

Caracterização e estabilidade de Kefir com adição de polpa de açaí
Characterization and stability of Kefir with addition of açaí pulp
Caracterización y estabilidad del kéfir con la adición de pulpa de açaí

Recebido: 02/06/2020 | Revisado: 20/06/2020 | Aceito: 24/06/2020 | Publicado: 05/07/2020

Lívia Gabrielle Maciel Sales

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7515-4501>

Universidade Federal do Ceará, Brasil

E-mail: liviaabysales@gmail.com

Gizele Almada Cruz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0436-9553>

Universidade Federal do Ceará, Brasil

E-mail: gizelealmada27@gmail.com

Laura Maria Bruno

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0875-7716>

Embrapa Agroindústria Tropical, Brasil

E-mail: laura.bruno@embrapa.br

Nhaiara Monteiro de Farias Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4724-4654>

Universidade Federal do Ceará, Brasil

E-mail: nhaiaram@gmail.com

Francisca Lívia de Oliveira Machado

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3126-3084>

Universidade Federal do Ceará, Brasil

E-mail: liviaadeha@gmail.com

Juliane Döering Gasparin Carvalho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0199-7864>

Universidade Federal do Ceará, Brasil

E-mail: julianedgc@gmail.com

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 frutas ao Kefir

agrega valor nutricional e sensorial ao produto. Esta pesquisa objetivou produzir Kefir adicionado de polpa de açaí e avaliar suas características físico-químicas, sensoriais e sua estabilidade por 45 dias. O Kefir foi elaborado a partir de leite fermentado por meio dos grãos de Kefir com diferentes concentrações de polpa de açaí. O processamento das formulações foi determinado por meio de planejamento fatorial, totalizando sete ensaios. As variáveis independentes foram o tempo de fermentação (24 e 48 h) e a concentração de polpa de açaí (10% e 30%), sendo acidez, a variável resposta. 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 das amostras Kefir atenderam os requisitos estabelecidos pela legislação. Os atributos sensoriais apresentaram elevados percentuais de frequência de respostas na faixa de aceitação da escala Hedônica para todas as formulações avaliadas. As amostras apresentaram boa intenção de compra pelos provadores. O período de armazenamento estudado em 45 dias demonstrou que as formulações se mantiveram com contagem de bactérias ácido lácticas viáveis, com acidez acima do estabelecido pela legislação a partir de sete dias. Portanto, os produtos elaborados são potencialmente probióticos, com boa aceitação sensorial, atitude positiva de aquisição pelos consumidores e estabilidade de 45 dias.

Palavras-chave: Análise sensorial; Alimento funcional; Leite fermentado.

Abstract

Kefir is a fermented milk which can have functional properties such as intestinal regulation and increased immune resistance. The fruit addition to Kefir aggregates nutritional and sensory value to the product. The research aimed to produce Kefir added from açaí pulp and evaluate its physicochemical and sensory characteristics and its stability for 45 days. Kefir was made from milk, fermented using Kefir grains, later added with different concentrations of açaí pulp. The processing of Kefir formulations was determined through factorial design, resulting in seven tests. The independent variables were the fermentation time (24 and 48h) and the concentration of açaí pulp (10% and 30%), with acidity being the variable response. The results of the physicochemical and sensory analyzes were subjected to statistical treatment through analysis of variance (ANOVA) and the averages were compared using the Tukey test. The physicochemical parameters of the Kefir samples are in accordance with the requirements established by the legislation. The sensory attributes showed high percentages of frequency of responses in the acceptance range of the Hedonic scale for all formulations evaluated. The samples displayed good intention of purchase by the tasters. The storage

period studied in 45 days presented that the formulations remained with a viable count of lactic acid bacteria, with acidity above the established by the legislation from seven days. Therefore, the produced products are potentially probiotic, with good sensory acceptance and a positive purchase attitude from consumers and stability of 45 days.

Keywords: Sensory analysis; Functional food; Fermented milk.

Resumen

El kéfir es una leche fermentada que puede tener propiedades funcionales, entre las que se encuentran la regulación intestinal y el aumento de la resistencia inmune. La adición de fruta al kéfir agrega valor nutricional y sensorial al producto. Esta investigación tuvo como objetivo producir kéfir agregado de pulpa de açaí y evaluar sus características físico químicas, sensoriales y su estabilidad durante 45 días. El kéfir fue hecho con leche fermentada con granos de kéfir y diferentes concentraciones de pulpa de açaí. El procesamiento de las formulaciones de kéfir se determinó mediante un diseño factorial, totalizando siete pruebas. Las variables independientes fueron el tiempo de fermentación (24 y 48h) y la concentración de pulpa de açaí (10% y 30%), siendo la acidez la variable de respuesta. Los resultados de los análisis físico químicos y sensoriales se sometieron a un tratamiento estadístico a través del análisis de varianza (ANOVA) y los promedios obtenidos se compararon mediante la prueba de Tukey. Los parámetros físico químicos de las muestras de kéfir cumplieron los requisitos establecidos por la legislación. Los atributos sensoriales mostraron altos porcentajes de frecuencia de respuestas en el rango de aceptación de la escala hedónica para todas las formulaciones evaluadas. Las muestras presentaron buena intención de compra por parte de los probadores. El período de almacenamiento estudiado en 45 días mostró que las formulaciones permanecieron con un recuento de bacterias ácidas viables viables, con una acidez superior a la establecida por la legislación de siete días. Por lo tanto, los productos elaborados son potencialmente probióticos, con buena aceptación sensorial, actitud positiva de adquisición por parte de los consumidores y una estabilidad de 45 días.

Palabras clave: Análisis sensorial; Comida funcional; Leche fermentada.

1. Introdução

Com o aumento da demanda do mercado consumidor por alimentação mais regrada e saudável, estudos são realizados com a finalidade de desenvolver leites fermentados diversificados utilizando diferentes culturas iniciadoras. Dentre as culturas iniciadoras

empregadas na produção de leites fermentados estão os grãos de Kefir, os quais possuem potencial biotecnológico e probiótico promissor. No entanto, o Kefir ainda é um produto lácteo artesanal pouco industrializado no Brasil, mas que vem chamando a atenção pelas suas propriedades benéficas à saúde do consumidor.

O Kefir é um leite fermentado, tradicionalmente, por grãos de Kefir compostos de consórcio de bactérias ácido lácticas, ácido acéticas e leveduras, à temperatura ambiente por aproximadamente 24 horas, com características levemente carbonatada e de sabor ácido (Walsh et al., 2016). O ácido láctico e outros compostos produzidos durante as fermentações agem como conservantes naturais (Weschenfelder et al., 2011), podendo influenciar na estabilidade do Kefir e proporcionar maior segurança biológica.

