



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

FLÁVIA DAIANA MONTANUCI

**BEBIDAS DE KEFIR COM E SEM INULINA EM VERSÕES
INTEGRAL E DESNATADA: ELABORAÇÃO E
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, FÍSICA, MICROBIOLÓGICA E
SENSORIAL**

Londrina
2010

FLÁVIA DAIANA MONTANUCI

**BEBIDAS DE KEFIR COM E SEM INULINA EM VERSÕES
INTEGRAL E DESNATADA: ELABORAÇÃO E
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, FÍSICA, MICROBIOLÓGICA E
SENSORIAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação, em Ciências de Alimentos, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Prof^a. Dr^a. Sandra Helena Prudencio

Londrina
2010

Montanuci, Flávia Daiana

Bebidas de Kefir com e sem inulina em versões integral e desnatada: elaboração e caracterização química, física, microbiológica e sensorial

Flávia Daiana Montanuci- Londrina - PR, 2010

Orientadora: Dr^a. Sandra Helena Prudêncio
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Londrina.

FLÁVIA DAIANA MONTANUCI

**BEBIDAS DE KEFIR COM E SEM INULINA EM VERSÕES INTEGRAL
E DESNATADA: ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA,
FÍSICA, MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação, em Ciências de Alimentos, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a. Dr.^a Sandra Helena Prudencio
UEL – Londrina – PR

Prof. Dr Adriano Gomes da Cruz
UNICAMP – Campinas – SP

Prof. Dr. Raúl Jorge Hernan Castro-Gómez
UEL – Londrina – PR

Londrina, 01 de setembro de 2010.

DEDICATÓRIA

A Deus, em quem creio e confio e renovo minhas forças e esperanças.

Aos meus pais (Rubens e Jeane), irmãos (Fabio e Fabiola) e sobrinhos (Rafael e Théo) pelo amor incondicional que é a base do nosso lar. As minhas amigas que sempre foram companheiras e verdadeiras irmãs em toda essa caminhada

AGRADECIMENTOS

Após este longo caminho percorrido até a concretização deste trabalho, muitas pessoas, direta ou indiretamente, contribuíram para o sucesso deste investimento de vida.

Agradeço a Deus pela oportunidade e capacidade para realizar este trabalho.

Agradeço a minha orientadora, professora Dr^a Sandra Helena Prudencio, pelo incentivo, amizade e pela dedicação em estar sempre pronta a me orientar. Somente com uma "boa direção um navio chega a seu destino".

A professora Dr^a Sandra Garcia que sempre esteve disposta a me ajudar e colaborar na orientação,

A professora Dr^a Elisa Yoko Hirooka pela compra dos grãos de Kefir.

Agradeço a minha família, pelo grande amor, apoio e incentivo incondicional prestados.

As minhas amigas Beatriz Cervejeira Bolanho, Débora Rezende Ferreira, Talita Szlapak Franco e Patrícia Salomão Garcia que sempre me apoiaram, pelos bons momentos que passamos nesses dois anos, e pela amizade que construímos.

Aos meus inesquecíveis companheiros de mestrado, pela ajuda mútua nos momentos mais difíceis, pelas sugestões, críticas, e pelos momentos históricos vivenciados.

A Clerici- Sacco do Brasil pela doação da cultura "starter" e a empresa Clariant pela doação da inulina.

A equipe sensorial que sem elas seria impossível a realização da ADQ: Neusa Cristal, Gislaine Silveira Simões, Tiago Beviliri Madeira, Mariana Bortholazzi Almeida, Estefano Nakamura, Gisele Onuki, Karina Czaikoski, Juliana Freixo, Débora Rezende Ferreira, Lorena Araújo, Marcela Moreira Terhaag, Alisson dos Reis Canto, Rafael Mizubuti Brito, Rafael Coronato, Rafael Humberto Carvalho, Giselle Nobre, Talita Szlapak Franco, Luciane Yoshiara, Marcos Batista Mendes, Karla Guengolito, Angélica Ishikawa, Agnes Izumi Nagashima, Luciana Lobato, Luciana Bernd, Neide K. K. Kamizake, Beatriz Cervejeira Bolanho, Michelle Rosset, Amanda Junqueira Rossetto, Vinicius Ricardo Acquaro Junior.

Meus agradecimentos também devem ser dados à CAPES, pelo incentivo à pesquisa brasileira.

A capacidade definida de um homem não está nos momentos de conforto e conveniência, mas nos períodos de desafios e controvérsias.

Martin Luther King

MONTANUCI, Flávia Daiana. "**Bebidas de Kefir com e sem inulina em versões Integral e desnatada: elaboração e caracterização química, física, microbiológica e sensorial.**". 2010. 139 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

RESUMO

A bebida Kefir é resultante da fermentação do leite por bactérias ácido lácticas, ácido acéticas e leveduras contidas em grãos de Kefir ou em cultura "starter" liofilizada. Além das bactérias e leveduras benéficas, a bebida contém minerais, vitaminas do complexo B e aminoácidos essenciais importantes para a manutenção das funções vitais do organismo. O consumo da bebida Kefir pode aliviar desordens intestinais e reduzir a flatulência, proporcionando um funcionamento intestinal mais saudável. A inulina é considerada um prebiótico e atua como substituto de gordura. A influência do teor de gordura, iniciadores da fermentação (grãos ou cultura "starter" de Kefir), da adição de 2% de inulina e do armazenamento a 4 °C nas características químicas (composição e acidez), físicas (cor, firmeza, sinérese e viscosidade), microbiológicas (contagens de bactérias ácido lácticas, bactérias ácido acéticas, leveduras e coliformes totais e a 45° C) e sensoriais (perfil sensorial e aceitação) de bebidas foi investigada, por meio de oito formulações (1 e 2, integrais e grãos; 3 e 4, integrais e cultura; 5 e 6, desnatadas e grãos e 7 e 8, desnatadas e cultura. As formulações 2, 4, 6 e 8 continham 2 % de inulina). Para a análise sensorial acrescentaram-se 8 % de sacarose nas formulações. Dezoito provadores treinados participaram da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) e cinquenta consumidores do teste de aceitação. Os dados foram submetidos a ANOVA, teste de Tukey, Correlação de Pearson e Análise de Componentes Principais (ACP). A inulina não foi hidrolisada durante a fermentação. As formulações tiveram pH entre 4,60 a 4,36 e a acidez semelhante (0,93%). As bebidas desnatadas eram menos amarelas ($b^* = 3,76$), com menor teor de lactose (2,9 g/100g) e maior sinérese (31,81 g/100g) que as integrais ($b^* = 5,8$, lactose = 3,2 g/100g, sinérese = 26,9 g/100g). As formulações integrais fermentadas com cultura "starter", com e sem inulina eram mais firmes e viscosas (firmeza = 1,80 N, viscosidade entre 5300 e 3342 cP) que as desnatadas fermentadas com grãos de Kefir, com e sem inulina (firmeza = 0,35 N, viscosidade = 2527 cP). As contagens de bactérias ácido lácticas, ácido acéticas e leveduras nas formulações apresentaram variações, não sendo possível identificar a influência do teor de gordura, iniciador da fermentação ou inulina. A adição de sacarose e homogeneização causaram diminuição da firmeza e viscosidade das bebidas. Na ADQ, o primeiro componente principal da ACP (54 % de explicação) separou as formulações quanto aos iniciadores da fermentação e o segundo componente (24,2 % de explicação) quanto ao teor de gordura. As bebidas integrais fermentadas com grãos apresentaram aparência granulosa e textura pouco homogênea, e as fermentadas com cultura "starter" maior cremosidade, viscosidade, consistência e cor amarelada. As desnatadas fermentadas com grãos tiveram maior intensidade de gosto e aroma ácidos e menor de consistência, cremosidade e viscosidade, e as fermentadas com cultura "starter", aroma e gosto doces e homogeneidade mais intensos, e textura granulosa menos intensa. As bebidas mostraram aceitação moderada (valor entre 6 e 7 em escala de 9 pontos). A formulação com leite integral, cultura "starter" e inulina foi mais aceita que a desnatada, fermentada com grãos de Kefir e sem inulina. A estocagem resultou na

diminuição de 8 % no conteúdo de inulina nas bebidas integrais e de 9 % nas desnatadas, e de 33 % de lactose para as desnatadas e de 40 a 29 % para as integrais. Houve diminuição de pH de 4,80 para 4,07 (integrais) e de 4,79 para 4,15 (desnatadas) e aumento da acidez de 0,9 para 1,43 % (integrais) e de 0,95 para 1,39 % (desnatadas) nas formulações fermentadas com grãos. Nas fermentadas com cultura houve oscilação de pH (entre 4,58 e 4,69 nas integrais e entre 4,54 e 4,58 nas desnatadas) e de acidez (entre 0,90 e 0,86 nas integrais e entre 0,97 e 0,92 nas desnatadas). De forma geral, houve aumento da firmeza de 0,45 para 0,58 N nas integrais fermentadas com grãos, de 1,80 para 2,07 N nas integrais fermentadas com cultura "starter", de 0,35 para 0,74 N nas desnatadas fermentadas com grãos de Kefir e de 1,39 para 1,62 N nas desnatadas fermentadas com cultura "starter", e de sinérese de 25,94 para 26,03 g/100g nas integrais e 31,81 para 37,45 g/100g nas desnatadas. A viscosidade aumentou de 4136,18 para 4434,0 cP nas integrais e de 2878,75 para 2202,7 cP nas desnatadas. O número de bactérias ácido lácticas, bactérias ácido acéticas e leveduras oscilou entre 8 a 12 log UFC g⁻¹. Não detectaram-se coliformes nas bebidas no primeiro e no 28° dia de armazenamento.

Palavras-chave: Bebida fermentada. Probiótico. Substituto de gordura. Análise Descritiva Quantitativa. Consumidor. Grãos de Kefir. Cultura starter de Kefir.

MONTANUCI, Flávia Daiana. "**Bebidas de Kefir com e sem inulina em versões Integral e desnatada: elaboração e caracterização química, física, microbiológica e sensorial.**". 2010. 139 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

ABSTRACT

The beverage Kefir is a result of fermentation of milk by lactic acid bacteria, acetic acid bacteria and yeasts contained in Kefir grains or in lyophilized starter culture. Besides bacteria and yeasts, the beverage contains minerals, vitamins B and essential amino acids, important for the maintenance of the vital functions of the organism. The beverage consumption can relieve intestinal disorders and reduce flatulence promoting a healthier intestinal system. The inulin is considered a prebiotic and acts as a fat substitute. The influence of fat content, fermentation initiators, grains or Kefir starter culture, and the addition of 2 % of inulin and cold storage (4° C) in the chemical characteristics (composition and acidity) physical characteristics (color, firmness, syneresis and viscosity), microbiological characteristics (counts of lactic acid bacteria, acetic acid bacteria, yeasts and total coliforms at 45° C) and sensorial characteristics (sensorial profile and acceptability) were investigated, through eight formulations (1 e 2, full fat and Kefir grains; 3 e 4, full fat and starter culture; 5 e 6, low-fat and Kefir grains e 7 e 8, low-fat and starter culture. The formulations 2, 4, 6 e 8 contained 2 % of inulin. Saccharose (8% w/v) was added in the formulations for the sensorial analysis. Eighteen trained tasters participated in the Quantitative Descriptive Analysis (QDA) and fifty consumers in the acceptability test. The data were submitted to the ANOVA, Tukey test, Pearson Correlations and Analysis of Main Components. The inulin was not hidrolized during the fermentation process. The pH varied from 4,60 to 4,36 and acidity was similar (0,93%). The low-fat beverage were less yellowish ($b^* = 3,76$), with lower lactose content (2,9 g/100g) and higher syneresis (31,81 g/100g) than full-fat beverages ($b^* = 5,8$, lactose = 3,2 g/100g, syneresis = 26,9 g/100g). The full-fat fermented formulations with starter culture, with or without inulin were firmer and more viscous (firmness = 1,80 N, viscosity between 5300 and 3342 cP) than low-fat fermented beverages with Kefir grains, with and without inulin (firmness = 0,35 N, viscosity = 2527 cP). The counts of lactic acid and acetic acid bacteria, and yeasts in the formulations indicated variations, making it impossible to identify the influence of fat content, fermentation initiator or inulin. The addition of saccharose and the homogenization process presented a decrease in firmness and viscosity of the beverages. In the Quantitative Descriptive Analysis, the first principal component of PCA (54% explanation) separated the formulations regarding the initiators of the fermentation and the second component (24,2 % of explanation) regarding fat content. The full-fat beverages fermented with grains presented grainy appearance and rather homogeneous texture, and the beverages fermented with starter culture, indicated more creaminess, viscosity, consistency and a yellowish color. The low-fat beverages fermented with grains presented a higher level taste and flavor and aroma but less consistency, creaminess and viscosity while the beverages fermented with starter culture, presented sweet aroma and taste and more intense homogeneity, besides a less intense granular texture. The beverages presented a moderated level of acceptance (value between 6 and 7 in scale of 9 points). The formulation with full fat

milk, starter culture and inulin indicated a higher acceptance level than low-fat beverages fermented with Kefir grains and without inulin. The storage resulted in a decrease of 8 % in content of inulin in the full-fat beverages and 9% in low-fat, and 33 % of lactose for low-fat and from 40 to 29% for the full-fat. There was a decrease in pH from 4,80 to 4,07 (full-fat) and from 4,79 to 4,15 (low-fat) and an increase of acidity level from 0,90 to 1,43 % (full-fat) and from 0,95 to 1,39 % (low-fat) in the formulations fermented with grains. In formulations fermented with culture was oscillation pH (between 4,58 and 4,69 in full-fat and from 4,54 to 4,58 in low-fat) and acidity level (between 0,90 and 0,86 in full-fat and between 0,97 and 0,92 in low-fat). In general, the firmness increased from 0,45 to 0,58 N in full-fat fermented with grains, from 1,80 to 2,07 N in full-fat fermented with starter culture, from 0,35 to 0,74 N in low-fat fermented with Kefir grains and from 1,39 to 1,62 N in low-fat fermented with starter culture, syneresis from 25,94 to 26,03 g/100g in full-fat and from 31,81 to 37,45 g/100g in low-fat. The viscosity level increased from 4136,18 to 4434,0 cP in full-fat and from 2878,75 to 2202,7 cP in low-fat. The counts of lactic acid bacteria, acetic acid bacteria and yeasts oscillated between 8 and 12 log UFC g⁻¹. The presence of coliforms was not detected in the beverages within the first and in the 28° day of storage.

