kefir com 36 horas de fermentação e 20% de polpa de açaí), F7 (Kefir com 48 horas de fermentação e 10% de polpa de açaí) e F8 (Kefir controle).

Escala Hedônica: 1 = desgostei muitíssimo; 5 = nem gostei, nem desgostei; 9 = gostei muitíssimo.

A aceitação global mostra como foi à impressão causada pelo produto no contexto de todos os atributos. Observa-se que a distribuição das respostas situa-se quase em sua totalidade na zona de aceitação da escala hedônica (6 a 9). A maior frequência de respostas das amostras F1, F4 e F8 situou-se na categoria 7 (gostei moderadamente). Enquanto a amostra F7 apresentou maior frequência de respostas na categoria 6 (gostei ligeiramente). A soma do percentual de respostas distribuídas na faixa de aceitação (6 a 9) para as amostras F1, F4, F7 e F8 foi de, respectivamente, 64,04; 76,56; 67,81 e 81,8 %. Na faixa de rejeição, a soma dos percentuais encontrados foram de, respectivamente, 10,93; 6,25; 12,5 e 1,56 %, indicando um bom percentual de aceitação global das três amostras avaliadas (FIGURA 13).

Figura 13 – Distribuição de respostas dos provadores na avaliação da aceitação do atributo impressão global do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí



Fonte: Próprio autor (2017).

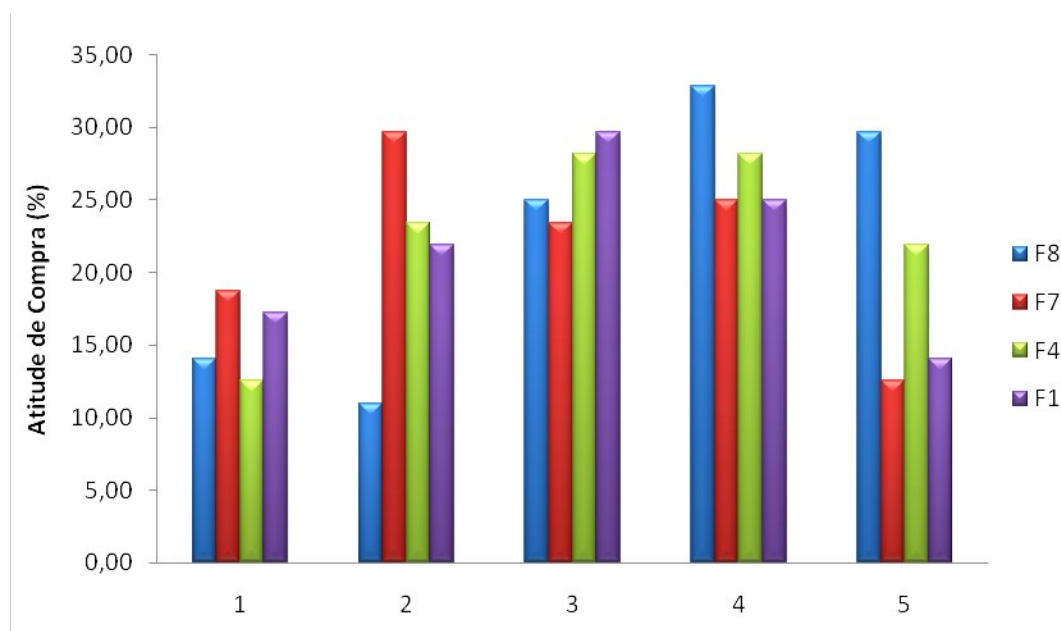
Legenda: F1 (Kefir com 24 horas de fermentação e 30% de polpa de açaí), F4 (Kefir com 36 horas de fermentação e 20% de polpa de açaí), F7 (Kefir com 48 horas de fermentação e 10% de polpa de açaí) e F8 (Kefir controle).

Escala Hedônica: 1 = desgostei muitíssimo; 5 = nem gostei, nem desgostei; 9 = gostei muitíssimo.

4.4.3 Avaliação da atitude de compra das amostras

Os resultados das respostas para atitude de compra avaliadas pelos provadores encontram-se na Figura 14, onde pode-se observar que as amostras F4 e F8 apresentaram maior frequência de respostas nas categorias 4 (possivelmente compraria) e 5 (certamente compraria) demonstrando que, das quatro amostras apresentadas no teste, elas foram as mais aceitas pelos provadores.

Figura 14 - Distribuições das frequências de respostas dos provadores para a avaliação da atitude de compra do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí



Fonte: Próprio autor (2017).

Legenda: F1 (Kefir com 24 horas de fermentação e 30% de polpa de açaí), F4 (Kefir com 36 horas de fermentação e 20% de polpa de açaí), F7 (Kefir com 48 horas de fermentação e 10% de polpa de açaí) e F8 (Kefir controle).

Escala: 1 = certamente não compraria, 2 = talvez comprasse, 3 = talvez não comprasse, 4 = provavelmente compraria, 5 = certamente compraria.

As formulações F4 e F8 apresentaram porcentagens de 28,13 % e 32,81 % na escala provavelmente compraria (4) e, 21,88 % e 29,69 % para certamente compraria (5), respectivamente. Apesar das porcentagens terem sido bem distribuídas entre as amostras, estas apresentaram percentuais mais elevados da análise em questão demonstrando que se as mesmas estivessem à venda obteriam atitude de compra positiva pelos consumidores.

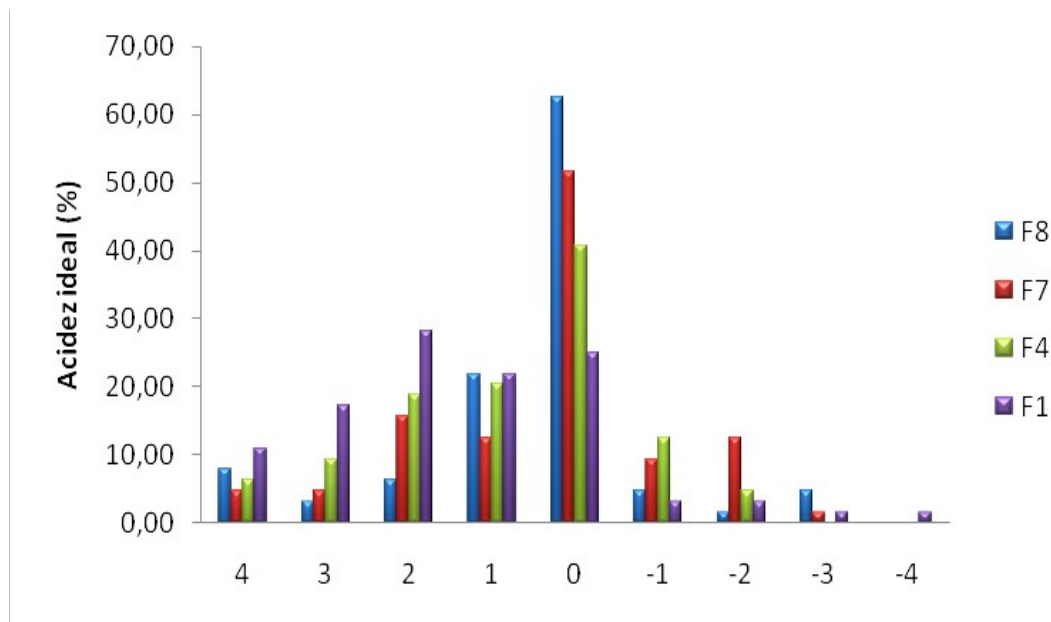
4.4.4 Avaliação da acidez, consistência e sabor de açaí ideal