Os grãos de Kefir possuem aspecto gelatinoso de formato irregular, medindo entre 1 e 6 mm de diâmetro, com coloração branca ou levemente amarela, sendo constituído de uma matriz polissacarídica denominada Kefirano, composto de glicose e galactose, e no qual a microbiota coabita em relação simbiótica (Montanuci et al., 2012). Os polissacarídeos extracelulares, produzidos durante a fermentação do leite com grãos de Kefir, propiciam aumento da viscosidade, retenção de água e interação com os demais componentes do leite, promovendo rigidez da matriz de caseína do produto final e menor sinérese (Farnworth, 2005; Montanuciet al., 2012).

Bactérias ácido lácticas, como *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidus*, são encontradas nos grãos de Kefir, atribuindo características probióticas à bebida (Melo et al., 2018). De acordo com a legislação brasileira vigente, os probióticos podem ser definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde dos indivíduos (Brasil, 2018). As propriedades probióticas podem promover à regulação intestinal humana, assim como efeitos imunológicos, resultando em aumento da resistência contra patógenos (Costa et al., 2013, Santos & Basso, 2013). Além disso, existem relatos científicos que comprovam atividade antitumoral (Liu & Moon, 2002), angiogênica, antiinflamatória (Prado et al. , 2016) e cicatrizantes (Huseini et al., 2012).

Desse modo, o Kefir é um produto saudável com potencial probiótico, o qual pode ser adicionado de frutas que contribuam no perfil nutricional da bebida e como forma de minimizar o sabor ácido oriundo da fermentação de açúcares, tornando-o mais agradável ao consumo. Além disso, o emprego de frutas na industrialização desse leite fermentado, é um incentivo econômico aos pequenos produtores (Mendes, 2019).

Dentre as opções de frutos para saborização do Kefir está o Açaí (*Euterpe oleracea*), fruto rico em polifenóis com características antioxidantes, as quais têm sido

estudadas devido ao potencial na prevenção de doenças relacionadas às síndromes metabólicas (Cedrim; Barros & Nascimento, 2018). Nesse sentido, o Brasil tem se destacado no mercado internacional como o maior produtor de açaí e devido a crescente ingestão no controle e prevenção de doenças como diabetes, dislipidemia e doenças cardiovasculares, além de sua ação benéfica anti-inflamatória (Oliveira et al., 2010; Bonomo et al., 2014)

Diante do exposto, esse trabalho objetivou elaborar leite fermentado Kefir adicionado de polpa de açaí e avaliar suas características físico-químicas e de estabilidade, bem como analisar a aceitação sensorial pelo consumidor.

2. Metodologia

Esta pesquisa apresenta natureza experimental com abordagem quantitativa, na qual foi estudada o efeito das variáveis tempo de fermentação da bebida e a concentração de polpa de açaí na aceitação pelos consumidores. Os resultados quantitativos obtidos foram submetidos à análise estatística (Pereira, et al. 2018).

2.1 Obtenção da matéria-prima e planejamento experimental

Para elaboração do Kefir adicionado de polpa de açaí foi empregado delineamento fatorial 2^2 , com ponto central repetido três vezes, totalizando sete ensaios (Tabela 1).

Tabela 1. Planejamento experimental da elaboração de Kefir fermentado em diferentes tempos e adicionado de três concentrações de polpa de açaí.

Tratamentos	Variáveis codificadas		Variáveis reais	
	X ₁	X ₂	TF (h)	CPA(%)
1	-1	-1	24	10
2	-1	+1	24	30
3	0	0	36	20
4	0	0	36	20
5	0	0	36	20
6	+1	-1	48	10
7	+1	+1	48	30

X₁=Tempo de Fermentação (TF)(h) X₂=Concentração de polpa de açaí (CPA)(%). Fonte: Elaborado pelo autor.

A matéria-prima e os ingredientes utilizados para a preparação do Kefir adicionado de polpa de açaí foram: leite UHT (Ultra High Temperature) integral, sacarose, polpa de açaí pasteurizada e grãos de Kefir oriundos da região de Toscana, Itália. O leite UHT integral, a sacarose e a polpa de açaí foram adquiridos em distribuidor local na cidade de Fortaleza-CE.

Foram variados o tempo de fermentação (TF) e a concentração de polpa de açaí (CPA). 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. Os dados obtidos no planejamento experimental foram tratados estatisticamente com auxílio do software Statistica 7.0 (Statsoft, 2007).

2.2 Ativação dos grãos de Kefir

Os grãos de Kefir foram mantidos em Leite Desnatado Reconstituído (LDR) 10% (m/v), foram separados com auxílio de peneira (aço inoxidável) e lavados com água destilada, sendo o leite descartado. Para ativação foram inoculados em leite UHT integral e mantidos a 25°C em estufa incubadora por 24 horas. Este procedimento foi repetido cinco vezes com o intuito de aumentar a ação dos microrganismos dos grãos.

2.3 Elaboração do Kefir adicionado de polpa de açaí

O leite UHT integral foi inoculado com 2% (m/v) dos grãos de Kefir previamente ativados. A fermentação das formulações foram conduzidas em estufa incubadora a 25°C nos tempos pré-estabelecidos. Os grãos de Kefir foram separados do leite fermentado com auxílio de peneira de aço inoxidável. O leite fermentado foi adicionado de sacarose (8% m/v) e das concentrações da polpa de açaí, sendo homogeneizado sob leve agitação e armazenados sob resfriamento a 10°C (Semeniuc et al., 2016).

2.4 Análise microbiológica

Foi realizada contagem de coliformes termotolerantes a 45°C no Kefir adicionado de polpa de açaí para avaliação da segurança alimentar, pela técnica do NMP com três tubos (NMP/mL) seguindo o que indica a Resolução RDC nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil, 2001) e metodologia descrita por Feng et al., 2013.

2.5 Análises físico-químicas do Kefir adicionado de polpa de açaí

Foram realizadas nas amostras de Kefir adicionado de polpa de açaí as seguintes análises: determinação do pH, acidez total titulável (ATT - %), sólidos solúveis totais (SST - %), teor de umidade (U - %), resíduo mineral fixo (RMF - %), teor de gordura (G - %), segundo metodologia do IAL (2008) e proteína (P - %) pelo método de Kjeldahl (AOAC, 2016).

2.6 Análise sensorial

Após a aprovação no Comitê de ética da Universidade Federal do Ceará (29187920.0.0000.5054), os testes sensoriais foram realizados no Instituto de Cultura e Arte (ICA) da UFC, com 64 provadores não treinados, de ambos os sexos e idade entre 17 a 60 anos.

Um formulário foi entregue antes da realização dos testes, 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 efetuada 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.

Foi aplicado o teste de aceitação que avaliou a cor, aroma, sabor, consistência e impressão global por meio da escala Hedônica estruturada em nove pontos variando de 1 (desgostei muitíssimo) a 9 (gostei muitíssimo). O ponto ideal para acidez, consistência e sabor de açaí dos produtos foi analisado pela 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). Por fim, os provadores responderam sobre atitude de compra, através de escala estruturada de 1 (certamente não compraria) a 5 (certamente compraria) (Dutcosky, 2013; Minim, 2013).