Keywords: Fermented beverages. Probiotic. Fat substitute. Quantitative Descriptive Analysis. Consumer. Kefir grains. Kefir starter culture.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Grãos de Kefir	21
Figura 2 – Microscopia eletrônica dos grãos de Kefir mostrando bactérias e leveduras em carboidrato ou proteína	22
Figura 3 – Microscopia eletrônica do grão de Kefir mostrando associação simbiótica entre as bactérias e leveduras	22
Figura 4 – Etapas de produção do Kefir	28
Figura 5 – Estrutura química da inulina com as moléculas terminal de glicose (β -D-glucopiranosil) (A) e com a molécula terminal de frutose (β -D- glucopiranosil)(B)	39
Figura 6 – Etapas de produção da bebida com grãos ou com cultura starter de Kefir	50
Figura 7 – Ficha para teste de reconhecimento de gostos básicos.....	57
Figura 8 – Ficha para teste de reconhecimento de odores básicos	58
Figura 9 – Ficha para o levantamento de terminologia descritiva	59
Figura 10 – Ficha utilizada para avaliação dos atributos levantados na Análise Descritiva Quantitativa.....	62
Figura 11 – Ficha para Teste Afetivo	64
Figura 12 – Projeções dos Atributos Sensoriais (a) e bebidas (formulações) do Kefir (b) sobre o plano fatorial (CP1X CP2)	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Definições e referências para os termos descritores gerados pela equipe sensorial descritiva	60
Tabela 2	– Composição química dos grãos de Kefir (base úmida).....	67
Tabela 3	– Contagem de bactérias ácido lácticas, ácido acéticas e leveduras nos grãos e na cultura starter de Kefir.....	68
Tabela 4	– Composição química das bebidas Kefir (base úmida)	70
Tabela 5	– Conteúdo médio de inulina das bebidas Kefir	72
Tabela 6	– Conteúdo médio do pH, acidez e lactose das bebidas Kefir	73
Tabela 7	– Parâmetros L, a* e b* de cor das bebidas de Kefir	76
Tabela 8	– Firmeza, sinérese e viscosidade das bebidas Kefir	78
Tabela 9	– Valores médios das contagens de bactérias ácido lácticas, bactérias ácido acéticas e leveduras das bebidas Kefir.....	82
Tabela 10	– Valores médios de firmeza e viscosidade das bebidas de Kefir com e sem sacarose	85
Tabela 11	– Correlações dos atributos com os eixos componentes principais (CP).....	89
Tabela 12	– Média dos atributos sensoriais das bebidas adoçadas de Kefir.....	91
Tabela 13	– Coeficiente de correlação de Pearson dos atributos sensoriais obtidos na ADQ.....	96
Tabela 14	– Coeficientes de correlação de Pearson entre as medidas físico-químicas e instrumentais e os atributos sensoriais gerados no ADQ	98
Tabela 15	– Aceitação das bebidas Kefir adoçadas	100
Tabela 16	– Valores médios de pH nas bebidas integrais de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C	102
Tabela 17	– Valores médios de pH nas bebidas desnatadas de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C.....	103
Tabela 18	– Valores médios de acidez nas bebidas integrais de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C.....	104
Tabela 19	– Valores médios de acidez nas bebidas desnatadas de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C.....	104

Tabela 20	– Conteúdo médio de lactose nas bebidas integrais de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C	105
Tabela 21	– Conteúdo médio de lactose nas bebidas desnatadas de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C	106
Tabela 22	– Conteúdo médio de inulina das bebidas Kefir durante o período de armazenagem a 4°C	108
Tabela 23	– Conteúdo médio de inulina das bebidas Kefir durante o período de armazenagem a 4°C	108
Tabela 24	– Valores médios de firmeza nas bebidas integrais de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C	109
Tabela 25	– Valores médios de firmeza nas bebidas desnatadas de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C	110
Tabela 26	– Valores médios de sinérese nas bebidas integrais de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C	111
Tabela 27	– Valores médios de sinérese nas bebidas desnatadas de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C	111
Tabela 28	– Valores médios de viscosidade nas bebidas integrais de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C	112
Tabela 29	– Valores médios de viscosidade nas bebidas desnatadas de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C	113
Tabela 30	– Valores médios das contagens de bactérias ácido lácticas, ácido acéticas e leveduras das bebidas integrais de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C	114
Tabela 31	– Valores médios das contagens de bactérias ácido lácticas, ácido acéticas e leveduras nas bebidas desnatadas de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C	115

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Contagens de bactérias ácido lácticas, ácido acéticas e leveduras nos grãos de Kefir, na cultura starter e na bebida Kefir.....	27
Quadro 2 – Composição química e nutricional da bebida Kefir	30
Quadro 3 – Microrganismos com propriedades probiótica.....	37

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO DA LITERATURA	20
2.1	KEFIR	20
2.1.1	Grãos de Kefir Versus Cultura "Starter" Comercial de Kefir	24
2.1.2	Produção da Bebida Kefir	27
2.1.3	Composição Nutricional e Química da Bebida de Kefir	29
2.1.4	Kefir e Saúde	31
2.2	ALIMENTO FUNCIONAL	33
2.3	PROBIÓTICO	35
2.4	PREBIÓTICO	37
2.4.1	Inulina	38
2.4.2	Toxicidade da Inulina	42
2.5	EFEITO SIMBIÓTICO, PROBIÓTICO E PREBIÓTICO	43
2.6	ANÁLISE SENSORIAL	43
2.6.1	Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)	44
2.6.2	Testes Afetivos	45
3	OBJETIVO	46
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	46
4	MATERIAL E MÉTODOS	47
4.1	MATERIAL	47
4.1.1	Matéria –Prima	47
4.2	MÉTODOS	48
4.2.1	Ativação dos Grãos e da Cultura "Starter" de Kefir	48
4.2.2	Caracterização Química e Microbiológica dos Grãos e da Cultura "Starter" de Kefir	48
4.2.3	Preparação das Bebidas de Kefir	48
4.2.4	Avaliações Químicas e Físicas das Bebidas de Kefir	50
4.2.4.1	Composição química	50
4.2.4.2	Determinação do pH	51

4.2.4.3	Acidez titulável	51
4.2.4.4	Avaliação da cor	51
4.2.4.5	Firmeza	52
4.2.4.6	Sinérese	52
4.2.4.7	Viscosidade	52
4.2.5	Avaliação Microbiológica	53
4.2.5.1	Contagem de bactérias ácido lácticas.....	53
4.2.5.2	Contagem de bactérias ácido acéticas.....	53
4.2.5.3	Contagem de leveduras	54
4.2.5.4	Coliformes totais e coliformes a 45 °C.....	54
4.2.6	Avaliação Sensorial	55
4.2.6.1	Condições do teste.....	55
4.2.6.2	Análise descritiva quantitativa (ADQ)	56
4.2.6.2.1	<i>Pré-seleção dos candidatos</i>	56
4.2.6.2.2	<i>Desenvolvimento de terminologia descritiva</i>	58
4.2.6.2.3	<i>Seleção final de provadores para compor a equipe</i>	63
4.2.6.2.4	<i>Avaliação das amostras</i>	63
4.2.6.3	Teste afetivo	64
4.3	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA	65
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
5.1	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DOS GRÃOS E DA CULTURA "STARTER" DE KEFIR	67
5.2	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, FÍSICA E MICROBIOLÓGICA DAS BEBIDAS DE KEFIR.....	69
5.2.1	Caracterização Química	69
5.2.2	Caracterização Física	76
5.2.3	Caracterização Microbiológica	81
5.2.4	Coliformes Totais e Coliformes a 45° C.....	84
5.3	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E SENSORIAL DAS BEBIDAS ADOÇADAS DE KEFIR	84
5.3.1	Firmeza e Viscosidade das Bebidas Adoçadas de Kefir.....	84
5.3.2	Perfil Sensorial das Bebidas Adoçadas de Kefir.....	86
5.3.3	Correlações entre os Atributos Gerados na ADQ.....	96

5.3.4	Correlações entre Medidas Químicas e Físicas das Bebidas com e sem Sacarose e Atributos Sensoriais das Bebidas Adoçadas	98
5.3.5	Aceitação das Bebidas Adoçadas de Kefir	99
5.4	COMPORTAMENTO QUÍMICO, FÍSICO E MICROBIÓLOGICO DAS BEBIDAS KEFIR NÃO ADOÇADAS DURANTE O ARMAZENAMENTO A 4° C	101
5.4.1	pH, Acidez, Teor de Lactose e Inulina	102
5.4.2	Firmeza, Sinérese e Viscosidade	109
5.4.3	Contagem Microbiologia	114
5.4.4	Coliformes Totais e Coliformes a 45° C	118
6	CONCLUSÕES	119
	REFERÊNCIAS	121
	ANEXOS	129
	ANEXO A	130
	ANEXO B	131
	ANEXO C	134
	ANEXO D	135
	ANEXO E	138

1 INTRODUÇÃO

O termo "alimentos funcionais" foi inicialmente definido no Japão, em meados da década de 80, como alimentos semelhantes em aparência aos alimentos convencionais, usados como parte de uma dieta normal, demonstrando benefícios fisiológicos e/ou reduzindo o risco de doenças crônicas, além de suas funções básicas nutricionais. O consumo regular de alimentos funcionais pode, potencialmente, reduzir as chances de ocorrência de certos tipos de câncer, doenças do coração, osteoporose, problemas intestinais e muitos outros problemas de saúde (BRANDÃO, 2002).

Inúmeros são os fatores que têm contribuído para o desenvolvimento de alimentos funcionais, sendo um deles o aumento da consciência dos consumidores, que desejando melhorar a qualidade de suas vidas, optam por hábitos saudáveis (MORAES; COLLA, 2006).

A bebida Kefir, resultante da fermentação do leite pela microbiota contida em grãos de Kefir ou cultura "starter" liofilizada, contém vitaminas, minerais e aminoácidos essenciais e pode ser considerada um alimento funcional oferecendo vários benefícios à saúde, além do valor nutritivo inerente à sua composição química, desempenhando um papel potencialmente benéfico na redução do risco de doenças crônicas degenerativas do consumidor (MORAES; COLLA, 2006).

Os grãos de Kefir contêm uma complexa microbiota em simbiose, sendo uma mistura de bactérias ácido lácticas (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, e *Streptococcus*), bactérias ácido acéticas (*Acetobacter*) e leveduras (*Kluyveromyces*, *Saccharomyces* e *Torula*) (PIERMARIA; CANAL; ABRAHAM, 2007). Já a cultura "starter" é a combinação de espécies de bactérias e leveduras que ao fermentarem o leite produzirão bebidas semelhantes às bebidas com grãos de Kefir, porém menos ácidas.

A inulina é adicionada como um agente prebiótico ou substituto de gordura em vários produtos. De acordo com a FAO/ AGNS (2007) prebióticos são componentes alimentares não viáveis que conferem benefícios à saúde do hospedeiro associado à modulação de sua microbiota.

Vários estudos têm chamado a atenção para a contribuição dos prebióticos (oligofrutose, inulina, rafinose e estaquiase) no aumento da viabilidade

dos microrganismos presentes no cólon (LI; KIM; ZHOU, 2008; GIBSON; ROBERFROID, 1995).

Todo alimento somente será consumido se agradar o paladar do consumidor, o teste sensorial afetivo têm o objetivo de avaliar a resposta dos indivíduos com relação à aceitação de um produto e a técnica de Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) proporciona uma completa descrição de todas as propriedades sensoriais do produto, representando um dos métodos mais completos e sofisticados para a caracterização de atributos sensoriais importantes (STONE; SIDEL, 2004).

O consumo da bebida Kefir no Brasil ainda é baixo, a não ser o consumo na forma artesanal. Kefir é um produto saudável que oferece vários benefícios ao nosso organismo e a adição de inulina pode enriquece-lo, devido à ação prebiótica, presença de fibras, substituição de gordura e melhorar a consistência. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do iniciador da fermentação (grãos ou cultura "starter" liofilizados), teor de gordura, de inulina, e do armazenamento a 4 °C nas características químicas, físicas, microbiológicas e sensoriais de formulações da bebidas de Kefir.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 KEFIR

Kefir é derivado da palavra turca "kef" que significa "sentir bem". É uma bebida que utiliza leite e uma cultura microbiana contida em grãos de Kefir, e teve origem nas montanhas do Cáucaso Setentrional há muitos séculos. A bebida possui consistência cremosa, uniforme e espessa, leve sabor ácido, aroma moderado de levedura fresca, efervescência de sabor "carbonatado" natural e pode conter entre 0,08 a 2 % de álcool. É um leite fermentado, com dupla fermentação, alcoólica e ácida, ao mesmo tempo. Muitas combinações aromáticas contribuem para o sabor e odor agradáveis e característicos (IRIGON et al., 2005; FARNWORTH; MAINVILLE, 2008).

Os principais produtos da fermentação da lactose do leite pelos grãos de Kefir são o ácido láctico, ácido acético, acetaldeído, diacetil, etanol e CO₂. O Kefir é um produto rico em vitamina B₁, B₂, cálcio, aminoácidos e vitaminas K. A produção de dióxido carbono contribui para o acentuado gosto ácido produzido por leveduras sendo considerado típico da bebida Kefir. As características químicas do leite, o processo tecnológico de produção do Kefir e os microrganismos presentes na cultura são fatores que influenciam as características físico-químicas e sensoriais durante o período de estocagem da bebida (OTLES; CAGINDI, 2003). A lactose é consumida e transformada pela cultura microbiana o que torna o leite assimilável por indivíduos que possuem intolerância a lactose (FARNWORTH; MAINVILLE, 2008).

Os grãos de Kefir possuem formas irregulares, massa gelatinosa, cujo tamanho podem variar de 1 a 6 mm de diâmetro, são amarelos, lembrando pequenas couves-flor (Figurai) (OTLES; CAGINDI, 2003). Segundo Piermaria, Canal e Abraham (2007), os grãos contêm complexa microbiota em simbiose (Figura 2 e 3), com misturas de bactérias ácido lácticas (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, e *Streptococcus* spp.), bactérias ácido acéticas (*Acetobacter*) e leveduras (*Kluyveromyces*, *Saccharomyces* e *Torula*) incluindo uma matriz de proteína e polissacarídeo. De acordo com Irigoyen et al. (2005), os grãos possuem leveduras fermentadoras de lactose (*Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces*

lactis, *Torula kefir*), e leveduras não fermentadoras de lactose (*Saccharomyces cerevisiae*).



Figura 1 – Grãos de Kefir
Fonte: Otles e Cagindi (2003).

Vários estudos relatam as dificuldades de isolar e identificar os microrganismos presentes nos grãos e na bebida Kefir porque ocorre uma associação entre as várias espécies de bactérias e leveduras. Koroleva (1991) citado por Irigoyen et al. (2005) estudando e monitorando os grãos de Kefir notou que é difícil isolar esses microrganismos porque quando isolados em culturas puras eles não se desenvolvem em leite ou tem diminuição da sua bioatividade. Por causa disso os grãos de Kefir são um exemplo de simbiose (Figura 3), o crescimento e sobrevivência de uma espécie é dependente da outra. Segundo Farnworth e Mainville (2008), o crescimento de diversas bactérias ácido lácticas isoladas dos grãos de Kefir pode ser estimulado na presença de leveduras, indicando que as leveduras presentes nos grãos de Kefir são essenciais para a integridade e viabilidade da microbiota dos grãos de Kefir.

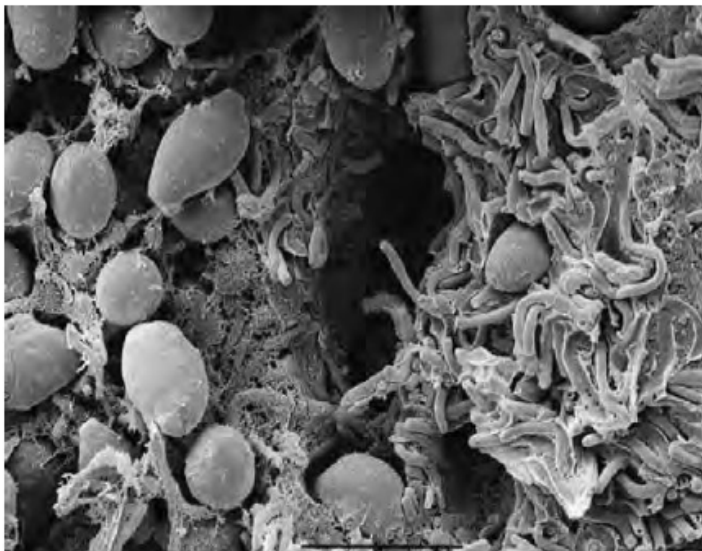


Figura 2 – Microscopia eletrônica dos grãos de Kefir mostrando bactérias e leveduras em carboidrato ou proteína.