Nas Figuras 15, 16 e 17 são apresentadas as pontuações obtidas no teste do ideal para a avaliação da acidez, consistência e sabor de açaí das amostras de Kefir adicionado de polpa de açaí.

Na avaliação da acidez, as amostras alcançaram maiores percentuais de respostas na categoria 0 (acidez ideal) da escala, mostrando que a acidez das amostras situa-se próximo ao ideal. O percentual de respostas entre as categorias +1 (ligeiramente mais ácido do que o

ideal) e +4 (extremamente mais ácido do que o ideal) da escala, apresentou valores maiores que o percentual obtido entre as ordens -1 e -4, correspondente a (ligeiramente menos ácido que o ideal) e (extremamente menos ácido que o ideal), mostrando que o potencial consumidor tem preferência por alimentos menos ácidos (FIGURA 15).

Figura 15 – Distribuições das frequências de respostas dos provadores para avaliação do teste do ideal da acidez do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí



Fonte: Próprio autor (2017).

Legenda: F1 (Kefir: 24 horas de fermentação e 30% de polpa de açaí), F4 (Kefir: 36 horas de fermentação e 20% de polpa de açaí), F7 (Kefir: 48 horas de fermentação e 10% de polpa de açaí) e F8 (Kefir controle: 24 horas de fermentação e sem adição de polpa).

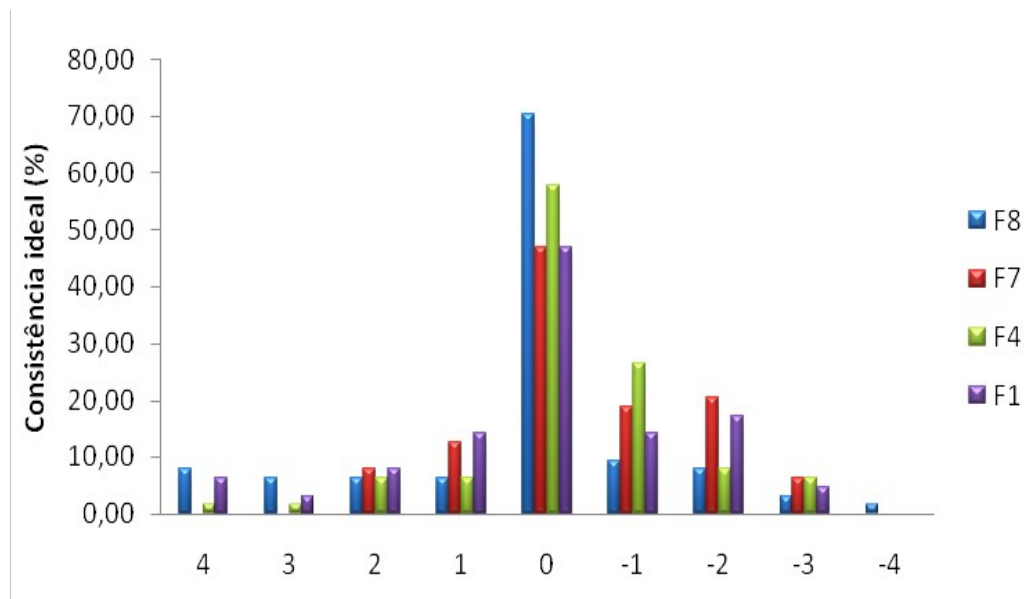
Escala do Ideal: +4 = Extremamente mais ácido que o ideal, +3 = Muito mais ácido que o ideal, +2 = Moderadamente mais ácido que o ideal, +1 = Ligeiramente mais ácido que o ideal, 0 = Ideal, -1 = Ligeiramente menos ácido que o ideal, -2 = Moderadamente menos ácido que o ideal, -3 = Muito menos ácido que o ideal, -4 = Extremamente menos ácido que o ideal.

A amostra F8 apresentou percentagem de 10,94 % das notas nas categorias “menos ácido que o ideal”, 62,50 % na categoria “ideal” e 39,70 % nas categorias “mais ácido que o ideal” mostrando que os percentuais variaram entre as ordens +4 (extremamente mais ácido) e +1 (ligeiramente mais ácido), concentrando-se na categoria ideal. Já na amostra F4 observou-se percentagens mais baixas, mas que também se comportaram como as notas da amostra anterior. Os percentuais foram 15,62 % nas categorias “menos ácidas”, 40,63 % na ordem do “ideal” e 54,69 % nas categorias “mais ácidas” (FIGURA 15).

A partir dos resultados obtidos na avaliação da consistência (FIGURA 16), pode-se observar que as quatro amostras obtiveram maiores percentuais de respostas na categoria

correspondente à consistência ideal. No entanto, a amostra F8 destacou-se das demais, alcançando 70,38 % das respostas. As amostras F1, F4 e F7 obtiveram respectivos percentuais de 46,88; 57,81 e 46,88 % das respostas na categoria relativa ao ideal. Este resultado aponta que a adição da polpa de açaí pode ter influenciado na viscosidade do produto final.

Figura 16 - Distribuições das frequências de respostas dos provadores para avaliação do teste do ideal da consistência do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí



Fonte: Próprio autor (2017).

Legenda: F1 (Kefir com 24 horas de fermentação e 30% de polpa de açaí), F4 (Kefir com 36 horas de fermentação e 20% de polpa de açaí), F7 (Kefir com 48 horas de fermentação e 10% de polpa de açaí) e F8 (Kefir controle).