2.7 Avaliação da estabilidade durante o armazenamento

A estabilidade foi analisada nas amostras, as quais apresentaram os melhores resultados sensoriais. A estabilidade físico-química foi analisada por meio da mensuração de

acidez (pH e acidez titulável). Todas as análises foram realizadas em função do tempo de armazenamento (0, 17, 30 e 45 dias) sob resfriamento a 10°C.

A estabilidade microbiológica do Kefir com adição de polpa de açaí foi estudada através da contagem de bactérias ácido lácticas totais e de bolores e leveduras, em UFC/mL (APHA, 2005). As análises microbiológicas foram realizadas em duplicata e as demais em triplicata.

2.8 Análise Estatística

Os resultados das análises físico-químicos e sensoriais receberam tratamento estatístico através do teste de Análise de Variância – ANOVA e as médias obtidas foram comparadas através do teste de Tukey, com nível de significância de 5% e os dados foram tratados com o auxílio do software Statistica 7.0 (Statsoft, 2007).

3. Resultados e discussão

3.1 Delineamento Experimental do Kefir adicionado de polpa de açaí

Os resultados obtidos para variável resposta acidez nos ensaios do planejamento experimental do Kefir fermentado em diferentes tempos e adicionado de três concentrações de polpa de açaí estão distribuídos na Tabela 2.

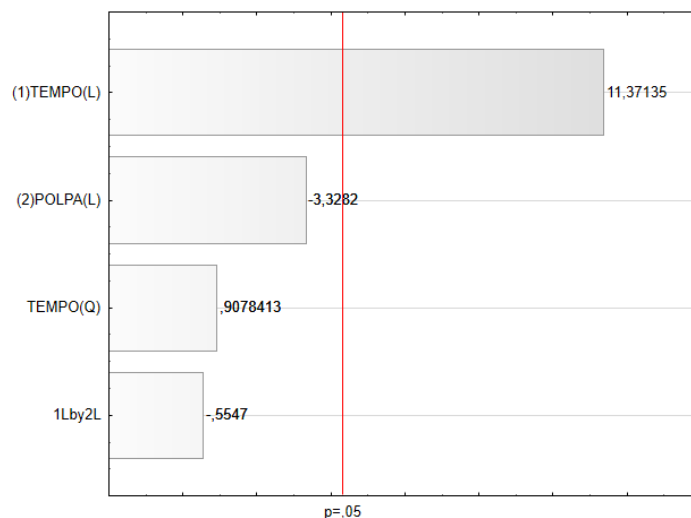
Tabela 2. Ensaios com variáveis independentes e resposta do planejamento experimental do Kefir adicionado de polpa de açaí.

Tratamentos	Variáveis Independentes		Variável Resposta
	Tempo de fermentação (h)	Concentração da polpa (% m/v)	Acidez (g/100g de ácido láctico)
1	24	10	0,69
2	24	30	0,59
3	36	20	0,78
4	36	20	0,83
5	36	20	0,85
6	48	10	1,12
7	48	30	0,98

Fonte: Próprio autor (2020).

Os valores para acidez variaram entre 0,59 a 1,12 g de ácido láctico por 100g de amostra. Os resultados correspondentes aos efeitos estimados para a variável acidez ao nível de 5 % de significância mostraram que as variáveis independentes (tempo de fermentação e concentração de polpa de açaí) apresentaram efeito significativo no estudo realizado (Figura 1). No entanto, a interação entre as duas variáveis não foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Foi possível observar que com o aumento no tempo de fermentação, sob a mesma temperatura, houve aumento da produção de ácido láctico.

Figura 1. Estimativa dos efeitos lineares das variáveis, tempo de fermentação e concentração de polpa de açaí sobre a acidez do Kefir adicionado de polpa de açaí.



Fonte: Próprio autor.

Nogueira et al. (2016) estudaram amostras de Kefir adicionado de polpa de açaí, com fermentação por 24 h à 25°C, observando que a adição de polpa de açaí nas formulações resultou no aumento do valor inicial do pH e ao final das fermentações, foi observado o seu decréscimo. A formulação com maior teor de polpa de açaí obteve os menores valores de pH na pesquisa citada, o que não foi observado neste trabalho, no tempo de 48 horas de fermentação. Isso ocorreu, provavelmente, devido ao maior tempo de incubação que proporcionou maior produção de ácido.

3.2 Caracterização físico-química do Kefir adicionado de polpa de açaí

De acordo com a caracterização físico-química das formulações do Kefir adicionado de polpa de açaí (Tabela 3), observou-se que os parâmetros gordura e proteína atenderam a legislação vigente.

Tabela 3. Valores médios da caracterização físico-química das formulações de Kefir adicionado de polpa de açaí.

Tratamentos	pH	ATT (%)	RMF (%)	G (%)	P (%)	U (%)	SST (°Brix)
F1	4,36 ^c	0,69 ^e	0,69 ^a	2,33 ^b	25,99 ^a	81,81 ^a	14,40 ^a
F2	4,51 ^a	0,59 ^f	0,69 ^a	3,33 ^{ab}	22,99 ^c	84,33 ^b	12,70 ^d
F3	4,17 ^d	0,78 ^d	0,69 ^a	3,67 ^b	24,09 ^b	83,01 ^{cd}	13,93 ^c
F4	4,15 ^{de}	0,83 ^{cd}	0,74 ^a	3,00 ^b	24,29 ^{bc}	84,64 ^b	13,80 ^e
F5	4,12 ^e	0,85 ^c	0,68 ^a	2,67 ^{ab}	24,07 ^{bc}	83,51 ^c	13,57 ^f
F6	3,96 ^g	1,12 ^a	0,67 ^a	3,33 ^{ab}	24,45 ^{bc}	82,68 ^d	13,70 ^e
F7	4,04 ^f	0,98 ^b	0,71 ^a	4,00 ^a	23,71 ^{bc}	82,83 ^{cd}	14,17 ^b

Fonte: Próprio autor (2020). As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, na mesma linha, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância; Onde: F1(TF-24h CPA- 10%), F2 (TF-24h CPA 30%), F3 (TF-36h CPA-20%),F4 (TF-36h CPA-20%), F5 (TF-36h CPA-20%), F6 (TF-48h CPA-10%), F7 (TF-48h CPA- 30%).

A faixa limite de 3,0 a 5,9% (m/m) de gordura é estabelecida para o produto integral, enquanto para o produto semi-desnatado é de 0,5 a 2,9%. O teor mínimo de proteínas deve ser de 2,9% (m/m) (Brasil, 2007).

A amostra 6 apresentou o pH mais baixo (3,96), o que pode ser explicado pelo tempo de fermentação (48 h) e a concentração de polpa adicionada (10%) 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 do pH.

Em pesquisa realizada por Pattaro et al. (2020), a qual analisou leite fermentado por grãos de Kefir de diferentes tipos de leite, vaca, ovelha e cabra, a acidez das amostras variaram entre 1,03 a 1,82 g de ácido lático por 100 g de bebida. Porém, quando eles adicionaram as polpas de maçã e banana, a acidez diminuiu para a faixa de 0,46 a 0,72 g de ácido lático por 100 g de amostra.