Fonte: Farnworth e Mainville (2008).

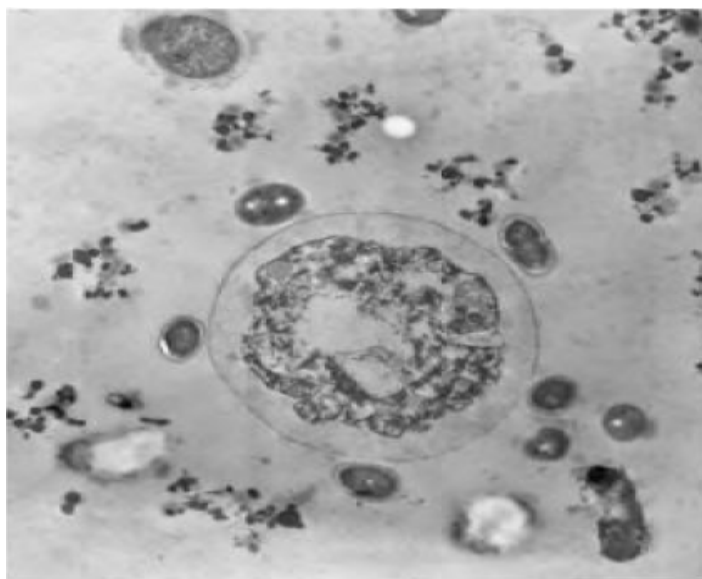


Figura 3 – Microscopia eletrônica do grão de Kefir mostrando associação simbiótica entre as bactérias e leveduras.

Fonte: Farnworth e Mainville (2008)

As vitaminas, aminoácidos e outros fatores essenciais para o crescimento das bactérias são produzidos por leveduras, enquanto que produtos finais do metabolismo das bactérias são usados como fonte de energia pelas leveduras (FARNWORTH; MAINVILLE, 2008).

A simbiose encontrada na população de microrganismos dos grãos de Kefir permite que os grãos mantenham uniformidade, uma vez que ao longo do ano o perfil microbiológico dos grãos e da bebida Kefir permanecem estáveis apesar de variações na qualidade do leite e na presença potencial de antibióticos e outras substâncias inibitórias no leite. O perfil de microrganismos no produto final não necessariamente se assemelha aquele dos grãos devido às condições (pH e outros) durante o processo de fermentação. Também a localização dos microrganismos nos grãos pode ser um fator. Leveduras são geralmente encontradas no interior dos grãos enquanto que *Lactococcus* spp são encontrados no exterior. Por isso, o número de leveduras encontradas no produto final é menor do que o encontrado nos grãos, enquanto que lactococos são numerosos na bebida final. A composição microbiana complexa dos grãos de Kefir produz bebida Kefir. Por isso, diferente do iogurte, a bebida Kefir não pode ser usada como iniciadora para produzir nova bebida de Kefir (FARNWORTH; MAINVILLE, 2008).

Garrote, Abraham e Antoni (1997) usaram microscópio eletrônico de varredura para investigar a localização dos microrganismos nos grãos de Kefir. Eles sugeriram que a população de leveduras e bactérias ácido lácticas (*Lactobacillus* e *Lactococcus* spp) não são perfeitamente distribuídas nos grãos. Os lactobacilos e lactococos se localizam na parte periférica do grão, enquanto que, as leveduras se localizam no interior. Farnworth e Mainville (2008) relatam outros estudos da microscopia eletrônica dos grãos que afirmam que a composição da superfície dos grãos é diferente do interior, devido às diferenças de pH existente nos grãos. O interior dos grãos possui menor pH inibindo o crescimento de espécies de *Lactobacillus* e *Lactococcus* e favorece o crescimento de leveduras, predominando as bactérias na superfície e as leveduras no interior dos grãos. Estudos relatam que os microrganismos presentes na superfície dos grãos causam grande impacto no processo de fermentação (FARNWORTH; MAINVILLE, 2008; SARKAR, 2007).

As leveduras são as principais responsáveis pela formação de sabor carbonatado e aroma de fermentado próprio da bebida de Kefir. Entretanto o número de leveduras encontradas na bebida é menor do que o encontrado nos grãos, considerando que a contagem de *Lactobacillus* e *Lactococcus* é maior na bebida. (FARNWORTH; MAINVILLE, 2008).

Zajsek e Gorsek (2009) afirmam que as leveduras presentes nos grãos de Kefir estão envolvidas com a viabilidade das bactérias devido à simbiose,

produzindo metabólitos que contribuem com o aroma e sabor da bebida. Também foi observado que os grãos possuíam maior contagem de leveduras que a bebida, e que as leveduras encontradas nos grãos não são as mesmas da bebida, devido aos diferentes meios de multiplicação.

Segundo Tomelin, Peil, Peplau (2006), os grãos de Kefir normalmente flutuam na bebida após algumas horas de fermentação. Isto ocorre por causa da densidade do grão e do CO₂ produzido pelas leveduras. As bolhas formadas durante o processo de fermentação fazem os grãos flutuar, e também são responsáveis pela flutuação de coágulos mais firmes. Assim, algumas horas depois da fermentação pode-se verificar, flutuando no produto, uma camada mais espessa contendo os grãos.

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 que produzem uma rede de glicose e galactose, aonde as bactérias e as leveduras vão se fixar (ORDOÑEZ, 2005). O Kefiran é uma solução aquosa de glucogalactana que tem função anti-bacteriana e atividade anti-tumoral. Esse polissacarídeo está presente em grãos de Kefir e também na bebida, e é responsável pela consistência cremosa do Kefir. O Kefiran pode ser classificado como um aditivo alimentar para produtos fermentados, aumentando a viscosidade e o período de estocagem. O Kefiran pode ser obtido através de alta purificação dos grãos de Kefir. Alguns testes indicam que o Kefiran purificado contém menos de 0,01 % de proteína expressa em matéria seca e não contém mono e dissacarídeos. A viscosidade intrínseca da bebida pode ser determinada pelo grau de polimerização dos polissacarídeos. A determinação das propriedades funcionais tecnológicas do Kefiran depende da estrutura de cada exopolissacarídeo originado de grãos que podem variar na composição e devido a forma de manutenção (PIERMARIA, CANAL, ABRAHAM, 2007).

2.1.1 Grãos de Kefir Versus Cultura "Starter" Comercial de Kefir

O papel das culturas "starter" nas fermentações lácticas é auxiliar na preservação do leite pela produção de ácido láctico, e em alguns casos, compostos

antimicrobianos; produção de compostos de sabor e outros metabólicos que resultarão em um produto com características sensoriais desejadas pelo consumidor, melhoramento do valor nutricional com liberação de aminoácidos livres ou síntese de vitaminas B e, os benefícios à saúde devido à presença, no ato do consumo, de células bacterianas viáveis benéficas (TAMIME, 2002).

A bebida de Kefir tradicional é preparada utilizando-se grãos de Kefir como iniciadores da fermentação. Os grãos podem ser reaproveitados para novos processos de fermentação para produção da bebida. Os grãos se mantêm por longo tempo sendo renováveis naturalmente devido sua simbiose. Atualmente, culturas "starter" liofilizadas comerciais para produção da bebida Kefir estão disponíveis. Essas culturas são preparadas de forma a imitar a composição microbiana dos grãos e normalmente são compostas por microrganismos selecionados tais como, espécies de bactérias ácido lácticas como *Lactococcus lactis* spp, *Lactococcus lactis* spp. *lactis biovar diacetylactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactobacillus brevis* *Lactobacillus kefir*, *Leuconostoc* e leveduras como a *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces unisporus* e *Kluyveromyces marxianus var. marxianus*, além de aditivos artificiais. Algumas dessas culturas comerciais podem conter bactérias ácido acéticas. O Kefir produzido a partir de culturas starter comerciais não pode ser utilizado como fonte de cultura iniciadora de nova fermentação, necessitando comprar regularmente nova cultura para continuação da produção do Kefir, tornando-se um processo mais caro (SACCO, 2010; WILDERNESS FAMILY NATURALS, 2010).

Uma vantagem dos grãos é poder utilizar qualquer tipo de leite, enquanto que para a cultura "starter" não é aconselhável utilizar leite que não passou por tratamento térmico, porque os microrganismos presentes neste leite podem ser prejudiciais aos microrganismos presentes na cultura "starter" sendo uma desvantagem. Os grãos de Kefir também conseguem manter o efeito de simbiose pela associação de bactérias e leveduras se mantendo estáveis sem alterações da composição da cultura mãe, enquanto a cultura "starter" é incapaz de manter essa simbiose (ANFITEATRO, 2008).

Para Tomelin, Peil, Peplau (2006), o desenvolvimento e o uso de Kefir produzido a partir de cultura "starter" não deveria ser classificado como Kefir, porque os grãos de Kefir tradicionais não foram usados no processo. Sem o uso de grãos, mas utilizando culturas "starter" comerciais, muitas das propriedades naturais

que só os grãos produzem não serão encontradas nos produtos. O Kefir não pode ser considerado iogurte e sim uma bebida preparada a partir da fermentação utilizando-se grãos de Kefir que tem uma complexa microbiota em comparação ao iogurte.

Nas culturas iniciadoras da fermentação pode haver problemas de contaminação da cultura por microrganismos patogênicos. Como resultado desta contaminação, há necessidade de comprar uma nova cultura a cada preparo. Isso se deve aos limites nos grupos de genes dos microrganismos usados para preparar estas culturas, e a diversidade limitada de espécies nestas culturas. Nos grãos de Kefir qualquer tipo ou espécie de microrganismos podem se desenvolver, pois o fator limitante é o ambiente. Caso qualquer tipo de microrganismo falhe, outro prevalecerá, em razão da vasta complexidade da microbiota encontrada nos grãos de Kefir, que não pode ser encontrada ou duplicada em culturas comerciais (TOMELIN, PEIL; PEPLAU, 2006).

Grãos de Kefir crescem continuamente no leite. Para prevenir o crescimento excessivo deve-se remover parte dos grãos no processo, e os grãos removidos podem ser utilizados em tratamentos terapêuticos, em outros produtos probióticos ou serem consumidos junto com a bebida Kefir. As culturas "starter" provém de uma mistura de bactérias ácido lácticas, com um tipo de levedura e aditivos artificiais. Os grãos de Kefir possuem um número maior de contagem de bactérias ácido lácticas e leveduras e tem a vantagem de ser 100 % natural (ANFITEATRO, 2008).

A bebida Kefir produzida com grãos e com cultura "starter" possuem contagem microbiológica semelhante. Segundo Sarkar (2007), a microbiota dos grãos de Kefir, da cultura "starter" e da bebida Kefir depende das bactérias e leveduras presentes. No estudo realizado pelo autor, os grãos de Kefir possuíam menor contagem de bactérias ácido lácticas e maior contagem de bactérias ácido acéticas e leveduras que a cultura "starter" e a bebida de Kefir preparada com grãos ou cultura, conforme demonstrado no Quadro 1.

Microrganismos	Grãos de Kefir (cfu/g)	Cultura "Starter" (cfu/g)	Bebida Kefir (cfu/g)
Lactococos	10^6	$10^8 - 10^9$	10^9
Leuconostoc	10^6	$10^7 - 10^8$	$10^7 - 10^8$
Lactobacilos	10^8	10^5	10^8
Bactérias ácido Acéticas	10^8	$10^5 - 10^6$	$10^4 - 10^5$
Leveduras	$10^6 - 10^8$	$10^5 - 10^6$	$10^4 - 10^5$

Quadro 1 – Contagens de bactérias ácido lácticas, ácido acéticas e leveduras nos grãos de Kefir, na cultura "starter" e na bebida Kefir

Fonte: Sarkar, 2007.

Zajsek e Gorsek (2009) avaliaram a correlação do tempo de ativação dos grãos de Kefir com a quantidade de leveduras e etanol produzido na bebida Kefir e constataram que quanto maior o tempo de ativação dos grãos maior era porcentagem de etanol e compostos aromáticos encontrados na bebida Kefir.

2.1.2 Produção da Bebida Kefir

O método tradicional de produção da bebida Kefir (Figura 4) consiste na inoculação de 1 a 10 % de grãos de Kefir no leite à temperatura ambiente, o recipiente deve ser coberto com um tecido (por exemplo tunil) que permita a aeração e, então ser mantido ao abrigo da luz a uma temperatura de 15 a 25 °C. Após o período de 18 a 30 horas de fermentação os grãos devem ser separados do leite, e guardados a 4 °C para serem usados em uma próxima inoculação. A bebida Kefir deve ser estocada a temperatura de 4 °C e consumida dentro de no máximo três a quatro dias (OTLES; CAGINDI, 2003).

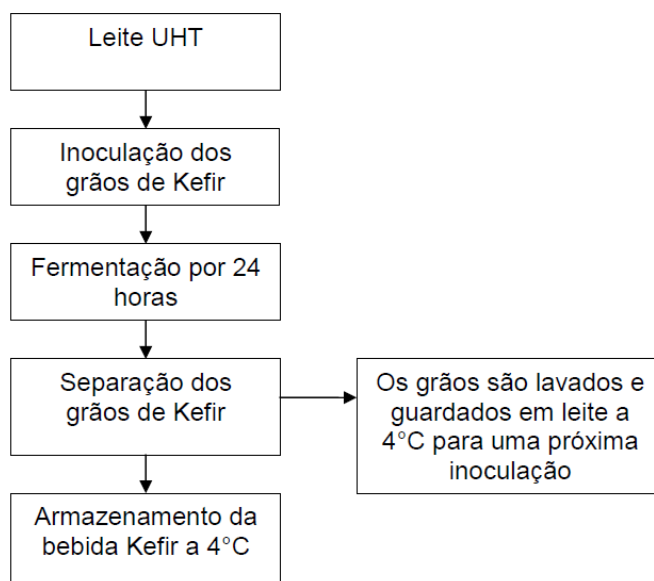


Figura 4 – Etapas de produção do Kefir.

Fonte: Otlés e Cagindi (2003).

O Kefir é uma bebida de consumo rápido. Irigoyen et al. (2005) avaliando sensorialmente amostras de Kefir com 1 e 5 % de grãos de Kefir durante 28 dias relatam que os melhores índices de aceitabilidade foram encontrados no primeiro dia após produção da bebida e que a partir do 14º dia de armazenamento as amostras apresentavam bolores na superfície não podendo ser avaliadas sensorialmente. A intensidade do odor (fermentado, vegetal, "boca" e misto) aumentava durante a estocagem sendo um dos fatores que mais afetava a aceitabilidade do produto durante a estocagem. Kiliç et al. (1999) relata que os índices de aceitação diminuem significativamente com o tempo. Os autores concluíram que o Kefir mantido refrigerado mantinha as mesmas características iniciais durante os três primeiros dias de armazenamento.

O método de produção a partir da cultura "starter" baseia-se na inoculação de 1 a 3 % da cultura em leite, e segue as mesmas condições do método tradicional, com fermentação a temperatura de 15 a 25 °C, por um período de 18 a 30 horas, porém sem recuperação da cultura (GARCIA FONTAN et al., 2006).

Farnworth e Mainville (2008) relatam vários estudos realizados para determinar as condições ideais de tempo e temperatura de fermentação, mas essa decisão depende muito das características desejadas para a bebida e das condições de processo.

Garrote, Abraham e Antoni (1997) observaram que ocorre rápido aumento da acidificação com a inoculação de 100g de grãos por litro de leite. Tal fato indica que níveis de leveduras e bactérias ácido acéticas são proporcionais à quantidade de grãos inoculados, entretanto níveis de lactobacilos e lactococos são inversamente proporcionais e aumentam com menores porcentagens inoculadas. Segundo Irigoyen et al. (2005), a porcentagem de grãos inoculados influencia significativamente a viscosidade, o teor de lactose, o pH e a contagem microbiana, entretanto não afeta o teor de gordura e a matéria seca.