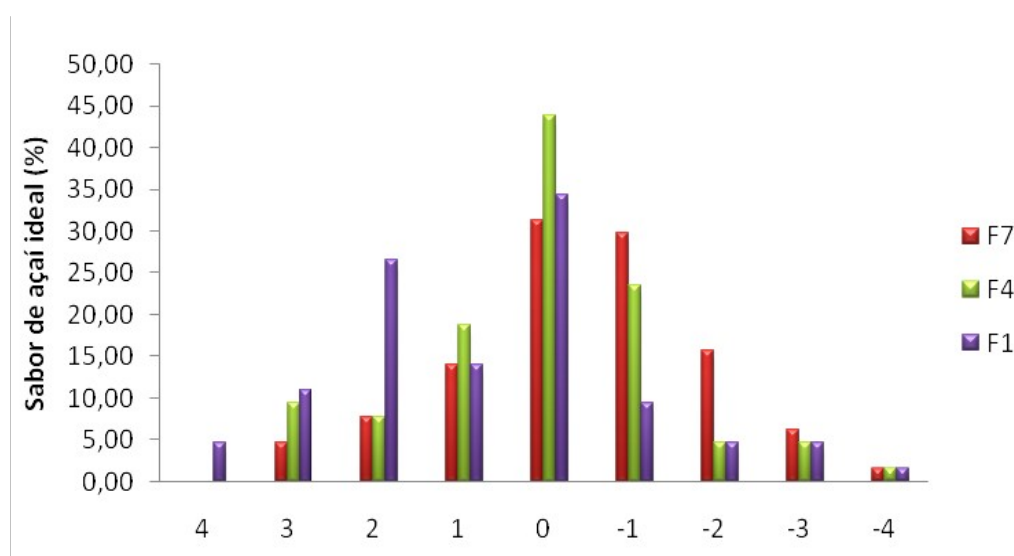
Escala do Ideal: +4 = Extremamente mais ácido que o ideal, +3 = Muito mais ácido que o ideal, +2 = Moderadamente mais ácido que o ideal, +1 = Ligeiramente mais ácido que o ideal, 0 = Ideal, -1 = Ligeiramente menos ácido que o ideal, -2 = Moderadamente menos ácido que o ideal, -3 = Muito menos ácido que o ideal, -4 = Extremamente menos ácido que o ideal.

Nas categorias “menos consistente que o ideal”, as amostras F1, F4, F7 e F8 obtiveram percentuais de respostas de 35,94; 40,62; 45,31 e 21,88 % respectivamente, já para as categorias “mais consistente que o ideal” (4, 3, 2 e 1), as porcentagens foram 31,25; 15,62; 20,31 e 26,56 % respectivamente (FIGURA 16).

A distribuição de respostas entre as categorias -1 e -4 da escala, equivalente a “menos consistente que o ideal” foi maior que a distribuição entre as categorias 1 e 4, correspondente a “mais consistente que o ideal”, para as quatro amostras analisadas, sugerindo que estas deveriam apresentar maior consistência para atingir o ideal (FIGURA 16).

Quanto à avaliação do sabor de açaí, os resultados se distribuíram por toda a escala do ideal como pode ser observado na Figura 17, porém a maior concentração pode ser observada na categoria 0 (ideal). A amostra F4 destacou-se das demais, obtendo 43,75 % das respostas. As amostras F1 e F7 alcançaram os percentuais de 34,38 e 31,25 % respectivamente.

Figura 17 – Distribuição das frequências de respostas dos provadores para avaliação do teste do ideal para o sabor de açaí do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí



Fonte: Próprio autor (2017).

Legenda: F1 (Kefir com 24 horas de fermentação e 30% de polpa de açaí), F4 (Kefir com 36 horas de fermentação e 20% de polpa de açaí), F7 (Kefir com 48 horas de fermentação e 10% de polpa de açaí) e F8 (Kefir controle).

Escala do Ideal: +4 = Extremamente mais ácido que o ideal, +3 = Muito mais ácido que o ideal, +2 = Moderadamente mais ácido que o ideal, +1 = Ligeiramente mais ácido que o ideal, 0 = Ideal, -1 = Ligeiramente menos ácido que o ideal, -2 = Moderadamente menos ácido que o ideal, -3 = Muito menos ácido que o ideal, -4 = Extremamente menos ácido que o ideal.

Nas categorias “menos sabor de açaí que o ideal”, as amostras F1, F4 e F7 obtiveram soma dos percentuais de respostas de 20,32; 34,38 e 53,13 % respectivamente. Nas categorias “mais sabor de açaí que o ideal”, as somas das porcentagens foram de 56,25; 35,94 e 26,56 % (FIGURA 17).

4.5 Estabilidade do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí durante o armazenamento

4.5.1 Estabilidade físico-química do produto

A seleção de amostras de leite fermentado Kefir foi realizada através dos testes de aceitação aplicados na análise sensorial, onde os resultados apontaram as formulações F4 (Kefir com 36 h de fermentação e 20 % de polpa) e F8 (Kefir controle) como as mais aceitas.

Os valores médios obtidos para estabilidade físico-química das amostras de leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí F4 e F8 estão dispostos na Tabela 15.

Tabela 15 - Resultados médios para a estabilidade físico-química de leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí

Amostra	Tempo	pH	Acidez Total Titulável (g ácido láctico/ 100 g amostra)	Viscosidade (cP a 10° C)	Antioxidante Total ABTS ^{•+} (µM Trolox/ g amostra)
F4	0	4,17±0,00 ^a	0,79±0,02 ^d	25,83±0,05 ^b	2,0133±0,19 ^c
	17	3,73±0,00 ^b	1,27±0,02 ^c	35,68±1,28 ^a	2,2928±0,22 ^b
	30	3,50±0,00 ^c	1,57±0,02 ^b	12,40±0,36 ^d	3,0031±0,24 ^a
	45	3,60±0,00 ^d	1,97±0,01 ^a	23,01±0,39 ^c	1,9495±0,12 ^d
F8	0	4,48±0,00 ^a	0,63±0,00 ^d	17,23±0,11 ^b	----
	17	3,97±0,02 ^b	0,96±0,01 ^c	7,13±0,07 ^d	
	30	3,61±0,00 ^c	1,30±0,02 ^b	13,62±0,04 ^c	
	45	3,70±0,00 ^d	1,48±0,01 ^a	22,89±0,57 ^a	

Fonte: Próprio autor (2017).

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, na mesma linha, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância;

Legenda: F4 (Kefir com 36 h de fermentação e 20 % de polpa) e F8 (Kefir controle).

Os parâmetros de pH e acidez obtidos para estabilidade de leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre todos os tempos de armazenamento avaliados para as amostras F4 e F8 (TABELA 15). O teor de acidez aumentou, indicando que a fermentação do Kefir adicionado de açaí continuou durante o período avaliado.