A acidez do Kefir visualizada por Pattaro et al. (2020) foi semelhante a faixa encontrada para o Kefir adicionado de polpa de açaí, variando entre 0,59 a 1,12. Este resultado aliado a boa aceitação sensorial mostra que a acidez obtida agradou os consumidores.

As médias para resíduo mineral fixo não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$), indicando que as concentrações de polpa de açaí adicionadas não foram suficientes

para aumentar o nível de minerais entre os tratamentos estudados. Lima et al. (2020) obtiveram teores de cinza semelhantes aos encontrados no presente estudo, ao desenvolverem Kefir de cabra adicionado de polpa de goiaba. Isso mostra que não há diferença no teor de material inorgânico entre o Kefir de leite de vaca e o de cabra adicionado de polpas de frutas distintas, como a polpa de goiaba e a polpa de açaí.

O teor de sólidos solúveis totais (°Brix) exibiu médias diferentes entre si ($p < 0,05$). 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 produção de ácido láctico, etanol e CO_2 nas bebidas.

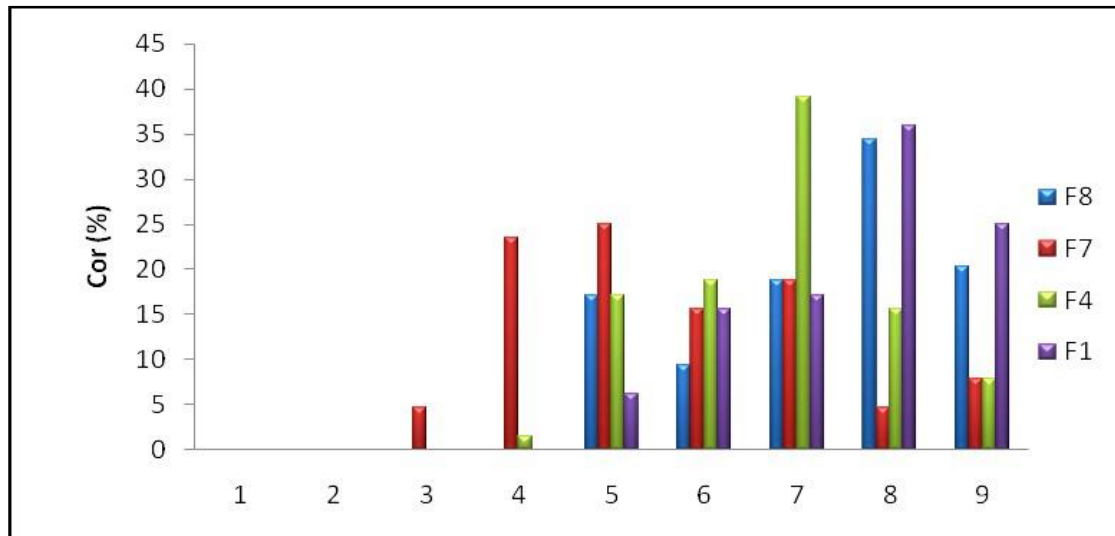
3.3 Análise Sensorial do Kefir adicionado de polpa de açaí

A análise sensorial foi realizada com as seguintes formulações: F1, F4, F7 e o controle (F8-sem adição de polpa de açaí). As amostras com maior e menor teor de acidez e duas amostras do ponto central foram retiradas. A segurança alimentar das amostras foi verificada previamente por meio de análises microbiológicas (Brasil, 2019).

Participaram da análise sensorial 64 provadores, dos quais 74,0% eram do gênero masculino e 26,0% do feminino. Do total de provadores, 53,0% alegaram gostar moderadamente de leite fermentado e 75,0% responderam consumir derivados lácteos semanalmente. Este resultado demonstra que apesar de muitas pessoas decidirem não consumir leite e derivados, devido problemas de saúde ou mesmo por opção à dieta vegana, os produtos lácteos e leites fermentados, especificamente, apresentam consumo elevado.

Na Figura 2 estão apresentados os percentuais da frequência de respostas dos provadores na escala Hedônica para o atributo cor das amostras analisadas.

Figura 2. Distribuição de respostas dos provadores na avaliação da aceitação do atributo cor do Kefir adicionado de polpa de açaí.

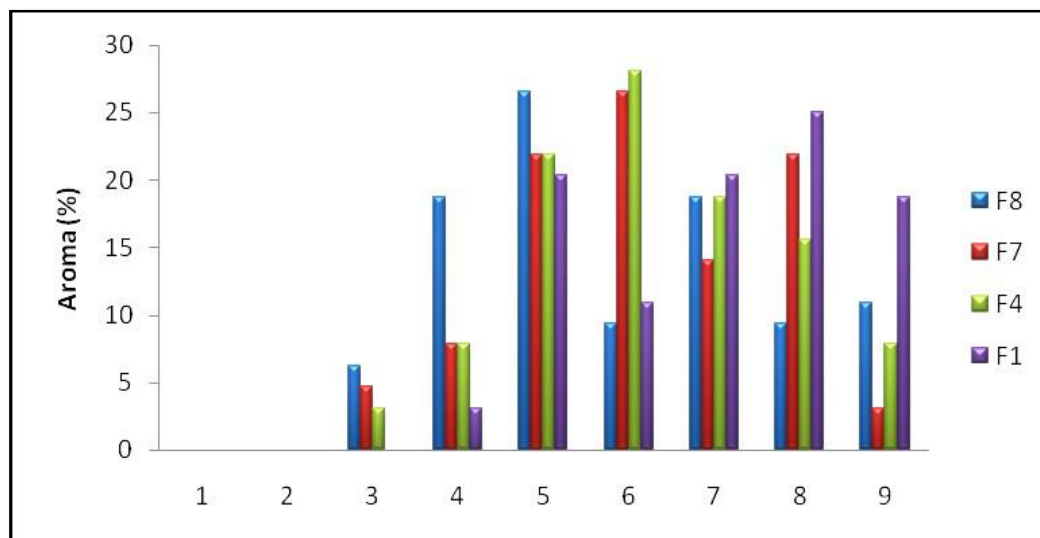


Fonte: Próprio autor (2020). Onde: F1 (TF-24h CPA- 10%), F4 (TF-36h CPA-20%), F5 (TF-36h CPA-20%), F7 (TF-48h CPA- 30%) e F8 (TF-24h CPA 0%). Onde: Escala Hedônica: 1 = desgostei muitíssimo; 2=desgostei muito; 3=desgostei moderadamente; 4=desgostei ligeiramente; 5 = nem gostei, nem desgostei; 6=gostei ligeiramente; 7=gostei moderadamente; 8=gostei muito; 9 = gostei muitíssimo.