2.1.3 Composição Nutricional e Química da Bebida de Kefir

A composição da bebida de Kefir é influenciada pela quantidade de gordura do leite, composição microbiológica dos grãos ou culturas e processo de produção do Kefir. A composição química e nutricional aproximada está apresentada no Quadro 2. Conforme já mencionado, os principais produtos formados durante a fermentação são ácido láctico, ácido acético, acetaldeído, diacetil, etanol e CO₂. O acetaldeído e o diacetil são compostos aromáticos característicos do Kefir. O pH característico do Kefir encontra-se entre 4,2 a 4,6 (OTLES; CAGINDI, 2003).

Componentes	100g	Componente	100g
Energia	65 Kcal	Conteúdo Mineral (g)	
Lipídios (%)	3.5	Cálcio	0.12
Proteína (%)	3.3	Fósforo	0.10
Lactose (%)	4.0	Magnésio	12
Umidade(%)	87.5	Potássio	0.15
		Sódio	0.05
		Cloreto	0.10
Ácidos (g)	0.8		
Etanol (g)	0.9	Elementos traços	
ácido láctico (g)	1	Ferro (mg)	0.05
Colesterol (mg)	13	Cobre (µg)	12
Fosfato (mg)	40	Molibdenio (µg)	5.5
		Magnésio (µg)	5
Aminoácidos essenciais (g)		Zinco (mg)	0.36
Tritofano	0.05	Compostos aromaticos	
Leucina	0.34	Acetaldeido	
Isoleucina	0.21	Diacetil	
Threonina	0.17		
Lisina	0.27	B ₁₂	0.5
Valina	0.27	Niacina	0,09
Vitaminas (mg)		C	1
A	0.06	D	0.06
Caroteno	0.02	E	0.11
B ₁	0.04		
B ₂	0.17		
B ₆	0.05		

Quadro 2 – Composição química e nutricional da bebida Kefir

Fonte: Otles e Cagindi (2003).

No iogurte, a lactose presente no leite é transformada em ácido láctico durante a fermentação. Mas somente 30% da lactose presente no leite são hidrolisadas pela enzima p-galactosidase das bactérias, que é a enzima responsável pela hidrólise da lactose em glicose e galactose. Dependendo da composição microbiológica dos grãos de Kefir, as bactérias presentes são capazes de utilizar glicose com produção de ácido láctico (FARNWORTH; MAINVILLE, 2008).

A porcentagem de lipídios presente na bebida Kefir depende muito do tipo de leite utilizado. Segundo Alm (1982) citado por Farnworth e Mainville (2008) não há diferença entre o conteúdo e a composição dos lipídios da bebida de Kefir e do leite. O autor também afirma que o fato de encontrar ácidos graxos livres em produtos fermentados, indica que nesses produtos a digestibilidade do lipídio é maior do que no leite.

A bebida Kefir tem o mesmo padrão de aminoácidos que o leite. As proteínas da bebida são de fácil digestão por meio da ação da coagulação ácida e

proteólise no trato gastrointestinal. Os aminoácidos livres encontrados no leite são consumidos durante as primeiras horas de fermentação por bactérias seletivas para produção da bebida. Quando a fermentação diminui e o Kefir passa para o estágio de maturação, a atividade proteolítica de outros microrganismos tais como bactérias ácido acéticas e leveduras originam mais peptídios e aminoácidos livres que são formados de maneira semelhante em outros produtos lácteos (FARNWORTH; MAINVILLE, 2008).

As leveduras e as bactérias ácido lácticas heterofermentativas são responsáveis pela produção de CO₂ e etanol no Kefir. Quanto maior o tempo de fermentação e maior a acidez do produto final, maior será o conteúdo de CO₂. A quantidade de etanol é proporcional a contagem de leveduras presente na bebida (FARNWORTH; MAINVILLE, 2008).

Os principais compostos voláteis que contribuem para o sabor característico da bebida de Kefir são o acetaldeído e o diacetil, mas o propionaldeído, 2- butanona, n-propanol, ácido acético e o etanol também são encontrados no Kefir e podem influenciar no aroma (FARNWORTH; MAINVILLE, 2008).

A bebida de Kefir também contém vitaminas B₁, B₂, B₅ e vitamina C. O conteúdo de vitaminas é influenciado pelo tipo de leite utilizado e também pela microbiota presente nos grãos (SARKAR, 2007).

2.1.4 Kefir e Saúde

A bebida de Kefir é considerada um alimento funcional por promover benefícios à saúde, promovendo o bem-estar e tornando o organismo humano resistente a diversas doenças devido aos seus componentes nutricionais (ANFITEATRO, 2008).

Farnworth e Mainville (2008) relatam que o consumo da bebida Kefir fornece inúmeros benefícios ao homem, os principais são:

- incremento do valor biológico das proteínas do leite;

- diminuição da intolerância à lactose, porque grande parte da lactose é fermentada;
- limitação da colonização do intestino por microrganismos patogênicos, o que acarreta na diminuição do risco de diarreias, ativando o sistema imunológico;
- aumento de resistência a infecções;
- restabelecimento e equilíbrio da microbiota intestinal;
- diminuição do risco de câncer, principalmente de cólon;
- diminuição da concentração da fração do LDL colesterol sanguíneo;
- redução e/ou retardamento do desenvolvimento de tumores cancerígenos induzindo a resposta imune;
- prevenção e controle de alergias;

Segundo Tietze (1996), além das bactérias benéficas e leveduras, o Kefir contém minerais, vitaminas e aminoácidos essenciais importantes para a manutenção das funções vitais do organismo. Os teores elevados do aminoácido essencial triptofano, de cálcio e de magnésio promovem um efeito relaxante no sistema nervoso. A bebida também fornece fósforo, um mineral que participa do processo de absorção de carboidratos, gorduras e proteínas. Estes nutrientes, por sua vez, são responsáveis pela manutenção e crescimento celular, e fornecimento de energia ao organismo humano.

Não existe registro até o momento de problemas de saúde causados pelo consumo do Kefir. Os microrganismos presentes nos grãos de Kefir previnem o desenvolvimento de microrganismos patogênicos como a *Salmonella* e outros microrganismos presentes no leite. Dessa forma o Kefir é um alimento seguro para consumo (ANFITEATRO, 2008).

A literatura indica vasta relação dos benefícios devido ao consumo de Kefir, porém é muito pobre em relação aos possíveis riscos à saúde. Bissoli (2005), menciona em sua revisão da literatura que apesar da presença de microrganismos no Kefir, infecções causadas por esses microrganismos não foram relatadas na literatura e que também não tem sido observado riscos metabólicos e enzimáticos relacionados ao consumo de Kefir.

Bissoli (2005) avaliou as respostas lipidêmicas de coelhos à ingestão de diferentes apresentações de rações formuladas com Kefir, o estudo mostrou que o Kefir não é vantajoso para a diminuição de colesterol em coelhos, porém mostrou que o Kefir pode ter vantagem no controle de peso e em ações profiláticas contra dislipidemia (aumento dos lipídios no sangue principalmente colesterol e triglicéridios). Dessa forma, concluiu que novos estudos são necessários para comprovar os possíveis efeitos nocivos ou benéficos do Kefir.

Lee et al. (2007) realizaram estudos sobre o efeito antiinflamatório e antialérgico do consumo de Kefir em ratos com pré-disposição asmática. Verificaram que a ingestão regular de Kefir mostrou efeito terapêutico nesse caso e não apresentou nenhum efeito tóxico em altas doses diárias de consumo.

Hlastan-Ribic, Pokorna e Zebic (2005) estudaram o efeito do consumo de Kefir com diferentes porcentagens de gordura na indução de tumores epiteliais em animais. Considerando o Kefir um alimento com propriedades antitumorais os autores constataram que os ratos que consumiram Kefir com maior porcentagem de gordura continuaram a ter pré-disposição para desenvolver câncer e que o desenvolvimento de tumores epiteliais está diretamente relacionado ao conteúdo de gordura e também observaram que o Kefir não conseguiu evitar o desenvolvimento do câncer, apesar do efeito antitumoral alegado.

2.2 ALIMENTO FUNCIONAL

Os alimentos funcionais devem ser semelhantes aos alimentos convencionais, serem consumidos como parte da dieta e produzir benefícios específicos à saúde, tais como a redução do risco de diversas doenças e a manutenção do bem-estar físico e mental. Adicionalmente às suas funções nutricionais, como fonte de energia e de substrato para a formação de células e tecidos, os alimentos funcionais possuem em sua composição um ou mais componentes capazes de agir no sentido de modular processos metabólicos, melhorando as condições de saúde, promovendo o bem-estar das pessoas e reduzindo o risco de aparecimento precoce de doenças degenerativas, que levam a uma diminuição da longevidade (ROBERFROID, 2002).

Os alimentos e ingredientes funcionais podem ser classificados de dois modos: quanto à fonte, de origem vegetal ou animal, ou quanto aos benefícios que oferecem, atuando em seis áreas do organismo: no sistema gastrointestinal; no sistema cardiovascular; no metabolismo de substratos; no crescimento, no desenvolvimento e diferenciação celular; no comportamento das funções fisiológicas e como antioxidantes (MORAES; COLLA, 2006).

Os alimentos para serem considerados funcionais devem apresentar as seguintes características:

- ser alimentos convencionais e ser consumidos na dieta usual;
- ser compostos por componentes naturais, algumas vezes, em elevada concentração ou presentes em alimentos que normalmente não os supririam;
- além do valor básico nutritivo, possuir efeitos positivos que possam aumentar o bem-estar, a saúde e/ou reduzir o risco de ocorrência de doenças, melhorando a qualidade de vida por meio de desempenhos físico, psicológico e comportamental;
- pode ser um alimento natural ou um alimento no qual um componente tenha sido removido ou modificado;
- pode ser um alimento no qual a bioatividade de um ou mais componentes
- tenha sido modificada (ROBERFROID, 2002; HOZER; KIRMACI, 2009).

O registro de um alimento funcional só pode ser realizado após comprovação científica das alegações de propriedades funcionais ou de saúde com base no consumo diário recomendado, na finalidade, nas condições de uso e valor nutricional, ou na(s) evidência(s) científica(s): composição química ou caracterização molecular; e ou formulação do produto; ensaios bioquímicos; ensaios nutricionais e ou fisiológicos e ou toxicológicos em animais de experimentação; estudos epidemiológicos; ensaios clínicos; evidências abrangentes da literatura científica, organismos internacionais de saúde e legislação internacionalmente reconhecidas sob propriedades e características do produto e comprovação de uso tradicional, observado na população, sem associação de danos à saúde (BRASIL, 2002).

De acordo com IFIC (International Food Information Council Foundation) (2005) os probióticos e os prebióticos constituem exemplos de componentes ou ingredientes funcionais.

2.3 PROBIÓTICO

Para Tietze (1996) o Kefir pertence ao grupo dos probióticos que, segundo, a definição da União Européia (1995), são microrganismos vivos, que quando ingeridos em quantidade suficiente, causam efeitos benéficos para a saúde, associado aos seus efeitos nutricionais. O número de microrganismos presentes na bebida Kefir ($>10^7$ cfu/g) é suficiente para que o Kefir seja considerado um probiótico (FARNWORTH; MAINVILLE, 2008).

Segundo Fooks, Fuller e Gibson (1999) o termo probiótico tem origem grega significando "pró-vida". Tal termo foi inicialmente proposto por Lilly e Stilwell (1965) como uma substância secretada por um microrganismo que estimula o crescimento de outro microrganismo. Fuller (1989) redefiniu probiótico como um suplemento microbiano vivo o qual afeta benéficamente o animal hospedeiro, por meio da melhoria de seu balanço microbiano intestinal.

As culturas probióticas são suplementos microbianos que aumentam de maneira significativa o valor nutritivo e terapêutico dos alimentos, afetando benéficamente o balanço microbiológico intestinal. São usados na fermentação do leite ajudando no funcionamento da microbiota intestinal (FOOKS; FULLER; GIBSON, 1999; ZUBILLAGA et. al., 2001; GORBACH, 1996). Entre os diversos gêneros que integram este grupo, destacam-se a *Bifidobacterium* e o *Lactobacillus*, e, em particular, a espécie *Lactobacillus acidophilus* (COPPOLA; TURNES, 2004; FOOKS; FULLER; GIBSON, 1999; ZUBILLAGA et.al., 2001). Vários microrganismos são usados como probióticos, entre eles bactérias ácido lácticas, bactérias não ácido lácticas e leveduras (Quadro 3).

O uso de levedura como probiótico tem efeitos significativos em humanos e animais, no entanto, seus efeitos são pouco estudados. Alguns estudos têm demonstrado que a *Saccharomyces boulardii* têm propriedades de modulação imunológica. A *S. boulardii* é uma levedura não patogênica utilizada por muitos anos

para prevenir ou tratar uma variedade de distúrbios gastrointestinais humanas. Pesquisas realizadas por Martins et al. (2005) demonstram que linhagens de *S. cerevisiae*, isoladas da produção de aguardente, são eficazes na proteção de camundongos contra desafios com patógenos intestinais. Outras pesquisas mostraram que possíveis mecanismos de ação presentes nesta proteção seriam uma imunomodulação pela levedura e uma diminuição da capacidade de translocação de um destes patógenos, a salmonela.

Os benefícios à saúde do hospedeiro atribuídos à ingestão de culturas probióticas são: controle da microbiota intestinal, estabilização da microbiota intestinal após o uso de antibióticos, promoção da resistência gastrintestinal à colonização por patógenos, diminuição da concentração dos ácidos acético e láctico, produção de bacteriocinas e outros compostos antimicrobianos, promoção da digestão da lactose em indivíduos intolerantes à lactose, estimulação do sistema imune, alívio da constipação e aumento da absorção de minerais e vitaminas (MORAES; COLLA, 2006; FOOKS; FULLER; GIBSON, 1999).

Além das propriedades mencionadas, os probióticos devem ser inócuos, manterem-se viáveis por longo tempo durante a estocagem e transporte, tolerar o baixo pH do suco gástrico e resistir à ação da bile e das secreções pancreática e intestinal, possuir propriedades anti-mutagênicas e anticarcinogênicas, assim como resistir a fagos e ao oxigênio, e não causar alterações sensoriais nos alimentos (COPPOLA; TURNES, 2004).

Lactobacillus	Bifidobacterium	Outras bactérias ácido lácticas	Bactérias não ácido lácticas
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus cereus var toyoi</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli cepa nissle</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Propianibacterium freudenreichii</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. breves</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. delbrueckii subsp bulgaricus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>	
<i>L. gasseri</i>	<i>B. longum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<i>L. johnssonii</i>			
<i>L. paracasei</i>			
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

Quadro 3 – Microrganismos com propriedades probiótica

Fonte: Coppola e Turnes (2004).

2.4 PREBIÓTICO

Prebióticos são carboidratos que não são hidrolisados pelas enzimas digestivas humanas no trato gastrointestinal superior e que afetam benéficamente o indivíduo por estimulação seletiva do crescimento e/ou atividade de um número limitado de bactérias no cólon. (LI; KIM; ZHOU, 2008; GIBSON; ROBERFROID, 1995). De acordo com a FAO/ AGNS (2007) prebióticos são componentes alimentares não viáveis que conferem benefícios à saúde do hospedeiro associado à modulação da sua microbiota. Frutana refere-se a qualquer carboidrato com uma ou mais ligações glicosídicas frutana-frutose (CARABIN; FLAMM, 1999). As frutanas por sua configuração química não podem ser hidrolisadas pelas enzimas digestivas do homem, por isso permanecem intactas na parte superior do trato gastrointestinal, mas são totalmente hidrolisadas e fermentadas no trato gastrointestinal inferior (intestino grosso, colon) (MADRIGAL; SANGRONIS, 2007). Segundo Silva (1996),

prebióticos devem ser um substrato seletivo para um número limitado de bactérias potencialmente benéficas do cólon, que são estimuladas a crescerem e desenvolverem atividades metabólicas; capaz de promover uma microbiota intestinal saudável e, como consequência, induzir efeitos no lúmen que beneficiem o hospedeiro.