Os valores de pH diminuíram durante os 30 primeiros dias, voltando a aumentar nos últimos 15 dias, durante a avaliação da estabilidade do Kefir adicionado de açaí, o que pode ser explicado pelo alto teor de proteínas nas formulações que atuaram como tampão. Temiz; Kezer (2015) ao analisarem os efeitos da substituição de gordura em propriedades físico-químicas, microbianas e sensoriais do Kefir produzido a partir da mistura de leite de vaca e cabra obtiveram resultados semelhantes. Os autores concluíram que a natureza proteica do substituto de gordura resultou maior efeito tampão nas amostras estudadas.

Apesar do pH apresentar aumento no final da vida útil (45 dias), o resultado para acidez das amostras F4 e F8 aumentou, indicando a contínua fermentação da lactose pelos microrganismos e consequente produção de ácido láctico no produto.

Fiorda *et al.* (2016) e Kazakos *et al.* (2016), após estudarem “O armazenamento e a cinética de uma bebida potencialmente probiótica não láctea desenvolvida com grãos de Kefir e mel” e “Fermentação de suco de frutas a partir de grãos de Kefir”, respectivamente, relataram que as mensurações de pH decresceram e de acidez aumentaram durante o tempo de armazenamento, chegando a conclusão de que tais resultados foram devido ao aumento do crescimento bacteriano.

No entanto, o teor de acidez das amostras de Kefir adicionado de polpa de açaí não pode ser relacionado ao crescimento microbiano nesta pesquisa, uma vez que os resultados mais elevados para este parâmetro foram encontrados na formulação que apresentou menor quantidade de bactérias ácido lácticas (F4). Este fato demonstra que, provavelmente, o tempo de fermentação influenciou o aumento da acidez na formulação F4 visto que, tal formulação, que foi fermentada em um período de 36 horas, iniciou o estudo da estabilidade com o teor de acidez mais elevado (TABELA 15) do que a amostra F8 (24 horas de fermentação). Zelovitis *et al.* (2016) também estudaram o comportamento do pH e acidez no decorrer da vida útil de Kefir e constataram que houve decréscimo e aumento destes parâmetros (4,33 e 1,02g ácido láctico/100g), respectivamente.

Durante o processo fermentativo deste leite, a diminuição do pH promoveu a coagulação de proteínas formando um gel (PHILLIPS; WILLIAMS, 2009) capaz de aumentar a viscosidade do produto porém, os resultados obtidos na análise de viscosidade para as formulações F4 e F8 no período do armazenamento apresentaram-se menores (TABELA 15) ao compará-los com valores encontrados por Cais-Sokolińska; Wójtowski; Pikul (2016) que obtiveram variação de 438 a 81 g.s. em amostras de Kefir. No entanto, a viscosidade para as duas formulações (F4 e F8) variaram significativamente ($p \leq 0,05$) entre os tempos de avaliação da estabilidade. O mesmo foi observado por Fernandes *et al.* (2017).

Foi observado também que os valores de viscosidade oscilaram durante a estabilidade do leite fermentado concordando com Temiz; Kezer (2015), os quais, em sua pesquisa, apontaram comportamentos semelhantes.

Os resultados obtidos na avaliação da atividade antioxidante total nas amostras do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí aumentaram conforme o período do estudo da estabilidade, apresentando diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre todos os tempos de armazenamento (TABELA 15). Tal comportamento pode ser explicado pelo provável

acumulo de ácido láctico no período de armazenamento concordando com Gunenc *et al.* (2017) ao avaliarem a atividade antioxidante e solubilidade mineral de lentilhas germinadas durante a fermentação em kefir observaram que a atividade antioxidante das amostras aumentou com o tempo de armazenamento de 14 dias.

Nurliyani *et al.* (2015) ao avaliarem a influência das propriedades de Kefir preparado com extrato de leite de cabra e arroz preto nas células β pancreáticas em ratos diabéticos obtiveram resultados semelhantes para a atividade antioxidante dos produtos, no período de 7 dias. Os autores afirmaram que o aumento deste parâmetro foi devido à degradação de componentes do leite fermentado Kefir por microrganismos, produzindo compostos fenólicos durante o armazenamento. Kök-Tas; Budak; Guzel-Seydim (2013) compararam a atividade antioxidante de componentes bioativos presentes em grãos de Kefir e no leite fermentado Kefir, obtendo comportamento semelhante ao desta pesquisa.

Como era esperado, a análise da atividade antioxidante total realizada através do método de captura ABTS^{•+} não determinou atividade antioxidante na formulação F8 (Kefir controle).

4.5.2 Estabilidade microbiológica

Os resultados para a estabilidade microbiológica do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí durante o período de 45 dias estão dispostos nas Tabelas 16 e 17.

A partir dos resultados das contagens de bactérias ácido lácticas nas formulações de leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí observou-se que na amostra F8 houve decréscimo no número de colônias bacterianas até dia 30, voltando a aumentar no dia 45 (TABELA 16). Tal fato pode estar relacionado ao comportamento da acidez (TABELA 15).

A amostra F4 apresentou diminuição da contagem de bactérias ácido lácticas (UFC/g), quando foram comparados os quatro tempos avaliados no período de 45 dias de armazenamento (TABELA 16). A maior acidez da amostra F4 provavelmente ocasionou redução no número de bactérias ácido lácticas. Corroborando com este resultado, Kazakos *et al.* (2016) apontaram que a quantidade de bactérias ácido lácticas decresceram durante os dias de armazenamento sendo influenciado pelo aumento da acidez determinada no mesmo período.

Tabela 16 – Resultados médios para a contagem das bactérias ácido lácticas do leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí durante armazenamento a 10°C

Amostras	Tempo de armazenamento (dias) a 10°C			
	0	17	30	45
F8	1,74 x 10 ⁸	1,07 x 10 ⁸	0,68 x 10 ⁸	0,89 x 10 ⁸
F4	2,53 x 10 ⁸	1,50 x 10 ⁸	0,99 x 10 ⁸	2,15 x 10 ⁷

Fonte: Próprio autor (2017).

Legenda: F4 (Kefir com 36 h de fermentação e 20 % de polpa de açaí, F8 (Kefir controle).

Resultados obtidos em UFC/mL de leite fermentado.

A contagem de bolores e leveduras cresceu até os 15 primeiros dias de armazenamento para as duas formulações (F4 e F8), decaindo nos últimos 15 dias (TABELA 17). Para tal verificou-se que os bolores e as leveduras estudados demonstraram maior sensibilidade ao aumento da acidez no período da estabilidade.