A soma dos percentuais na faixa de aceitação para o atributo cor das amostras F1, F4, F7 e F8 foram, respectivamente, 93,79; 81,24; 46,86 e 88,80 %. Tais percentuais revelam que a cor da amostra F1, com menor adição de polpa de açaí, foi mais aceita, enquanto a amostra F7, com maior concentração de açaí, obteve menor percentual. A maior frequência de respostas para as amostras F8 e F1 foi correlacionada à categoria 8 da escala hedônica (gostei muito), enquanto a amostra F4 apresentou maior frequência de respostas na categoria 7, referente a “gostei moderadamente.

A soma do percentual de respostas distribuídas na faixa de aceitação para o atributo aroma das amostras F1, F4, F7 e F8 foram, respectivamente, de 74,99; 70,3; 65,61 e 48,42%. Esses valores indicam que o menor tempo de fermentação promoveu aroma mais agradável para os provadores. Contudo, o maior tempo de fermentação, provavelmente, produziu maior quantidade de substâncias voláteis, as quais reduziram a aceitação pelos consumidores. Os dados constam na Figura 3.

Figura 3. Distribuição de respostas dos provadores na avaliação da aceitação do atributo aroma do Kefir adicionado de polpa de açaí.

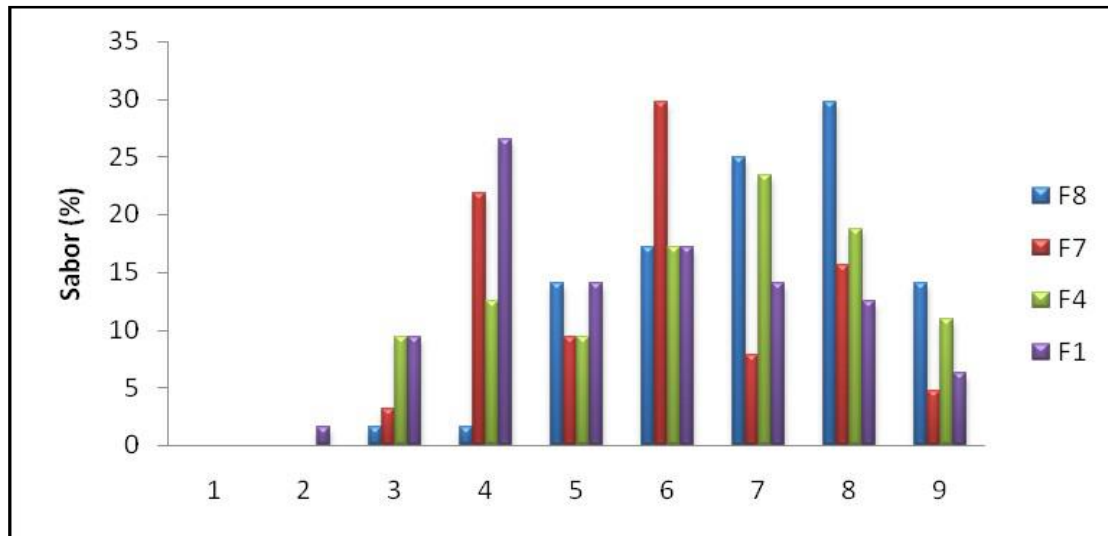


Fonte: Próprio autor (2020). Onde: F1 (TF-24h CPA- 10%), F4 (TF-36h CPA-20%), F5 (TF-36h CPA-20%), F7 (TF-48h CPA- 30%) e F8 (TF-24h CPA 0%). Onde: Escala Hedônica: 1 = desgostei muitíssimo; 2=desgostei muito; 3=desgostei moderadamente; 4=desgostei ligeiramente; 5 = nem gostei, nem desgostei; 6=gostei ligeiramente; 7=gostei moderadamente; 8=gostei muito; 9 = gostei muitíssimo.

De acordo com Arrizon, Calderón & Sandoval (2006) os compostos voláteis são importantes contribuintes para o sabor e aroma de bebidas, pois determinam diferentes características sensoriais desejáveis. Nesse sentido, foi possível observar que a adição do açaí influenciou positivamente na avaliação do aroma das formulações, pois ao comparar o controle e a amostra F1, ambas com o mesmo tempo de incubação, a formulação com polpa obteve maior percentual de respostas na faixa de aceitação.

Para o atributo sabor, as maiores frequências de respostas situadas na categoria 8 (gostei muito), foram das amostras F4 e F8. As amostras F1, F4, F7 e F8 alcançaram percentuais, respectivamente, de 49,93; 70,29; 57,79 e 85,92% das notas nas categorias de gostar (6 a 9). Nesse contexto, podemos observar que a adição de 20% de polpa de açaí foi bem aceita, com maior percentual entre as formulações adicionadas do fruto, como é observado na Figura 4.

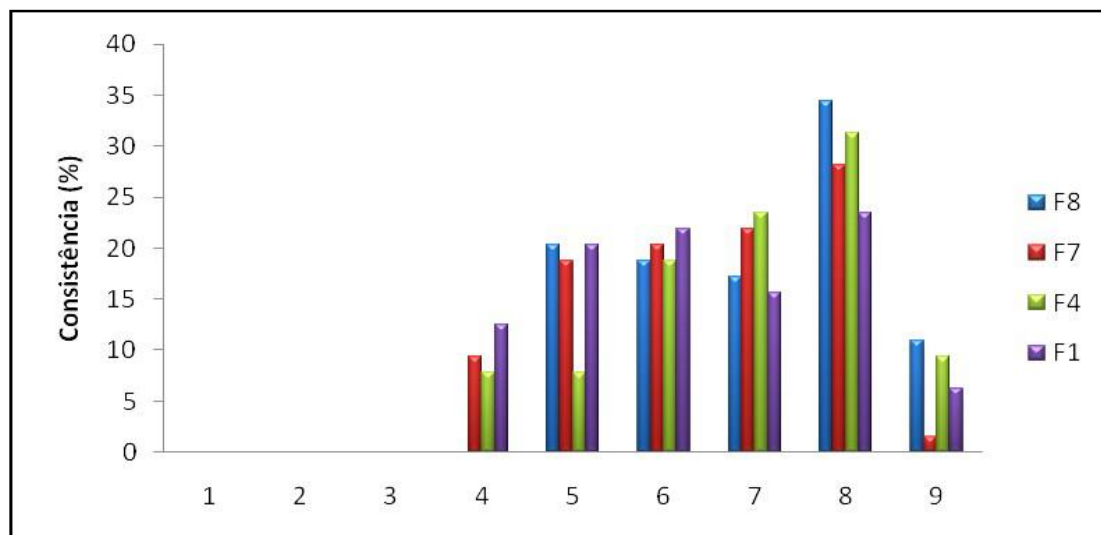
Figura 4. Distribuição de respostas dos provadores na avaliação da aceitação do atributo sabor do Kefir adicionado de polpa de açaí.



Fonte: Próprio autor (2020). Onde: F1(TF-24h CPA- 10%), F4 (TF-36h CPA-20%), F5 (TF-36h CPA-20%), F7 (TF-48h CPA- 30%) e F8 (TF-24h CPA 0%). Onde: Escala Hedônica: 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; 9 = gostei muitíssimo.