Alguns efeitos atribuídos aos prebióticos são: a modulação de funções fisiológicas chaves, como a absorção de cálcio, o metabolismo lipídico, a modulação da composição da microbiota intestinal, a qual exerce um papel primordial na fisiologia intestinal e a redução do risco de câncer de cólon (MORAES; COPOLLA, 2006).

Segundo Fooks, Fuller e Gibson, (1999), os critérios para classificação de um ingrediente alimentar como prebióticos são: não deve ser hidrolisado, nem absorvido na parte superior do trato-gastrointestinal; fermentação seletiva por bactérias potencialmente benéficas do colon, alteração na composição da microbiota colônica para uma composição mais saudável; preferivelmente, induzir efeitos que são benéficos para saúde do hospedeiro.

Os fruto-oligossacarídeos (FOS) são polímeros de D-frutose terminando com uma molécula de glicose e formam uma classe de prebióticos e a inulina é um exemplo dessa classe (SILVA, 1996).

2.4.1 Inulina

A inulina é considerada um prebiótico por ser um componente alimentar não absorvido, e que confere benefício à saúde do hospedeiro associado à modulação de sua microbiota intestinal. É um carboidrato de reserva naturalmente presente em mais de 30.000 vegetais, dentre esses vegetais, as raízes de chicória (*Cichorium intybus*) e de alcachofra de Jerusalém (*Helianthus tuberosus*) se destacam na produção em escala industrial (Figura 5) (TONELLI; PARK, 2008).

A inulina convencional é constituída por moléculas de frutose unidas por ligações frutossil-frutose $\beta(2\rightarrow1)$, sendo o termo frutanas usado para designar o composto. As cadeias de frutose tem a particularidade de terminar em unidade de glicose unida por ligações glicosídicas $\alpha(2\rightarrow1)$ como a sacarose. A inulina

caracteriza-se pelo grau de polimerização que varia de 2 a 60 unidades sendo considerada um carboidrato de cadeia curta e de baixo grau de polimerização (MADRIGAL; SANGRONIS, 2007).

A inulina purificada que se encontra no mercado é conhecida como "alta performance" (HP). Quando essa inulina é purificada retiram-se as unidades terminais de glicose, frutose ou sacarose que podem estar presentes nas moléculas e que são as responsáveis pelas características de doçura. A inulina HP possui grau de polimerização entre 11 e 60 unidades, sendo a polimerização média de 25. Este produto promove duas vezes mais a sensação da gordura na boca do que a inulina convencional (FRANCK, 2002; ROBERFROID, 2002; MADRIGAL; SANGRONIS, 2007).

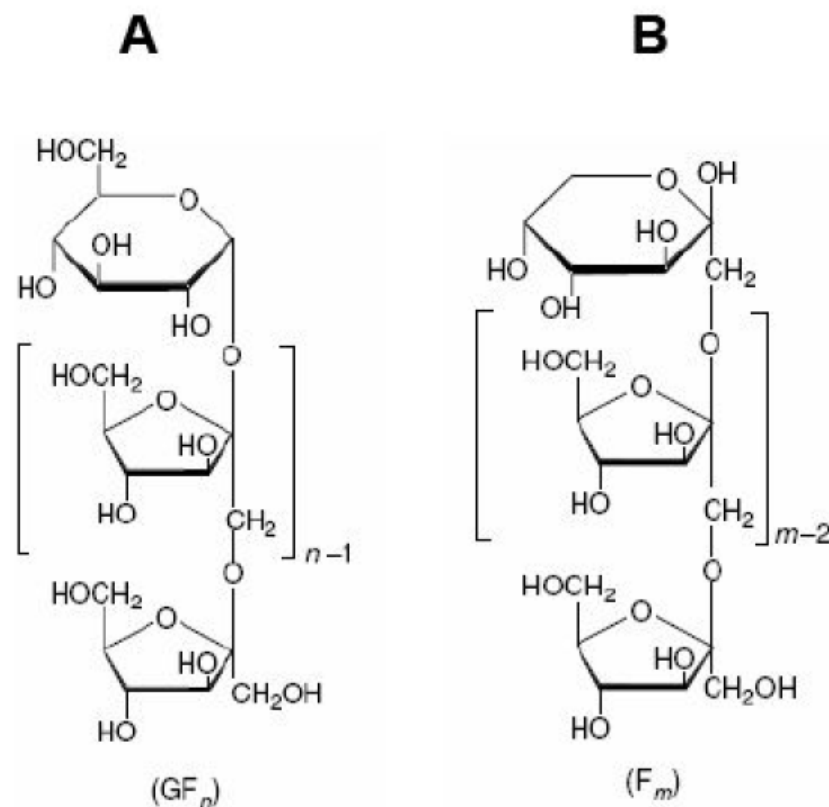


Figura 5 – Estrutura química da inulina com as moléculas terminal de glicose (β -D-glucopiranosil) (A) e com a molécula terminal de frutose (β -D- glucopiranosil) (B).

Fonte: Madrigal e Sangronis (2007).

Segundo Roberfroid et al. (1993); Ranhotra et al., (1993); citado por Oliveira et. al. (2004) e Robinson, (1995) a inulina pode ser considerada um ingrediente funcional sob o ponto de vista da saúde, com baixa contribuição calórica, devido às seguintes propriedades:

- apresenta efeitos benéficos à saúde relacionados a diabetes, metabolismo de lipídios e redução de risco de câncer;
- após a ingestão, não é hidrolisada no sistema digestivo humano, devido a composição química da frutose que não permite a hidrólise das ligações glicosídicas β -(2,1). Apenas no cólon, ocorre a fermentação da inulina por bactérias benéficas presentes no cólon e, conseqüentemente, terá uma baixa contribuição calórica indireta;
- afeta os parâmetros fisiológicos do sistema digestivo, como esvaziamento gástrico, tempo de trânsito, pH, e massa fecal de forma semelhante às fibras alimentares;
- sua ingestão resulta no incremento dos benefícios às bifidobactérias, estimulando o sistema imunológico, a absorção de minerais e inibindo o crescimento de bactérias nocivas ao organismo;

Em muitos países a inulina pode ser utilizada como ingrediente em alimentos e bebidas sem limites de especificações de quantidade (FRANCK, 2002). Gibson (2004) afirma que a dose de ingestão de um prebiótico de 5g/dia já é suficiente para alterar benéficamente a microbiota colônica sendo que em casos mais específicos, esse valor pode chegar a 8g/dia.

A comercialização da inulina é realizada preferencialmente na forma de pó, obtido por meio de secagem por atomização (*spray dryer*). Essa forma está relacionada às facilidades de manipulação, transporte, armazenamento e consumo. Para que haja bom rendimento no processo de secagem por atomização, é necessário que o processo de extração resulte em um extrato líquido com alta concentração de inulina. Ao final do processo de secagem, é preciso conhecer as propriedades do pó resultante, de forma que seja possível avaliar a influência dos parâmetros de secagem sobre as características físicas e sobre a estabilidade do produto final (TONELI; PARK, 2008).

A funcionalidade tecnológica da inulina está baseada em seu efeito sobre soluções aquosas em várias concentrações de sólidos. À medida que a concentração de inulina aumenta, a viscosidade aumenta gradativamente. Para formar gel, a inulina tem que estar numa concentração em que se apresente em discretas partículas. Assim, quando o nível de inulina alcança 30 % de sólidos em solução aquosa, a combinação inulina - água inicia a geleificação. Neste nível, o gel é formado sob resfriamento após 30 a 60 minutos. Quando o nível de inulina aumenta, o gel precisa de menos tempo para ser formado, sendo praticamente instantâneo quando o nível de sólidos em solução está entre 40 - 45 %. O gel de inulina é muito cremoso e assemelha-se à textura da gordura ao toque e sua força depende principalmente da concentração de inulina entre outros fatores (HAULY; MASCATTO, 2002).

A aplicação da inulina na indústria de alimentos também deve-se às propriedades que a tornam capaz de substituir a gordura, com a vantagem de não resultar em incremento calórico. Pode-se, desse modo, empregá-la como ingrediente em uma série de alimentos, tais como chocolates, sorvetes, iogurtes, dentre outros (HAULY; MASCATTO, 2002). A inulina melhora a aceitabilidade de iogurtes elaborados com leite desnatado melhorando a sensação de cremosidade, atuando como agente espessante, retendo água e contribuindo na estabilização dos géis. A capacidade de formar gel é determinante no seu uso como substituto de gordura em produtos lácteos (MADRIGAL; SANGRONIS, 2007).

Diferentemente de outras fibras, a inulina não tem sabores adicionais, e pode enriquecer os alimentos sem contribuir muito com a viscosidade, permitindo que as formulações dos alimentos com adição de 5 a 10 % de fibras mantenham as características de aparência e o gosto das formulações padrões (HAULY; MASCATTO, 2002).

Apesar da inulina ser considerada uma fibra alimentar, não é possível determiná-la por meio dos métodos de análises oficiais da AOAC, por ser muito solúvel em etanol ou ser degradada por hidrólise ácida. Em 1995 a AOAC adaptou o método de determinação de frutana para determinar quantitativamente a inulina em alimentos. Este método quantifica a inulina total mais as oligofrutoses em qualquer produto de origem alimentar, sendo um método bastante específico e reprodutível para ambas as substâncias. O método envolve o tratamento da amostra com as enzimas amiloglicosidase e inulinase, seguido pela determinação dos

açúcares residuais por cromatografia gasosa, cromatografia líquida de alta eficiência ou, preferivelmente, cromatografia de troca aniônica de alta eficiência com detector de pulso amperométrico (FRANCK, 2002).

2.4.2 Toxidade da Inulina

Inúmeros artigos relacionados à saúde reportam estudos que mostram a segurança do consumo de inulina como ingrediente alimentar. Embora isso não seja garantia de segurança, é confortante que durante séculos ninguém tenha reportado dúvidas quanto à segurança desses ingredientes (COUSSEMENT, 1999). Segundo Haully e Mascatto (2002) especialistas, baseado em revisões sobre a toxidade da inulina, concluíram que não há razão para admitir que a inulina, as oligofruktoses e seus metabólitos possam ter efeitos tóxicos no uso em alimentos. Estudos recentes documentam efeitos nutricionais benéficos destas substâncias no trato gastrointestinal do homem (FOOKS; FULLER; GIBSON, 1999).

Carabin e Flamm (1999) realizaram uma ampla revisão bibliográfica sobre a segurança do consumo de inulina. Este estudo mostrou que o consumo de inulina não resulta em mortalidade, morbidade, toxicidade em órgãos, ou carcinogenicidade. Muitos estudos *in vitro* também demonstraram ausência de potencial mutagênico ou genotóxico. A única limitação no uso destas fibras está relacionada à tolerância gastrointestinal. Os testes foram realizados com animais e humanos que receberam doses de inulina maiores do que a recomendação diária. Demonstrando que a inulina não afeta negativamente a absorção dos minerais, o controle da glicose, o metabolismo lipídico e a microbiota intestinal. A dose diária recomendada para consumo é de no máximo 10g ao dia, para não causar riscos à saúde e nenhum efeito colateral, porém em doses mais elevadas poderá ter efeito laxativo. Sinais de intolerância foram observados em doses de 20 a 30g diárias.

Testes realizados pela empresa Orafit indicaram a existência de três categorias de pessoas quanto à ingestão de carboidratos totalmente fermentescíveis: (1) pessoas não-sensíveis: podem consumir 30 gramas por dia ou mais sem desencadear reações indesejáveis; (2) pessoas sensíveis: podem consumir 10 gramas por dia sem desencadear reações indesejáveis, mas podem

apresentá-las com doses superiores a 20 gramas por dia; e (3) pessoas muito sensíveis: podem desencadear reações indesejáveis com doses inferiores a 10 gramas por dia (COUSSEMENT, 1999).

2.5 EFEITO SIMBIÓTICO, PROBIÓTICO E PREBIÓTICO

Um simbiótico é um produto no qual um probiótico e um prebiótico estão combinados. A interação entre o probiótico e o prebiótico *in vivo* pode ser favorecida por uma adaptação do probiótico ao substrato prebiótico. Os simbióticos promovem o crescimento de bactérias benéficas já existentes no cólon, assim como aumentam a sobrevivência, implantação e crescimento das bactérias que estão sendo adicionadas ao produto (LIONG; SHAH, 2005). Este último fato decorre da presença do substrato específico para o probiótico estar disponível para a fermentação (GIBSON; ROBERFROID, 1995).

Segundo Gibson e Roberfroid (1995), a associação entre probiótico e prebiótico traz vários efeitos positivos, como melhor absorção de nutrientes e do metabolismo lipídico.

2.6 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial pode ser definida como uma disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações às características dos alimentos que possam ser percebidas pelo sentido da visão, olfato, tato, sabor e audição, utilizando conhecimentos de Ciência de Alimentos, Fisiologia, Psicologia e Estatística (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1998).

As características sensoriais são aspectos de inegável importância na aceitação dos alimentos. A avaliação deve ser realizada após mudanças das condições de processamento, de matérias-primas, e na otimização de formulações para o desenvolvimento de produtos. O uso da análise sensorial cresceu devido à crescente incorporação de técnicas de análise estatística e as facilidades para o

processamento de dados com softwares específicos e a aplicabilidade de análise sensorial para controle de qualidade, desenvolvimento de produtos e processo e estudo de vida de prateleira (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1998).

Existem diversos métodos sensoriais empregados atualmente e novos métodos continuam sendo desenvolvidos. Em geral, os métodos são divididos em categorias, como segue (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1998):

- discriminativos: métodos que estabelecem diferenciação qualitativa e/ou quantitativa entre as amostras. Exemplos: teste de diferença (comparação pareada, duo trio, triangular, etc) e teste de sensibilidade (limites, estímulo constante e diluição);
- descritivos: métodos que descrevem qualitativamente e quantitativamente as amostras. Exemplos: avaliação de atributos; perfil de sabor; perfil de textura; análise descritiva quantitativa (ADQ);
- afetivos: avaliam a resposta de indivíduos com relação à preferência e/ou aceitação de um produto ou com relação as características específicas do produto; por meio de consumidores habituais ou potenciais do mesmo. Exemplos: comparação pareada, ordenação, escala hedônica e escala de atitude.

2.6.1 Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)

A análise descritiva quantitativa (ADQ) proporciona uma completa descrição e quantificação de todas as propriedades sensoriais de um produto, representando um dos métodos mais completos e sofisticados para a caracterização sensorial de atributos importantes (STONE; SIDEL, 2004).

Segundo Stone et al. (2004), as vantagens da ADQ sobre os outros métodos de avaliação são a confiança no julgamento de uma equipe composta de 10-12 julgadores treinados, ao invés de grupos especializados; desenvolvimento de uma linguagem descritiva objetiva mais próxima à linguagem do consumidor; desenvolvimento consensual da terminologia descritiva a ser utilizada, o que implica

em maior concordância de julgamentos entre provadores; os produtos são analisados com repetições e os resultados são analisados estatisticamente.

2.6.2 Testes Afetivos

Os testes afetivos têm como objetivo avaliar a resposta dos indivíduos com relação à preferência e/ou aceitação de um produto ou com relação às características específicas do produto utilizando consumidores habituais ou potenciais do produto (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1998).