Tabela 17 – Resultados médios para a estabilidade de bolores e leveduras em leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí

Amostras	Tempo de armazenamento (dias) a 10°C			
	0	17	30	45
F8	2,2 x 10 ⁶	0,71 x 10 ⁷	1,93 x 10 ⁶	1,1 x 10 ⁵
F4	6,3 x 10 ⁶	0,19 x 10 ⁷	0,52 x 10 ⁶	0,17 x 10 ⁶

Fonte: Próprio autor (2017).

Legenda: F4 (Kefir com 36 h de fermentação e 20 % de polpa de açaí, F8 (Kefir controle).

Resultados obtidos em UFC/mL de leite fermentado.

Leite *et al.* (2013a) que estudaram análises microbiológicas e químicas de Kefir brasileiro durante o processo de fermentação e armazenamento, obtiveram resultados constantes (mesmas unidades log) tanto para bactérias ácido lácticas como para leveduras. Fernandes *et al.* (2017) relataram que as contagens de bactérias ácido lácticas foram superiores a 7,8 log UFC/g porém, as de leveduras se mantiveram inferiores a 6 log UFC/g de amostra quando avaliaram os teores isoflavônicos e fenólicos totais de armazenamento de leite de soja fermentado com Kefir. Os autores afirmaram que os valores microbiológicos encontrados atenderam aos requisitos exigidos pela legislação (BRASIL, 2007) e que um produto pode ser considerado probiótico se durante toda a vida útil tiver um mínimo de 6 log UFC/g de bactérias ácido láctico.

Segundo Fiorda *et al.* (2016) em sua pesquisa obtiveram crescimento constante tanto para bactérias ácido lácticas como para bolores e leveduras analisados durante os 35 dias

de armazenamento. Brien *et al.* (2016) observaram que os lactobacilos, lactococos e as leveduras foram significativamente reduzidos em número durante 30 dias de congelamento, após analisarem os efeitos do armazenamento congelado na sobrevivência de microorganismos probióticos encontrados no Kefir tradicional e comercialmente fabricado. Os autores afirmaram que apesar das baixas contagens em ambas as amostras, a quantidade de microorganismos ainda foi maior no Kefir tradicional que no comercial.

5 CONCLUSÕES

Os resultados observados durante a realização deste trabalho permitiram chegar às seguintes conclusões:

- O leite fermentado Kefir apresenta boa aceitação sensorial. Apesar da amostra controle (F8) exibir desempenho sensorial melhor, a adição de 20 % de polpa de açaí ao Kefir fermentado em 36 h também foi bem apreciado pelos consumidores.
- O tempo de fermentação estudado de 24, 36 e 48 horas influencia nas características físico-químicas de acidez, pH, viscosidade e atividade antioxidante total das amostras de Kefir avaliadas. Neste sentido, há correlação positiva entre a acidez e atividade antioxidante, pois observou-se que valores de acidez mais elevados aumentam a atividade antioxidante do Kefir adicionado de polpa de açaí.
- A acidez característica do produto interfere na aceitação pelos consumidores. O Kefir com menor tempo de fermentação (24 h) apresenta menor teor de acidez, sendo apontado como de acidez ideal.
- Da mesma maneira, a concentração da polpa de açaí influencia na acidez e na aceitação das amostras de Kefir. O aumento da concentração de polpa diminui a acidez no produto final. Dentre as concentrações avaliadas, a amostra F4 é a mais aceita, sendo a concentração de 20 % indicada como sabor de açaí ideal.
- No período de armazenamento estudado de 45 dias, o leite fermentado Kefir e o adicionado de polpa de açaí apresentaram-se estáveis. Em ambos produtos, o pH diminui, enquanto a acidez e a atividade antioxidante total aumentam com o tempo.
- Apesar das propriedades probióticas dos microrganismos presentes no Kefir não terem sido avaliadas, a contagem de bactérias ácido lácticas em torno de 10^7 a 10^8 demonstram que o produto exibe potencial probiótico.
- Portanto, os leites fermentados Kefir com ou sem polpa de açaí são produtos novos para o mercado brasileiro, com potencial probiótico, boa aceitação sensorial, com atitude positiva de aquisição pelos consumidores e maior estabilidade que os demais leites fermentados.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, F. A. et al. Análise sensorial e microbiológica de Kefir artesanal produzido a partir de leite de cabra e de leite de vaca. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.66, n. 378, p. 51-56, 2011.
- ANDREWS, H. W. et al. **Salmonella**. In: Food and Drug Administration. **Bacterial Analytical Manual**. 8 ed. 2016. Disponível em:<
<https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>>. Acesso em: 10 mai. 2017.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. **Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemistry**. 20 ed. Washington, DC, 2016.
- APHA. **American Public Health Association**. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3 °ed., 1992.
- BALDISSERA, A. C. et al. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas proteicas a base de soro de leite. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1497-1512, 2011.
- BAPTISTA, I. et al. Conhecimento da comunidade universitária em relação ao alimentos funcionais. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, Maringá, v. 35, n. 1, p. 15-21, 2013.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA. Resolução de Diretoria Colegiada nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da União; Poder Executivo, Brasília - DF, 02 jan. 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n.46, 23 de outubro de 2007. Aprova o **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados**. Diário Oficial, Brasília, 24 out. 2007, seção 1, p. 5.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprova o **Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel**, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 30 dez. 2011. Seção 1, p. 6.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria nº 146, de 7 de março de 1996. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite UAT (UHT)**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 11 mar. 1996. Seção 1, p. 3977.
- BRASIL, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 01, de 07 de janeiro de 2000. Aprova o **Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para polpa de fruta**. Diário Oficial da União, Brasília, 10 jan. 2000. Seção 1, p. 54.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprova o **Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes. Resolução n. 16, de 30 de abril de 1999.** Diário Oficial da União, Brasília - DF, 03 mai. 1999a, Seção 1, Página 11.

BRIEN, K. V. O. et al. Short communication: The effects of frozen storage on the survival of probiotic microorganisms found in traditionally and commercially manufactured Kefir. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 9, p. 7043–7048, 2016.

CAETANO, D. R.; MONTANHINE, M. T. M. Análise microbiológica de leite fermentado Kefir produzido com leite contaminado por *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**. Paraná, v. 5, n. 1, p. 33–38, 2014.

CAIS-SOKOLIŃSKA, D.; WÓJTOWSKI, J.; PIKUL, J. Rheological, texture and sensory properties of Kefir from mare's milk and its mixtures with goat and sheep milk. **Mljekarstvo**, v. 66, n. 4, p. 272-281, 2016.