A distribuição das notas referentes à consistência das amostras (Figura 5) situou-se principalmente nas categorias de gostar da escala (6 a 9).

Figura 5. Distribuição de respostas dos provadores na avaliação da aceitação do atributo consistência do Kefir adicionado de polpa de açaí.

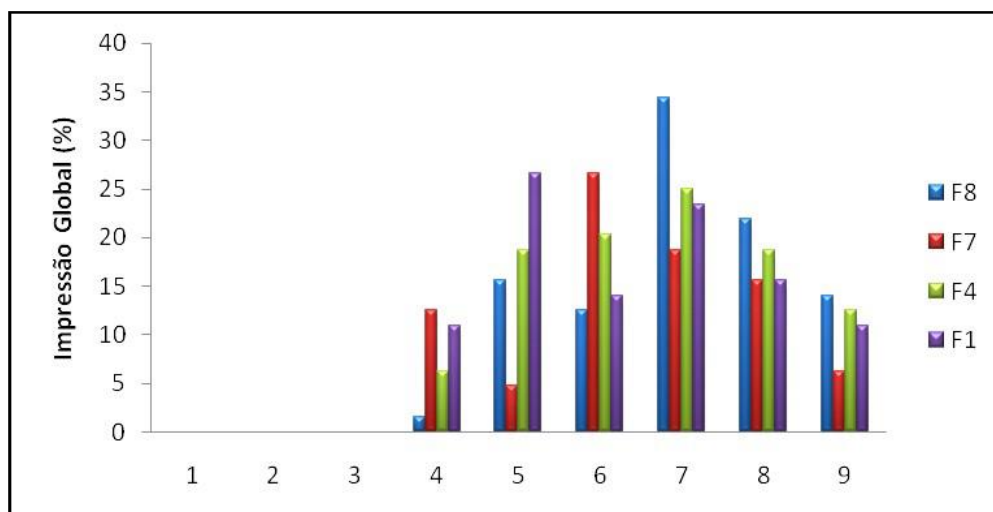


Fonte: Próprio autor (2020). Onde: F1(TF-24h CPA- 10%), F4 (TF-36h CPA-20%), F5 (TF-36h CPA-20%), F7 (TF-48h CPA- 30%) e F8 (TF-24h CPA 0%). Onde: Escala Hedônica: 1 = desgostei muitíssimo; 2=desgostei muito; 3=desgostei moderadamente; 4=desgostei ligeiramente; 5 = nem gostei, nem desgostei; 6=gostei ligeiramente; 7=gostei moderadamente; 8=gostei muito; 9 = gostei muitíssimo.

As amostras F1, F4, F7 e F8 obtiveram soma de percentuais na faixa de aceitação, respectivamente, de 67,17; 82,73; 71,86 e 81,23%. Observou-se que a consistência da bebida com maior percentual de aceitação foi a amostra F4. Almeida et al. (2011) analisaram amostras de Kefir produzidas com leite de cabra e com leite de vaca, a bebida menos viscosa foi a menos aceita, o que mostra a importância dessa característica em leites fermentados para os consumidores. Dessa forma, foi possível observar nesta pesquisa que a amostra mais consistente, também apresentou maior aceitação em relação ao sabor.

A impressão global representa como foi a avaliação geral dos provadores com respeito a todos os atributos das amostras testadas (Figura 6).

Figura 6. Distribuição de respostas dos provadores na avaliação da aceitação do atributo impressão global do Kefir adicionado de polpa de açaí.

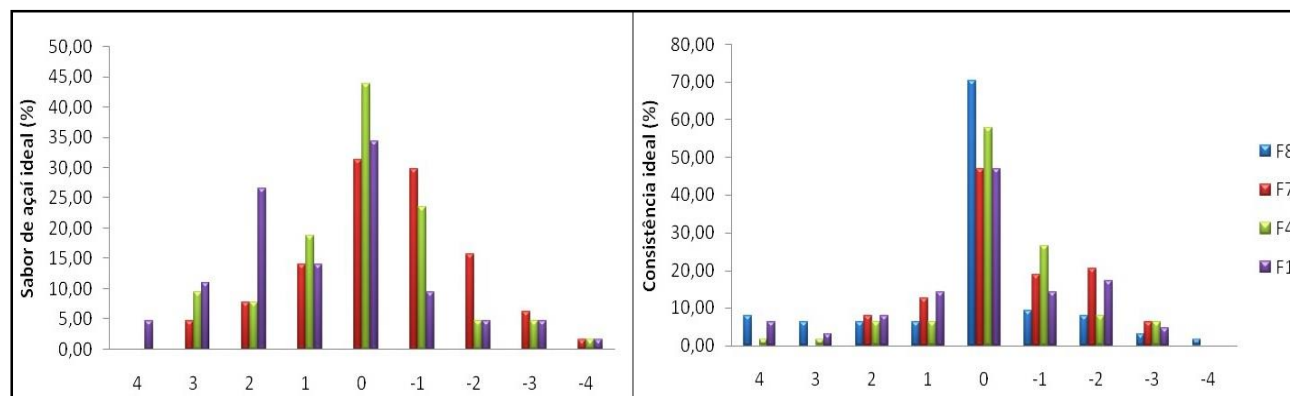


Fonte: Próprio autor (2020). Onde: F1 (TF-24h CPA- 10%), F4 (TF-36h CPA-20%), F5 (TF-36h CPA-20%), F7 (TF-48h CPA- 30%) e F8 (TF-24h CPA 0%). Onde: Escala Hedônica: 1 = desgostei muitíssimo; 2=desgostei muito; 3=desgostei moderadamente; 4=desgostei ligeiramente; 5 = nem gostei, nem desgostei; 6=gostei ligeiramente; 7=gostei moderadamente; 8=gostei muito; 9 = gostei muitíssimo.

A soma do percentual de respostas distribuídas na faixa de aceitação (6 a 9) para as amostras F1, F4, F7 e F8 foi, respectivamente, de 64,04; 76,56; 67,81 e 81,8%. A amostra F4 foi a que obteve o maior percentual na faixa de aceitação.

Os resultados para o teste do ideal referentes ao sabor de açaí e à consistência estão na Figura 7.

Figura 7. Distribuição de respostas dos provadores na avaliação da idealidade dos atributos sabor de açaí e consistência do Kefir adicionado de polpa de açaí.



Fonte: Próprio autor (2020). Onde: F1(TF-24h CPA- 10%), F4 (TF-36h CPA-20%), F5 (TF-36h CPA-20%), F7 (TF-48h CPA- 30%) e F8 (TF-24h CPA 0%). Onde: 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.