O teste de aceitação é de extrema importância, por refletir o grau em que os consumidores gostam ou desgostam de determinado produto. O número de respostas varia de acordo com o tipo de teste. Em laboratório de Análise Sensorial, aonde é possível controle das condições de luminosidade e preparo da amostra, o número de respostas por produto deve ser de 25 a 50, no máximo 75. No laboratório mais produtos podem ser avaliados de uma única vez (5 a 6 amostras), entretanto, essa abordagem pode requerer retorno para duas ou três sessões em horários diferentes ou em outros dias. Uma alternativa para abordagem desses testes é usando delineamento com blocos incompleto. Também é possível realizar testes afetivos de localização central usando o público em geral devendo ter no mínimo 100 respostas e o teste doméstico que deve ter de 50 a 100 respostas, podendo ser avaliado um ou dois produtos por vez (STONE; SIDEL, 2004).

De todas as escalas e métodos testados, a escala hedônica de nove pontos ocupa um nicho em termos de aplicabilidade para medir a preferência e a aceitação de um produto. A escala foi desenvolvida e descrita em detalhes por Jones et al. (1955) conforme citado por Stone e Sidel (2004) , como parte de um grande esforço para avaliar a aceitabilidade de refeições militares e ainda hoje é muito utilizada.

A escala hedônica é facilmente entendida por consumidores com o mínimo de instrução. Os resultados têm mostrado ser notavelmente estável e as diferenças são reproduzidas com diferentes grupos (STONE; SIDEL, 2004).

3 OBJETIVO

Avaliar o efeito do iniciador da fermentação (grãos ou cultura "starter" liofilizados), teor de gordura, de inulina e do armazenamento a 4° C nas características químicas, físicas, microbiológicas e sensoriais de formulações das bebidas de Kefir.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar química e microbiologicamente os grãos e a cultura "starter" comercial de Kefir;
- Produzir bebidas com grãos e com cultura "starter" de Kefir.
- Testar o papel da inulina como agente espessante, substituto de gordura, prebiótico e fonte de fibra nas bebidas.
- Caracterizar as bebidas de Kefir quanto às propriedades químicas, físicas, microbiológicas e sensoriais.
- Avaliar aceitação das bebidas de Kefir.
- Avaliar a influência do tempo de armazenamento a 4° C nas características químicas, físicas e microbiológicas da bebida Kefir.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nos laboratórios de pesquisa do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos - UEL, localizados no município de Londrina-PR.

4.1 MATERIAL

4.1.1 Matéria -Prima

■ Leite

Para a preparação do Kefir utilizou-se leite UHT (marca Líder) desnatado ou integral e leite em pó desnatado (marca Molico- Nestlé).

■ Grãos e Culturas "starter" de Kefir

Os grãos de Kefir liofilizados foram comprados de Dominic N Anfiteatro da Austrália. A cultura "starter" liofilizada Lyofast MT 036 LV (informações técnicas Anexo A), composta por *Lactococcus lactis* ssp, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc* e leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, foi cedida pelo grupo Clerici-Sacco.

■ Inulina

Utilizou-se inulina da marca Raftiline® HP, extraída da raiz de chicória, proveniente da empresa Orafti. A inulina foi cedida pela empresa Clariant. Informações técnicas esta apresentada no Anexo B.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Ativação dos Grãos e da Cultura "Starter" de Kefir

Para o preparo das bebidas, os grãos de Kefir liofilizados foram ativados em leite desnatado a 25 °C durante um mês, trocando diariamente o leite. A cultura "starter" liofilizada foi ativada em leite desnatado, conforme recomendações do fabricante, na proporção de 1g de cultura em 100mL de leite, e então a cultura foi separada em frascos de 10 mL e mantida congelada a - 18 °C até ser utilizada.

4.2.2 Caracterização Química e Microbiológica dos Grãos e da Cultura "Starter" de Kefir

Os grãos de Kefir separados da bebida após a etapa de fermentação foram lavados com leite desnatado e mantidos refrigerados (4° C) até o dia seguinte para análise de composição química (umidade, proteína, lipídios, cinzas e carboidratos) e contagens de bactérias ácido lácticas (espécies de bacérias ácido lácticas, lactococos e leuconostoc), bactérias ácido acéticas e de leveduras.

Na cultura "starter" foram realizadas as contagens das mesmas espécies de bactérias ácido lácticas, ácido acéticas e de leveduras, após sua ativação.

4.2.3 Preparação das Bebidas de Kefir

Foram preparadas as oito formulações de Kefir conforme segue:

Formulação 1: leite integral, grãos de Kefir, sem inulina;

Formulação 2: leite integral, grãos de Kefir, com inulina;

Formulação 3: leite integral, cultura "starter" Kefir Saccosrl, sem inulina

Formulação 4: leite integral, cultura "starter" Kefir Saccosrl, com inulina;

Formulação 5: leite desnatado, grãos de Kefir, sem inulina;

Formulação 6: leite desnatado, grãos Kefir, com inulina;

Formulação 7: leite desnatado, cultura "starter" Kefir Saccosrl, sem inulina;

Formulação 8: leite desnatado, cultura "starter" Kefir Saccosrl, com inulina.

A preparação da bebida de Kefir foi realizada conforme o esquema ilustrado na Figura 6. Foi utilizado leite UHT (marca Líder) integral ou desnatado acrescentado de leite em pó desnatado e/ ou inulina. As formulações sem inulina receberam 35 g/L de leite em pó desnatado, e as formulações com inulina receberam 15 g/L de leite em pó desnatado e 20 g/L de inulina, a adição de leite em pó desnatado teve como objetivo aumentar o teor de sólidos, além de proporcionar uma bebida mais consistente.

A mistura foi tratada a 90°C por 2 a 3 minutos, e resfriado a 25 °C, inoculado com 1% de grãos de Kefir ou cultura "starter" ativados e incubado a temperatura de 25 °C por um período de 24 horas. Nas formulações com grãos a fermentação foi realizada em béquer de polipropileno e após as 24 horas a bebida foi coado em peneiras para retirada dos grãos. Os grãos retirados da bebida foram lavados com leite e guardados em refrigeração a 4 °C para próxima utilização. Nas formulações com cultura "starter", a fermentação foi realizada em recipiente estéril e descartável. As bebidas de Kefir foram refrigeradas a 4 °C por um período de um até 28 dias para as análises químicas, físicas, microbiológicas e avaliação sensorial.

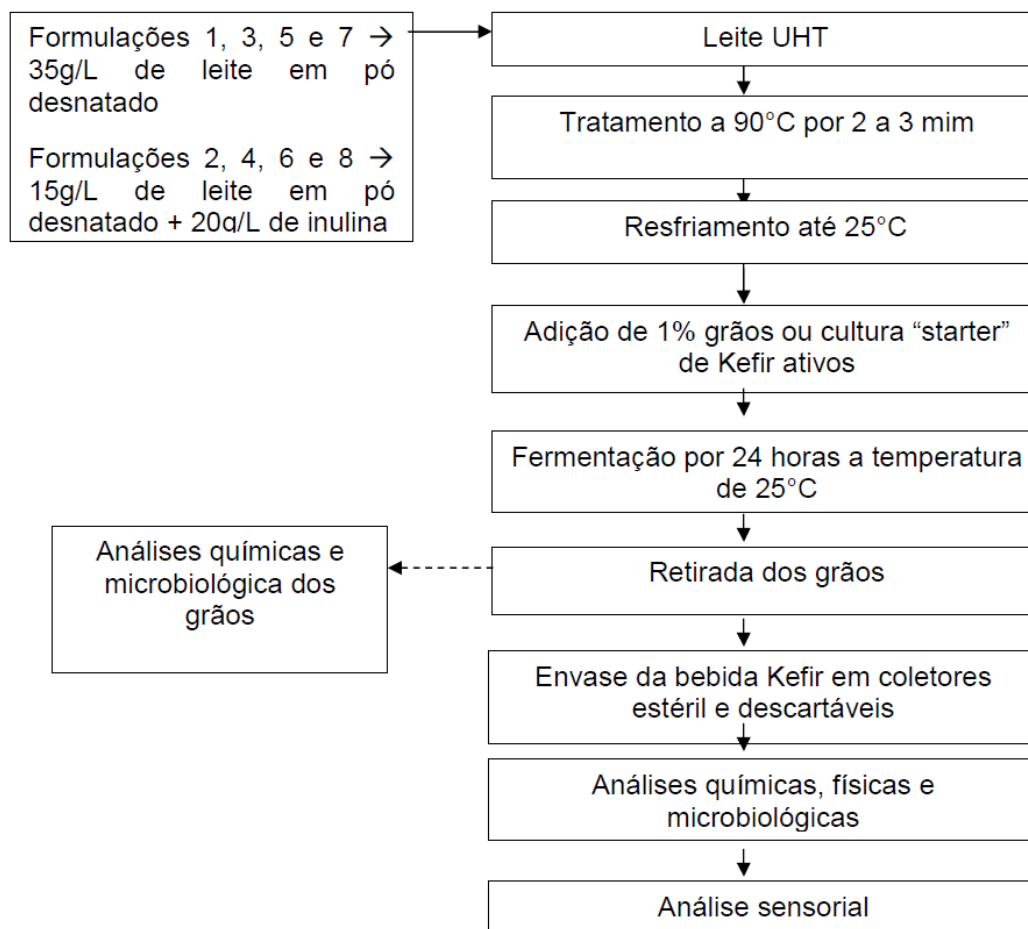


Figura 6 – Etapas de produção da bebida com grãos ou com cultura "starter" de Kefir

4.2.4 Avaliações Químicas e Físicas das Bebidas de Kefir

4.2.4.1 Composição química

A avaliação da composição química foi realizada conforme a AOAC (1995). O teor de umidade foi determinado pelo método de secagem em estufa a 105° C; o de proteína pelo método de micro-Kjeldahl utilizando fator de conversão 6,38; para lipídios utilizou-se método de Gerber; as cinzas foram determinadas pelo método de inceneração em mufla a 550°C; o teor de carboidratos totais foi estimado por diferença, o teor de lactose foi determinado pelo método de Fehling (BRASIL, 2005).

A quantificação da inulina foi feita utilizando-se o kit enzimático Fructan Hk (Megazyme) (MEGAZYME, 2009). Neste método, sacarose e maltossacarídeos de baixo grau de polimerização (se presente na amostra) são hidrolisados à frutose e glicose usando enzima específica sacarase/maltase. Após ajuste de pH, as amostras são analisadas quanto glicose + frutose (A), ou são tratadas com frutanasase (que hidroliza frutana em glicose e frutose) e então, analisadas quanto à glicose + frutose (B). A concentração de glicose mais frutose é medida com um sistema de hexoquinase/fosfoglicose isomerase / glicose 6 - fosfato desidrogenase. O conteúdo de frutana é então determinado pela diferença entre B e A.

4.2.4.2 Determinação do pH

O pH das amostras de Kefir foi determinado em potenciômetro digital, previamente calibrado usando soluções tampões comerciais pH 4,00 e 7,00 (ARAYANA, 2003).

4.2.4.3 Acidez titulável

A acidez titulável foi determinada segundo metodologia da AOAC (1995). Cinco gramas da amostra foram diluídos em água suficiente para totalizar 50 mL de solução. As soluções foram tituladas com NaOH 0,1N até o seu ponto de viragem. O resultado foi expresso em g/100g de produto.

4.2.4.4 Avaliação da cor

Para a avaliação instrumental da cor utilizou-se o colorímetro BYK Gardener (Germany, série 199968), com as seguintes especificações: área de leitura 11mm, iluminante CIE D65 (luz natural do dia), iluminação em ângulo de 45°,

ângulo de observação de 0° e observação padrão CIE 10°. O colorímetro forneceu diretamente os parâmetros L* (luminosidade), a* (componente vermelho-verde) e b* (componente amarelo-azul).

4.2.4.5 Firmeza

A firmeza das formulações, antes da homogenização, foi obtida em texturômetro TA-XT2i (Stable Micro Systems), utilizando sensor cilíndrico de acrílico (probe) AB/E 35 mm, profundidade de compressão de 20mm. As formulações foram submetidas ao teste em seus recipientes originais (DELLO STAFFOLO et al., 2004).

4.2.4.6 Sinérese

O soro liberado das formulações de Kefir foi medido de acordo com Aryana (2003) com modificações. Foi feita a inversão de 100 gramas de Kefir em peneiras cobertas com tecido (tunil). A quantidade de soro coletada após 2 horas de repouso a temperatura ambiente foi usada como indicador da capacidade de retenção de água da formulação. Os resultados foram expressos como volume de soro (mL) liberado por 100 gramas do produto.

4.2.4.7 Viscosidade

Para a análise de viscosidade as amostras foram acondicionadas em béquer de 600 mL e analisadas no viscosímetro (Marca Viscometer Brookfield modelo DV Utilizando spindle 5 e velocidade de 20 rpm. (IRIGOYEN et al. 2005).

4.2.5 Avaliação Microbiológica

4.2.5.1 Contagem de bactérias ácido lácticas

Após testes preliminares, as bactérias ácido lácticas foram enumeradas em três diferentes meios.

- Para contagens de espécies de *Lactococcus* spp. foi utilizado ágar M17-lactose da Difco (meio seletivo) com incubação a 30 °C por 48 horas (GARCÍA FONTAN et al., 2006).
- Para contagens de espécies de *Leuconostoc* spp. foi utilizado ágar APT (Merck) com sacarose (100g/L) e 0,005% azida sódica com incubação a 22° C por 4 dias (MAYEUX; COLMER, 1961).
- Para contagem de espécies de bactérias ácido lácticas foi utilizado ágar MRS (Merck) com incubação a 30° C por 48 horas (GARROTE; ABRAHAM; ANTONI, 2001).

Todos os meios foram preparados conforme instruções dos fabricantes. Os meios foram esterilizados a 121 °C por 15 minutos. A semeadura foi realizada por profundidade e após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas em aerobiose. Os resultados das contagens de bactérias ácido lácticas foram calculados em UFC g⁻¹ e transformados em log UFC g⁻¹ para realização da estatística.

4.2.5.2 Contagem de bactérias ácido acéticas

As bactérias ácido acéticas foram enumeradas em meio seletivo preparado com 5 % de glicose, 1 % de extrato de leveduras e 2 % de ágar (IRIGOYEN et al. 2005). Após esterilização a 121°C por 15 minutos, foram adicionados 100 mg/L de cicloheximida para inibir crescimento de leveduras e 100 mg/L de cloranfenicol para inibir crescimento de bactérias ácido lácticas. A inoculação foi realizada por profundidade, e as placas de Petri foram incubadas em

aerobiose a 25 °C por 4 dias. Os resultados das contagens de bactérias ácido acéticas foram expressas em UFC g⁻¹ e transformados em log UFC g⁻¹ para realização da estatística.

4.2.5.3 Contagem de leveduras

A contagem de leveduras foi realizada em ágar YEC (yeast extract glucose chloramphenicol agar). O ágar YEC foi preparado conforme instruções do fabricante. Após esterilizado a 121 °C por 15 minutos, foi acrescentado aproximadamente 1mL de solução de ácido tartárico 10 % (p/v), previamente esterilizada por filtração em membrana filtrante Millipore 0,45 um com o objetivo de acidificar o meio até pH 3,5. A inoculação foi realizada em profundidade. Após inoculação em profundidade as placas Petri foram incubadas em aerobiose a 25 °C por 5 dias (GARCIA FONTAN et al., 2006). Os resultados das contagens de leveduras também foram expressos em UFC g⁻¹ e transformados em log UFC g⁻¹ para realização da análise estatística. Todas as contagens foram realizadas em duplicata com três repetições.