CAMARA, F. A.; WESCHENFELDER, S. Leite UHT integral: avaliação da rotulagem nutricional e dos padrões de identidade e qualidade. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 69, n. 4, p. 268-279, 2014.

CARNEIRO, R. P. **Desenvolvimento de uma cultura iniciadora para produção de Kefir.** 2010. 143 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

CARVALHO, N. C. de. **Efeito do método de produção de Kefir na vida de prateleira e na infecção experimental com *Salmonella* Typhimurium em camundongos.** 2011. 135 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

CARVALHO, A. V. et al. Chemical composition and antioxidant capacity of açai (*Euterpe oleracea*) genotypes and commercial pulps. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, p. 1467-1474, 2017.

CHUNCHOM, S.; TALUBMOOK, C.; DEESEENTHUM, S. Antioxidant activity, biochemical components and sub-chronic toxicity of different brown rice Kefir powders. **Pharmacognosy Journal**, v. 9, n. 3, p. 388 – 394, 2017.

CHUNG, C. et al. Enhancement of colour stability of anthocyanins in model beverages by gum Arabic addition. **Food Chemistry**, v. 201, n. 15, p. 14–22, 2016.

CORONA, O. et al. Characterization of Kefir-like beverages produced from vegetable juices. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 572-581, 2016.

COSTA, M. P. et al. Leite fermentado: potencial alimento funcional. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 9, n. 16, p. 1387 - 1408, 2013.

COUTINHO, R. M. P. et al. Physicochemical and microbiological characterization and antioxidant capacity of açai pulps marketed in the states of Minas Gerais and Pará, Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 47, n. 1, p. 1 – 6, 2017.

DEMBITSKY, V. M. et al. The multiple nutrition properties of some exotic fruits: biological activity and active metabolites. **Food Research International**, Essex, v. 44, n. 7, p. 1671-1701, 2011.

DOMARESKI, J. L. et al. Avaliação físico-química e microbiológica do leite UHT comercializado em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai). **Archivos Latinoamericano de Nutrición**, Caracas, v. 60, n. 3, p. 261-269, 2010.

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

FAO - Food and Agriculture Organization. **Produção vegetal**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 20 out. 2015.

FARNWORTH, E.R. **Handbook of Fermented Functional Foods**. Boca Raton: CRC Press. 2008.

FARNWORTH, E.R. Kefir- a complex probiotic. **Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods**, v. 2, p. 1-17, 2005.

FENG, P.; WEAGANT, S. D.; GRANT, M. A.; BURKHARDT, W. **Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria**. In: UNITED STATES. Food and Drug Administration. **Bacteriological analytical manual online**, 8 ed., Cap. 4, 2002. Disponível em: <<https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>>. Acesso em: 10 mai. 2017.

FERNANDES, G. R. **Aplicações tecnológicas atuais e potenciais no mercado para alimentos probióticos**. 2013. 43 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado Interdisciplinar em Biosistemas) - Universidade Federal de São João del-Rei, Sete Lagoas, 2013.

FERNANDES, M. da S. et al. Evaluation of the isoflavone and total phenolic contents of Kefir fermented soymilk storage and after the in vitro digestive system simulation. **Food Chemistry**, v. 229, p. 373–380, 2017.

FIORDA, F. A. et al. Evaluation of a potentially probiotic non-dairy beverage developed with honey and Kefir grains: Fermentation kinetics and storage study. **Food Science and Technology International**, v. 22, n. 8, p. 732–742, 2016.

FILCHAKOVA, S.A; KOROLEVA, N.S. The influence of culturing conditions on the composition and microflora of Kefir grains. **Mol. Prom.**, v. 5, p. 37, 1997.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS, WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Córdoba, 2001.

34p. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf>. Acesso em: 08 set. 2015.

FREITAS, B. et al. Características Físico-químicas, Bromatológicas, Microbiológicas e Microscópicas de Polpas de Açaí (*Euterpe oleraceae*) Congeladas do Tipo B. **Journal of Applied Pharmaceutical Sciences – JAPHAC**, v. 2, n. 2, p. 2-13. 2015.

GALLINA, D. A. et al. Caracterização de bebida obtida a partir de leite fermentado simbiótico adicionado de polpa de goiaba e avaliação da viabilidade das bifidobactérias. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67. n. 386, p. 45-54, 2012.

GARCIA, R. V.; TRAVASSOS, A. E. R. Leite fermentado caprino sabor umbu: elaboração e aceitabilidade. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 71, n. 1, p. 134-139, 2012.

GARMUS, T. T. et al. Avaliação sensorial e físico-química de iogurte enriquecido com farinha de linhaça. **Ambiência Guarapuava**, v.12 n.1 p. 251 – 258, 2016.

GARZÓN, G. A. et al. Polyphenolic composition and antioxidant activity of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) from Colombia. **Food Chemistry**, v. 217, p. 364–372, 2017.

GON, R. L. R. **Aplicação e viabilidade de *L. acidophilus*, *Bifidobacterium Ee S. thermophilus* microencapsulados em frozen yogurt de soja**. 2014. 54 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014.

GORDON, A. et al. Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of Açai fruits (*Euterpe oleraceae* Mart.) during ripening. **Food Chemistry**, v. 133, p. 256–263, 2012.

GUL, O. et al. Manufacture and characterization of Kefir made from cow and buffalo milk, using Kefir grain and starter culture. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 3, p. 1517–1525, 2015.

GUNENC, A. et al. Enhancements of antioxidant activity and mineral solubility of germinated wrinkled lentils during fermentation in kefir. **Journal of Functional Foods**, v. 32, p. 72–79, 2017.

HONORIO, R. et al. Effect of Storage on Quality of UHT Milk. **Uniciências**, v.19, n.1, p.11-16, 2015.

HUNGRIA, T. D.; LONGO, P. L. Viabilidade de *Lactobacillus casei* em alimento probiótico infantil relacionada a vida-de-prateleira. **Revista Saúde**, v. 3, n. 3, p. 10 – 15, 2009.

HUSEINI, F. H. et al. Evaluation of wound healing activities of Kefir products. **SciVerse Science Direct**. B u r n s. v. 3 8. p. 7 1 9 – 7 2 3, 2012.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 1. ed. Digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

KAZAKOS, S. et al. Production of low-alcohol fruit beverages through fermentation of pomegranate and orange juices with Kefir grains. **Current Research in Nutrition and Food Science**, v. 4, n. 1, p. 19-26, 2016.

KÖK-TAS, T.; BUDAK, N.; GUZEL-SEYDIM, Z. Bioactive components of Kefir. **Posters presented at the idf world dayri summit: Yokohama, Japan, 2013.**

KNEIFEL, W.; MAYER, H. K. Vitamin profiles of Kefir made from milks of different species. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 66, p. 423-428, 1991.