Apesar dos resultados à avaliação do sabor de açaí estarem distribuídos pela escala do ideal, a maior concentração pôde 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. Os resultados para avaliação do ideal da consistência evidenciaram que as quatro amostras obtiveram percentuais maiores de respostas na categoria correspondente à consistência ideal. No entanto, a amostra F8 destacou-se das demais, angariando 70,38% das respostas. As amostras F1, F4 e F7 receberam as somas percentuais respectivas de 46,88; 57,81 e 46,88% das respostas na categoria relativa ao ideal. Este resultado apontou que a adição da polpa de açaí pode ter influenciado na viscosidade dessas formulações, pois o processo de agitação empregado para homogeneização da polpa no leite fermentado tornou o produto menos viscoso.

No teste de atitude de compra, as amostras F4 e F8 apresentaram maior frequência de respostas nas categorias 4 (possivelmente compraria) e 5 (certamente compraria) e consequentemente as melhores percentuais de intenção positiva de compra, dentre as quatro amostras testadas.

3.4 Estabilidade do Kefir adicionado de polpa de açaí

A seleção de amostras de Kefir para realização do teste de estabilidade foi baseada na avaliação de aceitação aplicadas na análise sensorial, onde os resultados apontaram as

formulações F4 (Kefir com 36h 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 Kefir adicionado de polpa de açaí F4 e F8 estão dispostos na Tabela 4.

Tabela 4. Médias de parâmetros físico-químicos testados na avaliação da estabilidade de Kefir adicionado de polpa de açaí.

Amostra	Tempo (dias)	pH	AAT (%)
F4	0	4,17±0,00 ^a	0,79±0,02 ^d
	15	3,73±0,00 ^b	1,27±0,02 ^c
	30	3,50±0,00 ^c	1,57±0,02 ^b
	45	3,60±0,00 ^d	1,97±0,01 ^a
F8	0	4,48±0,00 ^a	0,63±0,00 ^d
	15	3,97±0,02 ^b	0,96±0,01 ^c
	30	3,61±0,00 ^c	1,30±0,02 ^b
	45	3,70±0,00 ^d	1,48±0,01 ^a

Fonte: Próprio autor (2020). Onde: F4 (TF-36h CPA-20 %) e F8 (TF-24h CPA 0%).

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. O teor de acidez aumentou com o tempo, indicando que a fermentação do Kefir adicionado de açaí continuou durante o período avaliado.

Os valores de pH diminuíram durante os primeiros 30 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. Resultados semelhantes foram encontrados por 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.

Os autores concluíram que a natureza protéica do substituto de gordura resultou em 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.

Os resultados para a estabilidade microbiológica do Kefir adicionado de polpa de açaí durante o período de 45 dias estão dispostos nas Tabelas 5 e 6. A partir dos resultados das contagens de bactérias ácido lácticas nas formulações da bebida, observou-se que houve decréscimo no número de colônias bacterianas até dia 30 na amostra F8, voltando a aumentar no dia 45 (Tabela 5).

Tabela 5. Contagens médias das bactérias ácido lácticas (UFC/mL) para Kefir adicionado de polpa de açaí durante armazenamento a 10°C por 45 dias.

Amostras	Tempo de armazenamento (dias)			
	0	15	30	45
F8	$1,74 \times 10^8$	$1,07 \times 10^8$	$0,68 \times 10^8$	$0,89 \times 10^8$
F4	$2,53 \times 10^8$	$1,50 \times 10^8$	$0,99 \times 10^8$	$2,15 \times 10^7$

Fonte: Próprio autor (2020). Onde: F4 (TF-36h CPA-20 %) e F8 (TF-24h CPA 0%).

A amostra F4 apresentou diminuição da contagem de bactérias ácido lácticas (UFC/g) ao longo do tempo avaliado, no período de 45 dias de armazenamento. 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 o período de armazenamento, o qual foi influenciado pelo aumento da acidez determinada no mesmo período.

A contagem de bolores e leveduras aumentou até os 15 primeiros dias de armazenamento para as duas formulações (F4 e F8), decaindo nos últimos 15 dias, como mostra na Tabela 6.

Tabela 6. Contagens médias de bolores e leveduras (UFC/mL) para Kefir adicionado de polpa de açaí durante armazenamento a 10°C por 45 dias.

Amostras	Tempo de armazenamento (dias)			
	0	15	30	45
F8	$2,2 \times 10^6$	$0,71 \times 10^7$	$1,93 \times 10^6$	$1,1 \times 10^5$
F4	$6,3 \times 10^6$	$0,19 \times 10^7$	$0,52 \times 10^6$	$0,17 \times 10^6$

Fonte: Próprio autor (2020). Onde: F4 (TF-36h CPA-20 %) e F8 (TF-24h CPA 0%).

Para tal, verificou-se que os bolores e as leveduras estudados demonstraram maior sensibilidade ao aumento da acidez no período da estabilidade.

Fernandes et al. (2017) relataram que as contagens de bactérias ácido lácticas foram superiores a 7,8 log UFC/g, porém as contagens de leveduras se mantiveram inferiores a 6 log UFC/g de amostra de extrato de soja fermentado com Kefir.

Os autores afirmaram que as contagens microbiológicas atenderam aos padrões exigidos pela legislação (Brasil, 2007) e que um produto pode ser considerado probiótico se durante toda a vida útil apresentar o mínimo de 6 log UFC/g de bactérias ácido lácticas.

4. Conclusão e Sugestões

Os tempos de fermentação de 24, 36 e 48 horas influenciam na acidez das amostras de Kefir avaliadas, a qual interfere na aceitação pelos consumidores. O Kefir com menor tempo de fermentação (24h) apresenta menor teor de acidez, sendo apontado como de acidez ideal, no entanto, a concentração da polpa de açaí também influencia na acidez e na aceitação dos leites fermentados. Assim, a amostra fermentada em 36 horas e adicionada de 20% de polpa de açaí (F4) exibe a melhor combinação avaliada para as características de acidez e aceitação.

No período de armazenamento estudado de 45 dias, o Kefir controle e o adicionado de polpa de açaí são estáveis com contagem de bactérias ácido lácticas viáveis em torno de 10^7 a 10^8 , as quais 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 produtos à venda.

Sugestões para trabalhos futuros: conhecer a microbiota e a evolução das alterações que ocorrem nos grãos de Kefir utilizados para elaboração do leite fermentado; experimentar outras matérias-primas lácteas e não lácteas para elaboração de bebidas fermentadas a partir de grãos de Kefir; avaliar a aceitação da adição de diversas frutas tropicais ao Kefir; empregar os grãos de Kefir para elaboração de novos produtos fermentados.