4.2.5.4 Coliformes totais e coliformes a 45 °C

As formulações de Kefir foram submetidas a análises microbiológicas preconizadas pela resolução n° 5 de 13 de novembro de 2000 (BRASIL, 2000) utilizando as técnicas descritas pelo Ministério da Agricultura através da Instrução Normativa n° 62 de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003) e os resultados foram expressos em UFC g⁻¹. Na presença de formação de gás nos tubos de caldo verde brilhante era realizada a análise de coliformes a 45°C.

As análises de coliformes totais e coliformes a 45 °C foram realizadas no 1° e no 28° dia de armazenamento conforme a RDC 12 da ANVISA (2001).

4.2.6 Avaliação Sensorial

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos da UEL, parecer nº 0177.0.268.000-08 (Anexo C). Os testes sensoriais foram realizados após as análises de coliformes totais e a 45°C confirmando que o Kefir é seguro para o consumo.

Para análise sensorial todas as formulações foram adicionadas de 8 % (m/m) de sacarose, homogenizadas e mantidas refrigeradas em jarras até serem servidas.

4.2.6.1 Condições do teste

Os testes sensoriais foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial do departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina (UEL), cujas instalações incluem cabines individuais, controle de iluminação e temperatura ambiente. Para avaliação, 30mL de cada amostra a 4 °C foram servidos em copos de plástico descartáveis, codificados com números aleatórios de três dígitos. Foi solicitado aos provadores que enxaguassem a boca com porções de água à temperatura ambiente, antes e entre uma formulação e outra.

As formulações foram apresentadas sequencialmente aos provadores na Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) e no Teste Afetivo, conforme delineamento de apresentação das formulações aos provadores.

4.2.6.2 Análise descritiva quantitativa (ADQ)

4.2.6.2.1 *Pré-seleção dos candidatos*

Para compor a equipe de provadores para a análise descritiva quantitativa, foram recrutados 27 candidatos entre os alunos, professores e funcionários da UEL. Os candidatos foram pré-selecionados com base no poder discriminativo de gostos e odores básicos.

No recrutamento foi solicitado o preenchimento de um questionário e do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo D) para a obtenção de informações sobre os candidatos quanto ao interesse, disponibilidade de tempo para a realização dos testes, saúde, afinidade com o produto a ser avaliado e facilidade de expressão.

A maioria dos candidatos (65 %) relatou gostar do Kefir enquanto o restante (35 %) não gostava e nem desgostava, 85 % dos candidatos gostavam de iogurte e consumiam regularmente.

Todos os provadores tinham alguma experiência prévia com análise sensorial, sendo que 89,8 % já haviam participado de teste de aceitação; 50 % de teste discriminativo e 25,9 % de análises descritivas.

A capacidade dos voluntários em reconhecer os gostos básicos foi medida por meio do teste onde cada indivíduo avaliou o gosto de uma série de soluções aquosas contendo sacarose (1 %), ácido cítrico (0,02 %), cloreto de sódio (0,2 %) e cafeína (0,04 %). Indivíduos que não conseguiram identificar as quatro soluções referentes a cada gosto básico foram eliminados da equipe sensorial. A ficha utilizada encontra-se na Figura 7.

Ficha para prova de reconhecimento de gostos básicos	
Nome:	Data:
<p>Prove da esquerda para a direita, cada uma das soluções. As soluções podem ter um gosto doce, ácido, salgado ou amargo. Entre as soluções com gosto básico pode haver uma ou mais amostras que tem apenas água e ainda ter repetições dos gostos básicos. Indique o gosto da solução de cada um dos copinhos codificados. Enxaguar a boca com água antes de provar e também entre uma amostra e outra.</p>	
Código	Gosto
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

Figura 7 – Ficha para teste de reconhecimento de gostos básicos

A capacidade de reconhecimento de odores foi avaliada em teste sensorial onde foi solicitado a cada voluntário que descrevesse a qualidade do odor de uma série de 15 substâncias aromáticas diferentes encontradas no cotidiano. As amostras foram colocadas sobre algodão, contido no fundo de frascos de erlenmeyer, recoberto com papel alumínio, codificados e tampados com papel alumínio perfurado. A porcentagem de acerto para cada aroma específico foi calculada por meio de contagem de pontos (3 pontos: termo correto; 2 pontos: termo descritivo ou associativo; 1 ponto: termo errado; 0: sem resposta). Indivíduos que não atingiram o mínimo de 60 % de acerto foram excluídos da equipe sensorial a ser formada (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1998). A ficha utilizada se encontra na Figura 8.

textura. Apenas um par de amostras foi analisado por sessão. A ficha utilizada se encontra na Figura 9.

Ficha para levantamento de terminologia descritiva (Método de Rede)	
Nome:	Data:
Por favor, prove as duas amostras quanto à aparência, aroma, sabor e textura e indique em que elas são semelhantes e em que são diferentes.	
Amostras _____ e _____	
Aparência:	
Aroma:	
Sabor:	
Textura:	

Figura 9 – Ficha para o levantamento de terminologia descritiva

Após o término das sessões individuais, discussões em grupo foram conduzidas sob a supervisão de um líder, com o objetivo de identificar os termos ou atributos (descritores) mais citados, e agrupar os semelhantes. Os termos levantados em consenso, para aparência foram: cor, brilho e textura granulosa; para aroma: aroma ácido, aroma doce; para sabor: gosto ácido e gosto doce; e para textura: consistência firme, cremosidade, homogeneidade e viscosidade.

As definições para cada termo descritor e as amostras de referências para os pontos extremos da escala, para cada atributo, foram consensualmente estabelecidas pelos provadores (Tabela 1) em sessões de treinamento.

Tabela 1 – Definições e referências para os termos descritores gerados pela equipe sensorial descritiva.

Termo Descritor (atributos)	Definição	Referência
APARÊNCIA		
Cor	Intensidade da coloração branca com tendência ao amarelo	FRACA: iogurte natural Nestlé desnatado INTENSA: Leite fermentado Activia (diluído com 100mL de leite)
Brilho	Reflexo da luz, contrário de opaco	POUCO: petit suisse batavito sabor morango MUITO: petit suisse danoninho Nestlé sabor morango
Textura granulosa	Presença de grumos ou partículas que são percebidos visualmente com o auxílio da colher	POUCO: iogurte natural integral Nestlé MUITO: coalhada consistência firme Vigor
AROMA		
Ácido	Aroma ácido característico da presença de ácidos	FRACO: 1 pote de 200g de iogurte natural Nestlé integral com pH inicial de 4,0, adicionado de 200mL de leite UHT, pH final 5,0 INTENSO: 1 pote de 200g de iogurte natural Nestlé integral mantido a 42C por 4 horas, pH final 4,0
Doce	Aroma característico da presença de açúcares	FRACO: iogurte natural Nestlé integral com 2,5% de sacarose INTENSO: iogurte natural Nestlé integral com 10% de sacarose

SABOR

Gosto ácido	Refere-se a sensação ácida percebida no instante que a amostra entra em contato na boca.	FRACO: 1 pote de 200g de iogurte natural Nestlé integral com pH inicial de 4,0, adicionado de 200mL de leite UHT, pH final 5,0 INTENSO: 1 pote de 200g de iogurte natural Nestlé integral mantido a 42C por 4 horas, pH final 4,0
Gosto doce	Sensação doce associada a presença de açúcares	FRACO: iogurte natural Nestlé integral adicionado de 2,5% de sacarose INTENSO: iogurte natural Nestlé integral adicionado de 10% de sacarose

TEXTURA

Consistência	Resistência da amostra ao corte com a colher	BAIXA: iogurte natural Activia ALTA: iogurte natural consistência firme Vigor
Viscosidade	Força requerida para puxar a bebida da colher para a língua.	BAIXA: Bebida láctea Líder ALTA: petit suisse Chambinho com polpa morango
Creiosidade	Sensação de recobrimento na boca	POUCO: 100g de bebida Láctea Líder MUITO: 100g de bebida láctea+ 50 g de creme de leite
Homogeneidade	Ausência de grumos ou partículas que são percebidos na boca	POUCA: 100g bebida láctea Danone + 3g farinha de rosca MUITA: 100g de bebida láctea Danone

Sessões suplementares de treinamento da equipe, utilizando as amostras de referências sugeridas e de discussões em grupo, foram realizadas a fim de alcançar um consenso na quantificação dos atributos e para definir a ficha de avaliação das amostras. A ficha descritiva consensualmente desenvolvida encontra-se na Figura 10, cujas escalas foram não estruturadas de 9 cm, com termos de

4.2.6.2.3 Seleção final de provadores para compor a equipe

Os provadores avaliaram quatro formulações de Kefir (1, 8, 4 e 5) em três repetições (sessões), para a seleção final dos componentes da equipe final da análise, utilizando a ficha elaborada e delineamento experimental de blocos completos casualizados.

Foi executada análise de variância para os resultados de cada provador, para cada atributo, tendo como fontes de variação: formulações e repetições. Foram computados para cada provador os níveis de significância (p) dos valores de $F_{\text{formulações}}$ e $F_{\text{repetição}}$. Os provadores que apresentaram poder discriminativo (p de $F_{\text{formulações}} \leq 0,5$); reprodutibilidade nos julgamentos (p de $F_{\text{repetições}} \geq 0,05$) e concordavam com os demais membros do grupo foram selecionados para compor a equipe definitiva treinada, segundo a metodologia proposta por Damásio e Costell (1991). A concordância dos provadores com a equipe foi verificada por meio da comparação de médias individuais com a média da equipe sensorial para cada atributo.

Dos 25 provadores foram selecionados 18 para compor a equipe final, sendo 12 mulheres e 6 homens; sendo 1 funcionário, 6 alunos da graduação e 11 alunos da pós-graduação. A maioria dos provadores era jovem sendo que 55,5 % estava na faixa de 15 a 25 anos, 33,3 % tinha entre 25 a 35 anos e 11,1 % tinha entre 35 e 50 anos. 76 % dos provadores conheciam e já haviam provado a bebida Kefir e 95 % dos provadores gostavam de iogurtes e consumiam com frequência.

Todos os provadores tinham alguma experiência prévia com análise sensorial, sendo que 88,8 % já haviam participado de teste de aceitação; 44,4 % de testes discriminativos e 22,2 % de análises descritivas.

4.2.6.2.4 Avaliação das amostras

Os atributos sensoriais das oito formulações foram avaliados pelos provadores selecionados e treinados em sessões de avaliação conforme

delineamento experimental, descrito no item 4.3, cuja apresentação de amostras foi sequencial (monádica).

4.2.6.3 Teste afetivo

A aceitabilidade das amostras foi avaliada por 50 consumidores potenciais do produto. A ficha de recrutamento assim como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido se encontra no Anexo E. O teste foi realizado em duas sessões com avaliação de 4 formulações por sessão conforme delineamento item 4.3. Cada provador recebeu sequencialmente um copo tipo de café de cada formulação, codificado com três dígitos aleatórios. Para avaliar a aceitabilidade das formulações, os provadores utilizaram escala hedônica estruturada de 9 pontos (9= gostei muitíssimo; 5= nem gostei nem desgostei; 1= desgostei muitíssimo) (STONE; SIDEL, 2004). A ficha utilizada se encontra na Figura 11.

Teste de aceitação	
Nome: _____	Data: _____
Avalie a amostra de Kefir, usando a escala abaixo para descrever o quanto gostou ou desgostou do produto.	
Amostra: _____	
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	
Comentários: _____	

Figura 11 – Ficha para Teste Afetivo

4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O trabalho constou de quatro partes:

1ª) Caracterização química e microbiológica dos grãos e da cultura "starter" de Kefir

O delineamento deste experimento foi Inteiramente Casualizado com três repetições. Os dados foram submetidos a Análise de Variância e teste de comparação de médias de Tukey, com nível de significância de 5%.

2ª) Caracterização química, física e microbiológica das bebidas não adoçadas de Kefir

O experimento foi conduzido de acordo com Delineamento Inteiramente Casualizado com três repetições. O número de determinações em cada análise foi:

- pH, acidez, firmeza, viscosidade: três
- cor e sinérese: duas

As análises neste experimento foram realizadas dentro de três dias após o término da fermentação das bebidas. As bebidas foram mantidas a 4° C até a realização das análises.

Os dados foram submetidos a Análise de Variância e teste de comparação de média Tukey, com nível de significância de 5 %.

3ª) Caracterização física e sensorial das bebidas adoçadas de Kefir

Os testes físicos foram realizados nas bebidas com um dia de armazenamento a 4° C. O delineamento foi Inteiramente Casualizado, com três repetições e três determinações de cada análise. O esquema de tratamento foi Parcela Subdividida, sendo o tratamento principal as formulações e o secundário a presença de sacarose. Os dados foram tratados por Análise de Variância e teste de comparação de médias de Tukey, com nível de significância de 5 %.

Para Análise Descritiva Quantitativa, a apresentação das formulações para os provadores seguiu o Delineamento de Blocos Incompletos

Balanceados: $t = 8$ (número de tratamento ou formulações); $k = 3$ (número de tratamento por bloco); $r = 3$ (número de repetições); $b = 8$ (número de blocos ou sessões); $A = 1$ (número de vezes que dois tratamentos aparecem juntos num mesmo bloco). Os dados foram submetidos à Análise de Variância de dois fatores (formulações e provadores) e interação formulação X provador, teste F_{ajustado} , e teste de comparação de médias de Tukey com nível de significância de 5 %. Os dados de cada repetição da Análise Descritiva também foram avaliados pela Análise de Componentes Principais (ACP).

Para as análises de correlação entre os atributos sensoriais, e as correlações entre as medidas físicas, químicas e sensoriais utilizou-se a técnica de correlação de Pearson e teste "t" para avaliar a significância a 5 %.

O experimento de avaliação da aceitação das bebidas foi Blocos Completos Casualizados (dividido em duas sessões, com 4 formulações cada), sendo tratamento a formulação e blocos os provadores. Os dados foram tratados por Análise de Variância e teste de comparação de média de Tukey com nível de significância de 5 %.

4^a) Comportamento químico, físico e microbiológico das bebidas não adoçadas durante o armazenamento a 4° C

O delineamento foi Inteiramente Casualizado repetido três vezes com três determinações em cada análise. O esquema de tratamento foi Parcela Subdividida sendo o tratamento principal as formulações e secundário o tempo de armazenamento. Os dados foram tratados por Análise de Variância e teste de médias de Tukey com nível de significância de 5 %.

Os programas estatísticos utilizados na dissertação foram: Excel 6.0, SAS 9.0 (SAS, 1998), e Statistica 6.0. (STASTISTICA, 2004).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DOS GRÃOS E DA CULTURA "STARTER" DE KEFIR

A composição química dos grãos de Kefir utilizados neste trabalho está na Tabela 2.

Tabela 2 – Composição química dos grãos de Kefir (base úmida)*

	Umidade	Proteína	Lipídios	Cinzas	Carboidratos
Grãos de Kefir	84,63±0,504	4,68±0,137	1,03 ±0,058	1,27±0,015	8,37±0,495

*Resultados expressos em g/100g de produto. Média de três determinações ± desvio padrão.

A composição química e microbiológica dos grãos de Kefir varia conforme a origem, tipo e origem do leite utilizado, forma de inoculação, processo de fermentação e manutenção dos grãos, assim na literatura encontram-se diferentes dados de composição química e microbiológica.