LEITE, A. M. O. et al. Microbiological and chemical characteristics of Brazilian Kefir during fermentation and storage processes. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 4149-4159, 2013a.

LEITE, A. M. O. et al. Assessment of the microbial diversity of Brazilian Kefir grains by PCR-DGGE and pyrosequencing analysis. **Food Microbiology**, v. 31, p. 215-221, 2012.

LEITE, A. M. O. et al. Microbiological, technological and therapeutic properties of Kefir: a natural probiotic beverage. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 2, p. 341-349, 2013b.

LIMA, A. R. C. **Avaliação sensorial, química e microbiológica de bebidas lácteas fermentadas elaboradas com polpa de frutas tropicais.** 2011. 62 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

LIU, J.A.P.; MOON, N.J. Kefir-a “new” fermented milk product. **Cultured Dairy Products Journal**, Washington, v. 83, n 3, p.11-12. 2002.

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

LONDERO, A. et al. Kefir grains as a starter for whey fermentation at different temperatures: chemical and microbiological characterisation. **Journal of Dairy Research**, v. 79, p. 262 – 271, 2012.

MAGALHÃES, K. T. **Produção de bebidas fermentadas Kefir de soro de queijo.** 2010. 133 p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

MARQUES, A. P. **Desenvolvimento de bebida láctea fermentada à base de soro lácteo e café solúvel com atividade probiótica.** 2012. 111 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

MARTINS, L. S. P. **Monitoramento da produção de ácidos orgânicos em amostra de leite fermentado pelos grãos de Kefir do Tibet utilizando técnicas voltamétricas e HPLC.** 2006. 176 p. Tese (Doutorado em Ciências – Química Analítica) - Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

- MELO, P. S. et al. Winery by-products: Extraction optimization, phenolic composition and cytotoxic evaluation to act as a new source of scavenging of reactive oxygen species. **Food Chemistry**, v. 181, p. 160-169, 2015.
- MENEZES, E. M. S.; TORRES, A. T.; SRUR, A.U. S. Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 38, n. 2, p. 311-316, 2008.
- MENEZES, E. et al. Preferences and attitudes towards açaí-based products among North American consumers. **Food Research International**, v. 44, p. 1997–2008, 2011.
- MINIM, V. P. R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2013. 332 p.
- MONTANUCI, F. D. **Bebidas de Kefir com e sem inulina em versões integral e desnatada: elaboração e caracterização química, física, microbiológica e sensorial**. 2010. 142 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Londrina, 2010.
- NIKOLAOU, A. et al. Assessment of free and immobilized Kefir culture in simultaneous alcoholic and malolactic cider fermentations. **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, p. 67-78, 2017.
- NÓBREGA, F.J. **O que você quer saber sobre Nutrição – Perguntas e respostas comentadas**. 2. ed. Barueri, São Paulo: Manole, p. 832, 2014.
- NOGUEIRA, L. K. et al. Milk and açaí berry pulp improve sensorial acceptability of Kefir-fermented milk beverage. **ACTA Amazonica**, v. 46, n. 4, p. 417-424, 2016.
- NURLIYANI.; SADEWA, A. H.; SUNARTI. Kefir Properties Prepared with Goat Milk and Black Rice (*Oryza sativa* L.) Extract and its Influence on the Improvement of Pancreatic β -Cells in Diabetic Rats. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 27, n. 10, p. 727-735, 2015.
- OLIVEIRA A. G.; COSTA M. C. D.; ROCHA S. M. B. M. Benefícios funcionais do açaí na prevenção das doenças cardiovasculares. **Journal of Amazon Health Science** v.1, n.1, p. 1-10, 2015.
- OLIVEIRA, E. N. A. de; SANTOS, D. da C. Processamento e avaliação da qualidade de licor de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 70, n. 4, p. 534-541, 2011.
- OLIVEIRA, M. N. et al. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 1, p.1-21, 2002.
- ORDÓÑEZ J. A. **Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal**. v. 2, Porto Alegre: Atmed, 2005.
- OTLES S. CAGINDI O. Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. **Food Engineering Department**, v. 2, p. 54-59, 2003.

- OUWEHAND, A.C; SALMINEN, S.; ISOLAURI, E. Probiotics: An overview of beneficial effects. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 82, p. 279-289, 2002.
- PAWLOS, M. et al. The influence of the dose of calcium bisglycinate on physicochemical properties, sensory analysis and texture profile of Kefirs during 21 days of cold storage. **Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria**, v. 15, n.1, p. 37-45, 2016.
- PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. **Handbook of hydrocolloids**, 2 ed. p. 902, New York, Washington: CRC Press, 2009.
- PORTINHO, J. A.; ZIMMERMANN, L. M.; BRUCK, M. R. Efeitos Benéficos do Açaí. **International Journal of Nutrology**, v.5, n.1, p. 15-20, 2012.
- POTTER, N.N.; HOTCHKISS, J.H. **Ciência de los alimentos**, Zaragoza: Acribia, S.A. 1999.
- PRADO, M. R. M. et al. Anti-inflammatory and angiogenic activity of polysaccharide extract obtained from Tibetan Kefir. **Microvascular Research**, v. 108, p. 29–33, 2016.
- PUERARI, C; MAGALHÃES, K. T. SCHWAN, R. F. New cocoa pulp-based Kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. **Food Research International**, v. 48, p. 634-640, 2012.
- RAMOS, A. C. S. de M. et al. Samara Alvachian Cardoso ANDRADE, S. A. C; SILVA, C. G. M. da. Elaboração de bebidas lácteas fermentadas: aceitabilidade e viabilidade de culturas probióticas. **Semana: Ciências Agrárias**, Londrina: v. 34, n. 6, p. 2817-2828, 2013.
- RANDAZZO, W. et al. Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water Kefir microorganisms. **Food Microbiology**, v.54, p. 40-51, 2016.
- RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 26, p.1231–1237, 1999.
- REIS, D. L. do. **Qualidade e inocuidade microbiológica de derivados lácteos fermentados produzidos no Distrito Federal**. 2013. 76 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) - Universidade de Brasília, Brasília. 2013.
- 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.
- ROCHA, D. M. U. P. et al. Labneh with probiotic properties produced from Kefir: development and sensory evaluation. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 34, n. 4, p. 694-700, 2014.
- RODRÍGUEZ, J. M. Probióticos: del laboratorio al consumidor. **Nutrición Hospitalaria**, v. 31, n. 1, p. 33-47, 2015.