Referências

- Almeida, F. A., Ângelo, F. F., Silva, S. L., & Silva, S. L. (2011) Análise sensorial e microbiológica de Kefir artesanal produzido a partir de leite de cabra e leite de vaca. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 66 (378), 51-56,
- AOAC, Association of Official Analytical Chemistry. (2016) *Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemistry*, (20° ed). Washington, DC.
- APHA, American Public Health Association. (2005) *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, (21 °ed.).
- Arrizon, J., Calderón, C., & Sandoval, G. (2006) Effecto different fermentation condition son the kinetic parameters and production of volatile e compounds during the elaboration of a prickly pear distilled beverage. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 33 (11), 921-928.
- Bonomo, L. F., Silva, D. N., Boasquivis, P. F., Paiva, F. A., Guerra, J. F., Martins, T. A., Torres, Á. G. J., Paula, I. T., Caneschi, W. L., Jacolot, P., Grossin, N., Tessier, F. J., Boulanger, E., Silva, M. E., Pedrosa, M. L., & Oliveira, R. P. (2014) Açaf (Euterpe oleracea Mart.) modulates oxidative stress resistance in *Caenorhabditis Elegans* By Direct and indirect Mechanisms. *PLoSOne*, 9 (3), e89933.
- 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. Resolução RDC nº 241, de 26 de julho de 2018. Diário Oficial da República Federativa do Brasil - DOU 144. Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Sanitária.

Brasil. (2019). Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, Diário Oficial da República Federativa do Brasil (2019) (Brasília, DF), seção 1, p. 96.

Cedrim, P. C. A. S., Barros, E. M. A., & Nascimento, T. C. (2018) Propriedades antioxidantes do açaí (*Euterpe oleracea*) na síndrome metabólica. *Brazilian Journal of Food Technology*, 21, e2017092.

Costa, M. P., Balthazar, C. F., Moreira, R. V. B. P., Cruz, A. G., & Júnior, C. A. C. (2013) Leite fermentado: potencial alimento funcional. *Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia*, 9 (6), 1387 - 1408.

Corona, O., Randazzo, W., Miceli, A., Guarcello, R., Francesca, N., Erten, H., Moschetti, G. & Settanni, L. (2016) Characterization of Kefir-like beverages produced from vegetable juices. *LWT - Food Science and Technology*, 66, 572-581.

Dutcosky, S. D. (2013) *Análise sensorial de alimentos*. (4ª ed.) Curitiba: Champagnat, 531p.

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

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.

Fernandes, M. S., Lima, F. S., Rodrigues, D., Handa, C., Guelfi, M., Garcia, S., & Ida, E. I. (2017) Evaluation of the isoflavone and total phenolic contents of Kefir fermented soy Milk storage and after the in vitro digestive system simulation. *Food Chemistry*, 229: 373–380.

Huseini, H. F., Rahimzadeh, G., Fazeli, M. R., Mehrazma, M., & Salehi, M.. (2012) Evaluation of wound healing activities of Kefir products. *Burns*. 38(5): 719-723.

IAL, Instituto Adolfo Lutz. (2008) Métodos físico-químicos para análise de alimentos. (1ª ed), São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1020 p.

Kazakos S, Mantzourani I, Nouska C, Alexopoulos A, Bezirtzoglou E, Bekatorou A, Plessas S, Varzakas T. (2016) Production of Low-Alcohol Fruit Beverages Through Fermentation of Pomegranate and Orange Juices with Kefir Grains. *Curr Res Nutr Food Sci*, 4(1).

Lima, N. M. F, Holanda, C. A., Cruz, G. A., Sales, L. G. M., Bruno, L. M., & Carvalho, J. D. G. (2020). Development of Kefir from goat Milk with guava pulp. *Research, Society and Development*, 9 (7): 1-14, e468973943.

Liu, J. A. P., & Moon, N. J. (2002) Kefir-a “new” fermented Milk product. *Cultured Dairy Products Journal*, Washington, 83(3), 11-12.

Melo, D. R., Silva, P. H. T., Rigoto, R. P., Sottoriva, H. M., Cintra, F. F., Trento, J. P., Castro, A. L., Alves, G. (2018) Quark Cheese Produced With Kefir And Agave Inulin. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*, 21 (3) , 87-92.

Mendes, V. D. C. (2019). Uso de Kefir na elaboração de produto biotecnológico utilizando frutas amazônicas.

Minim, V. P. R. *Análise sensorial: estudos com consumidores*. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2013. 332 p.

Montanuci, F. D., Pimentel, T. C., Garcia, S., & Prudêncio, S. H. (2012) Effect of starter culture and inulin addition on microbial viability, texture, and chemical characteristics of whole or skim milk Kefir. *Food Science and Technology*, 32 (04).

Nogueira, L. K., Aguiar-oliveira, E., Kamimura, E. S., & Maldonado, R. R. (2016) Milk and açai berry pulp improve sensory acceptability Kefir fermented milk beverage. *ACTA Amazonica*, 46 (4), 417-424.

Oliveira, P. R., Costa, C. A., Bem, G. F., Cavalho, L. C., Souza, M. A., Lemos Neto, M., Sousa, P. J. C., Moura, R. S., & Resende, A. C. Effects of na extract obtained from fruits of *Euterpe oleracea* Mart. in the components of metabolic syndrome induced in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 56 (6), 619-626.

Pattaro, L., Silva, J. A. G., Farias, L. C. B., Medeiros, J. S., Teixeira, P. C., Cunha, J. V. T., More, J. C. R. S., Almeida, T. V., Nicolau, E. S., & Silva, M. A. P. (2020) Physico-chemical and sensory analysis of milk smoothies of different species fermented by Kefir, flavored with banana and apple. *Research, Society and Development*, 8 (11), e112953145.

Pereira A.S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., Shitzuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1 - Acesso em: 23/06/2018.

Prado, M. R. M., Boller, C., Zibetti, R. G. M., Souza, D., Pedroso, L. L., & Soccol, C. R. (2016) Anti inflammatory and angiogenic activity of polysaccharide extract obtained from Tibetan Kefir. *Microvascular Research*, 108, 29–33.

Santos, M. R., & Bassos, C. (2013) Análise físico-química e sensorial de gelatina à base de quefir. *Revista Disciplinarum Scientia. Série: Ciências da Saúde*, Santa Maria, 14 (1), 93-100.

Semeniuc, C. A., Rotar, A., Stan, L., Pop, C. R., Socaci, S., Mireşan, V., & Muste, S. (2016) Characterization of pine bud syrup and its effect on physicochemical and sensory properties of Kefir. *CyTA – Journal of Food*, 14 (2):213–218.

Statsoft. *Statistica for Window – Computer program manual*. Versão 7.0 Tulsa: Statsoft Inc. 2007.

Temiz, H., & Kezer, G. (2015) 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*, 39, 1421-1430.

Walsh, A. M., Crispie, F., Kilcawley, K., O'Sullivan, O., O'Sullivan, M. G., Claesson, M. J., & Cotter, P. D. (2016). Microbial succession and flavor production in the fermented dairy beverage Kefir. *Msystems*, 1(5), e00052-16.

Weschenfelder, S., Pereira, G. M., Carvalho, H. H. C., & Wiest, J. M.. (2011). Caracterização físico-química e sensorial de Kefir tradicional e derivados. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 63(2), 473-480.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Lívia Gabrielle Maciel Sales - 20%

Gizele Almada Cruz - 15 %

Laura Maria Bruno - 15 %

Nhaiara Monteiro de Farias Lima - 15 %

Francisca Livia de Oliveira Machado - 15 %

Juliane Döering Gasparin Carvalho – 20 %