- RODRIGUES, M. I. **Protimiza experimental design**. 2014. Disponível em: <<http://experimental-design.protimiza.com.br/>>. Acesso em: 03 mar. 2017.
- ROSA, L. S. et al. Physicochemical quality assessment of ultra-pasteurized Milk commercially in the City of Erechim-RS. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência e Tecnologia**, v. 3, n. 2, p. 99-107, 2015.
- SADIAH, I.; NURLAELASARI, A.; HANDAYANI, M. N. Physicochemical Characteristics of Mung Bean Kefir with Variation Levels of Skim Milk and Fermentation Time. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 180, 2017.
- SANTOS, C. T. et al. Influência da concentração de soro na aceitação sensorial de bebida láctea fermentada com polpa de manga. **Alimentos e Nutrição**. Araraquara, v.19, n.1, p. 55-60, 2008b.
- SANTOS, C. A. A.; COELHO, A. F. S.; CARREIRO, S. C. Avaliação microbiológica de polpas de frutas congeladas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 913-915, 2008.
- SANTOS, F. L. et al. **Kefir: Uma nova fonte alimentar funcional?** Recôncavo Baiano, 2012. Disponível em: <http://www2.ufrb.edu.br/Kefirdoreconcavo/images/22_03_12_artigo01.pdf>. Acesso em: 23 set. 2015.
- SANTOS, G. M. et al. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 58, n. 2, 2008a.
- SANTOS, M. R.; BASSOS, C. Análise físico-química e sensorial de gelatina à base de quefir. **Revista Disciplinarum Scientia**. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 14, n. 1, p. 93-100, 2013.
- SARKAR, S. Potencial of Kefir as a dietetic beverage: A review. **British Food Journal**, v. 109, p. 280-290, 2007.
- SATIR, G.; GÜZEL-SEYDIM, Z. B. Influence of kefir fermentation on the bioactive substances of different breed goat milks. **LWT – Food Science and Technology**, v. 63, n. 2, p. 852–858, 2015.
- SEMENIUC, C. A. et al. 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, 2016.
- SIVIERI, K.; OLIVEIRA, M. N. de. Avaliação da vida-de-prateleira de bebidas lácteas preparadas com “fat replacers” (litesse e dairy-lo). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22 n. 1. p. 24-31, 2002.
- STATSOFT. STATISTICA for Window – Computer programa manual. Versão 7.0 Tulsa: Statsoft Inc. 2007.

TAMINE, A.Y. Fermented milks: a historical food with modern applications – a review. **European Journal of Clinical Nutrition**. v. 56, p. 2-15, 2002.

TEMIZ, H.; KEZER, G. Effects of fat replacers on physicochemical, microbial and sensorial properties of Kefir made using mixture of cow and goat's Milk. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, p. 1421-1430, 2015.

VESCONSE, C. N.; VALDUGA, A. T.; CICHOSKI, A. J. Particle sedimentation in semi-skimmed, skimmed on whole milk UHT, during storage. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 4, p. 730-736, 2012.

VIDAL, A. M. et al. A ingestão de Alimentos Funcionais e sua Contribuição para a Diminuição da Incidência de Doenças. Cadernos de Graduação - **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1, n. 15, p. 43-52, 2012.

VILJOEN, B. C. The interaction between yeasts and bacteria in dairy environments. **International Journal of Food Microbiology**, v. 69, p. 37-44, 2001.

WENDLING, L. K.; WESCHENFELDER, S. Probióticos e alimentos lácteos fermentados – uma revisão. **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 68, n. 395, p. 49-57, 2013.

WESCHENFELDER, S. **Caracterização de Kefir tradicional quanto a composição físico-química, sensorialidade e atividade anti-*Escherichia coli***. 2009. 17 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

WESCHENFELDER, S. et al. 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.

WESCHENFELDER, S. **Elaboração e avaliação físico-química e microbiológica de produtos lácteos obtidos a base de Kefir**. 2016. 114 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

YUYAMA, L. K. O. et al. Caracterização físico-química do suco de açaí de Euterpe precatoria Mart. oriundo de diferentes ecossistemas amazônicos. **ACTA Amazonica**, v. 41, n. 4, p. 545 – 552, 2011.

ZELOVITIS, I. et al. Manufacture of a “Functional” Fermented Milk Product with the Addition of an Alcoholic Plant Origin Extract. **Current Research in Nutrition and Food Science**, v. 4, n. 2, p. 97-104, 2016.

ANEXOS

FORMULÁRIO PARA ANÁLISE SENSORIAL

Nome: _____ Data: _____

Sexo: () Feminino () Masculino Idade: () 18-25 () 26-35 () 36- 56 () acima de 57

Grau de escolaridade: _____

Por favor, antes de avaliar as amostras responda este questionário.

- 1- Com que frequência você consome produtos lácteos? 2- Com que frequência você consome de produtos com açaí?
 () Semanalmente () Ocasionalmente () () Semanalmente () Ocasionalmente () Quinzenalmente
 Quinzenalmente () Não consumo () Não consumo
- 3- O quanto você gosta de leite fermentado? 4- Com que frequência você consome leite fermentado?
 () Gosto muitíssimo () Gosto moderadamente () Semanalmente () Ocasionalmente
 () Não gosto () Gosto muito () Gosto ligeiramente () Quinzenalmente () Não consumo
- 5- O quanto você gosta de açaí?
 () Gosto muitíssimo () Gosto moderadamente
 () Não gosto () Gosto muito () Gosto ligeiramente

Por favor, avalie cada uma das amostras servidas utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou com relação a cor, aroma, sabor, consistência, sabor residual e impressão global.

9. Gostei muitíssimo

Amostras	Cor	Aparência	Aroma	Sabor	Sabor residual	Consistência	Impressão Global

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

Por favor, avalie a ACIDEZ, CONSISTÊNCIA E SABOR DE AÇAÍ do produto e indique, utilizando a escala abaixo, o quão próximo do ideal está a consistência de cada amostra.

Amostras	Acidez	Consistência	Sabor de açaí

+4 Extremamente mais forte que o ideal

+3 Muito mais forte que o ideal

+2 Moderadamente mais forte que o ideal

+1 Ligeiramente mais forte que o ideal

0 Ideal

--1 Ligeiramente menos forte que o ideal

--2 Moderadamente menos forte que o ideal

--3 Muito menos forte que o ideal

--4 Extremamente menos forte que o ideal

9- Avalie a sua intenção de compra

5. Certamente compraria

4. Provavelmente compraria

3. Tenho dúvida se compraria

2. Provavelmente não compraria

Amostras	Atitude de Compra

1.Certamente não compraria