Os resultados encontrados neste trabalho estão coerentes com os relatados na literatura. Segundo Farnworth e Mainville (2008), os grãos possuem de 89 a 90 % de umidade, 0,2 % de lipídios, 3,0 % de proteína, 6,0 % de açúcares e 7 % de cinzas. Para Luit Kevicius e Sarkinas (2004) os valores são de 86,3 % de umidade, 4,5 % de proteína, 1,2 % de cinzas e 0,03 % de lipídios. Abraham e Antoni (1999) encontraram composição química média de 81,2 % de umidade, 6,4 % de proteína, 11,9 % de polissacarídeos para grãos provenientes de três regiões distintas da Argentina.

Na Tabela 3 estão as contagens realizadas em meios seletivos para bactérias ácido lácticas, bactérias ácido acéticas e leveduras nos grãos e na cultura "starter" de Kefir.

Tabela 3 – Contagem de bactérias ácido lácticas, ácido acéticas e leveduras nos grãos e na cultura “starter” de Kefir*

Composição microbiológica	MRS	M17	APT	BAC	YEC
Grãos de Kefir	12,23±0,017 ^a	12,16±0,026 ^a	12,16±0,026 ^a	10,69±0,029 ^a	9,26±0,020 ^a
Cultura “Starter”	9,56±0,041 ^b	9,80±0,012 ^b	9,80±0,012 ^b	-	8,11±0,567 ^b

*Resultados expressos em log UFC g⁻¹. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a p ≤ 0,05.

Agar MRS = seletivo para bactérias ácido lácticas, agar M17 = seletivo para Lactococos, agar APT adicionado de sacarose e azida sódica = seletivo para leuconostoc, agar BAC = seletivo para bactérias ácido acéticas e agar YEC = seletivo para leveduras.

Os grãos de Kefir mostraram contagens de bactérias e leveduras maiores que a cultura “starter”, provavelmente a condição do meio de cultivo dos grãos possibilitou o desenvolvimento dos microrganismos, enquanto que a cultura “starter” era composta por microrganismos selecionados.

De acordo com Abraham e Antoni (1999) aproximadamente 0,9 % do peso, em base úmida, dos grãos de Kefir são representados por sua microbiota, cujas contagens de bactérias ácido lácticas variam de $6,4 \times 10^4$ a $8,5 \times 10^8$ log UFC g⁻¹ e de leveduras $1,5 \times 10^5$ a $3,7 \times 10^8$ log UFC g⁻¹. Segundo Sarkar (2008), a microbiota dos grãos de Kefir é constituída de 10^8 a 10^9 UFC mL⁻¹ de bactérias ácido lácticas, 10^5 a 10^6 UFC mL⁻¹ de bactérias ácido acéticas e 10^5 a 10^6 UFC mL⁻¹ de leveduras. Guzel-Seydim et al. (2005) observaram em grãos de Kefir contagem de lactobacilos e de lactococos de 9,05 e 8,87 log UFC mL⁻¹ respectivamente, e leveduras de 6,55 log UFC mL⁻¹. As contagens encontradas no presente trabalho foram superiores às relatadas na literatura, provavelmente, porque os grãos liofilizados foram ativados e mantidos nas mesmas condições utilizadas para elaboração das bebidas.

Garrote et al. (2001) isolaram e identificaram, em grãos de Kefir provenientes de quatro regiões da Argentina, as espécies predominantes de bactérias ácido lácticas (*Lb. plantarum*, *Lb. kefir*, *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Ln. mesenteroides*, *Lb. Parakefir*, *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*); leveduras (*Saccharomyces*, *K. marxianus*); e a bactéria ácido acética *Acetobacter*.

As bactérias e as leveduras encontradas na bebida Kefir não são necessariamente as mesmas dos grãos, devido às condições de pH, tempo de fermentação, localização dos microrganismos nos grãos, além de outros fatores que

interferem no processo de fermentação. Geralmente o número de leveduras na bebida é menor que o conteúdo encontrado nos grãos, e o número de lactococos é maior no produto final, e essas diferenças de contagens contribuem para as características sensoriais, físicas e químicas da bebida Kefir (SARKAR, 2008).

Apesar dos grãos de Kefir terem apresentado maior número de microrganismos que a cultura "starter", não significa que a bebida fermentada com grãos de Kefir também terá maior contagem, porque as bactérias e leveduras presentes nos grãos necessitam de adaptação ao meio (leite) e depende do processo e tempo de fermentação (SARKAR, 2008).

5.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, FÍSICA E MICROBIOLÓGICA DAS BEBIDAS DE KEFIR

5.2.1 Caracterização Química

Para a elaboração das bebidas foi utilizado leite integral ou desnatado e para que todas formulações apresentassem teor de sólidos semelhantes, acrescentou-se leite em pó desnatado em cada uma delas. Na Tabela 4 estão os teores de umidade, proteína, lipídios, cinzas e carboidratos das formulações de Kefir.

Tabela 4 – Composição química das bebidas Kefir (base úmida)*

Formula- ções**	Umidade	Proteína	Lipídios	Cinzas	Carboidratos
1	82,56 ± 0,249 ^b	5,30 ± 0,085 ^a	3,33 ± 0,105 ^a	1,06 ± 0,028 ^{abc}	7,74 ± 0,282 ^{abc}
2	82,78 ± 0,271 ^b	4,40 ± 0,063 ^b	3,25 ± 0,112 ^a	0,93 ± 0,041 ^{cd}	8,62 ± 0,306 ^a
3	83,85 ± 0,244 ^b	5,31 ± 0,061 ^a	3,33 ± 0,105 ^a	1,10 ± 0,02 ^{ab}	6,39 ± 0,149 ^c
4	83,17 ± 0,403 ^b	4,47 ± 0,07 ^b	3,33 ± 0,105 ^a	0,85 ± 0,036 ^d	8,16 ± 0,441 ^{ab}
5	86,69 ± 0,168 ^a	5,30 ± 0,083 ^a	0,48 ± 0,017 ^b	1,12 ± 0,041 ^a	6,4 ± 0,146 ^c
6	86,75 ± 0,355 ^a	4,54 ± 0,083 ^b	0,48 ± 0,017 ^b	0,94 ± 0,013 ^{bcd}	7,27 ± 0,28 ^{abc}
7	86,15 ± 0,371 ^a	5,40 ± 0,098 ^a	0,48 ± 0,017 ^b	1,11 ± 0,034 ^a	6,83 ± 0,388 ^{bc}
8	86,93 ± 0,265 ^a	4,51 ± 0,076 ^b	0,48 ± 0,017 ^b	1,08 ± 0,054 ^{abc}	6,98 ± 0,325 ^{bc}

* Resultados expressos em g/100g de produto. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$.

** Formulações 1 (Kefir integral fermentado com grãos de Kefir), 2 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 3 (Kefir integral fermentado com cultura "starter" de Kefir), 4 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir), 5 (Kefir desnatado fermentado com grãos de Kefir), 6 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 7 (Kefir desnatado fermentado com cultura "starter" de Kefir), 8 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

Os teores de umidade encontraram-se na faixa de 82,56 a 86,93 g/100g, havendo diferença ($p \leq 0,05$) entre as formulações integrais e desnatadas, sendo que as integrais tiveram menor teor (valor médio de 83,1 g/100g) que as desnatadas (valor médio 86,6 g/100g). Os valores encontrados para a bebida integral assemelham-se aos citados por Otles e Cagini (2003) e Tomelin, Peil e Peplau (2006) de 87,5 % e 86,22 % respectivamente, porém Sarkar (2007) relatou valores superiores (89 a 90 %). Não foram encontrados, na literatura, valores de umidade para bebida desnatada.

Os teores de proteína variaram de 5,40 a 4,40 g/100g, sendo mais elevados que muitos relatos da literatura (3,30 %), já Tomelin, Peil e Peplau (2006) encontraram valores de 8 % de proteínas para o Kefir. Houve diferença ($p \leq 0,05$) entre as formulações com inulina e sem inulina. Provavelmente o maior teor de proteínas nas formulações sem inulina seja devido a maior quantidade de leite em pó desnatado utilizada nessas formulações, além do efeito da diluição nas formulações com inulina. Guven et al. (2005), também observaram maiores teores de proteínas com o aumento da quantidade de leite em pó desnatado utilizada nas formulações de iogurtes.

Houve diferença, quanto ao teor de lipídios, entre as formulações integrais (valor médio de 3,3 g/100g) e as desnatadas (valor médio de 0,48 g/100g). Esses valores estão de acordo com Farnworth e Mainville (2008) para Kefir integral (3,2 %) e desnatado (0,5 %).

As formulações com menor porcentagem de leite em pó desnatado, isto é com inulina (exceto a 8), apresentaram menor teor de cinzas, havendo diferença entre elas ($p \leq 0,05$). Efeito semelhante foi observado por Guven et al. (2005), que encontraram teores de cinzas entre 0,88 a 1,13 % em iogurtes, sendo a diferença relacionada à quantidade de leite em pó desnatado utilizada nas formulações. Tomelin (2006) relata valores inferiores (0,61 %) para o Kefir sem adição de leite em pó desnatado.

Houve variação no conteúdo de carboidrato ($p \leq 0,05$). Para as formulações integrais a faixa foi de 8,62 a 6,39 g/100g e para as desnatadas de 7,27 a 6,40 g/100g. Estes valores também estão relacionados com a presença ou não de inulina, sendo que as formulações com inulina apresentam maior teor (8,62 a 7,00 g/100g). Tomelin, Peil e Peplau (2006) relatam valores inferiores (0,47 %) para Kefir integral, que foram fermentados durante 20, 22 ou 24 horas, com inoculação de 1:3 (grãos de Kefir para leite).

Na Tabela 5 estão os resultados referentes ao teor de inulina (com um dia de armazenamento a 4 °C) nas formulações nas quais foram adicionadas (2, 4, 6 e 8). Essas formulações receberam 2 % de inulina na fase de preparo do Kefir. Após o processo de fermentação o teor de inulina se manteve indicando que a inulina não foi hidrolisada durante o processo de fermentação, e não houve diferença entre as amostras formuladas com grãos de Kefir e cultura "starter", mostrando que os microrganismos presentes nas culturas se comportaram de maneira semelhante.

Tabela 5 – Conteúdo médio de inulina das bebidas Kefir *

Formulações**	Inulina
2	2,00 ± 0,003 ^a
4	2,00 ± 0,001 ^a
6	2,00 ± 0,045 ^a
8	2,00 ± 0,005 ^a

* Resultados expressos em g/100g de produto. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$.

**Formulações 2 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 4 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir), 6 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 8 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

A alegação de propriedade funcional da inulina, para contribuir ao equilíbrio da flora intestinal, pode ser utilizada desde que a porção diária do produto pronto para o consumo forneça no mínimo 1,5 gramas se o alimento for líquido e o consumo esteja associado a uma dieta equilibrada e hábitos de vida saudáveis. Teores de 2 % de inulina estavam presentes nas formulações (2, 4, 6 e 8) indicando que a bebida pode ser considerada potencialmente prebiótica, considerando uma porção diária do produto para o consumo de 100 gramas (BRASIL, 2007).

Os valores médios do pH, acidez e lactose das formulações de Kefir estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Conteúdo médio do pH, acidez e lactose das bebidas Kefir*

Formulações**	pH no final da fermentação	1 dia de armazenamento a 4 °C		
		pH	Acidez ¹	Lactose ²
1	4,83 ± 0,017 ^{aA}	4,60 ± 0,035 ^{aB}	0,94 ± 0,04 ^a	3,05 ± 0,102 ^{abc}
2	4,78 ± 0,014 ^{aA}	4,53 ± 0,025 ^{abB}	0,88 ± 0,028 ^a	3,02 ± 0,021 ^{abc}
3	4,59 ± 0,026 ^{bA}	4,47 ± 0,042 ^{abcB}	0,95 ± 0,046 ^a	3,38 ± 0,091 ^a
4	4,57 ± 0,016 ^{bA}	4,41 ± 0,024 ^{cB}	0,86 ± 0,051 ^a	3,15 ± 0,021 ^a
5	4,83 ± 0,012 ^{aA}	4,53 ± 0,041 ^{abB}	0,99 ± 0,049 ^a	2,93 ± 0,057 ^c
6	4,76 ± 0,015 ^{aA}	4,52 ± 0,021 ^{abB}	0,92 ± 0,038 ^a	2,86 ± 0,073 ^c
7	4,57 ± 0,037 ^{bA}	4,45 ± 0,041 ^{abB}	1,02 ± 0,056 ^a	3,02 ± 0,083 ^{abc}
8	4,52 ± 0,026 ^{bA}	4,36 ± 0,033 ^{cB}	0,92 ± 0,055 ^a	2,81 ± 0,101 ^c

* Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$. Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$. ¹Resultados expressos em % de ácido láctico, ²Resultados expressos em g/100g de produto.

** Formulações 1 (Kefir integral fermentado com grãos de Kefir), 2 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 3 (Kefir integral fermentado com cultura "starter" de Kefir), 4 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir), 5 (Kefir desnatado fermentado com grãos de Kefir), 6 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 7 (Kefir desnatado fermentado com cultura "starter" de Kefir), 8 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

Considerou-se como ponto final da fermentação a 25°C o tempo de 24 horas. Neste ponto, o pH das formulações encontrava-se entre 4,83 a 4,52, sendo que as formulações com cultura "starter" (3, 4, 7 e 8) apresentaram menores valores, e não houve influência da inulina ($p > 0,05$). Após 24 horas do preparo (1 dia em refrigeração a 4 °C) houve diminuição dos valores para 4,60 a 4,36. Como o processo de resfriamento é lento, a fermentação da lactose continuou até as formulações atingirem completamente a temperatura de refrigeração. Garcia Fontán et al. (2006) relataram que a hidrólise da lactose é acentuada nas primeiras 24 horas de fermentação, e que no período de armazenagem a hidrólise continua, porém em menor intensidade.

Para Farnworth e Mainville (2008), o pH final da fermentação do Kefir depende da quantidade de inóculo usado, sendo que para inoculação de 1:10 (grãos: leite) foram observados valores entre 3,6 a 3,8, enquanto que, pH de 4,4 a 4,6 foram encontrados com inoculação de 1:30 e 1:50 (grãos: leite) respectivamente.

Garrote et al. (1998) também observaram que o pH durante a fermentação era menor quando a porcentagem de grãos de Kefir inoculada era maior.

Sarkar (2008) relata várias combinações de tempo e temperatura (20 °C / 20h; 20-23 °C / 20 h; 20 °C / 48 h; 20-23 °C / 12-14 h; 22-23 °C / 20 h) utilizadas por vários autores em processos de fermentação de Kefir; e que a escolha do tempo e da temperatura a ser usada depende das condições de processo e das características do produto desejadas. No presente trabalho, optou-se por utilizar processo de fermentação com inoculação de 1 % de grãos de Kefir ou de cultura "starter" com fermentação de 24 horas a 25 °C para produzir bebidas com características de sabor e odor mais suaves.

Os grãos utilizados neste projeto foram ativados em leite desnatado durante um mês. Os grãos foram colocados em leite para se adaptarem ao meio, o leite era trocado diariamente, até que os grãos estivessem fermentando de forma uniforme e produzindo a bebida Kefir. Após ativação, os grãos foram mantidos refrigerados entre os processos de fermentação. A cultura "starter" foi ativada em leite desnatado e mantida congelada. Witthuhn, Schomenan e Britz (2005), avaliando diferentes formas de manutenção e estocagem dos grãos de Kefir, concluíram que os grãos mantidos refrigerados produzem bebidas com pH de 4,57 a 4,32 em fermentação de 10 horas, e que essa variação de pH deve-se à mudança de composição microbiológica sofrida pelos grãos para se manterem ativos. Enquanto que, bebidas provenientes de grãos de Kefir liofilizados ou congelados o pH foi de 4,92 a 4,40. Para os autores, neste caso, os grãos necessitam de adaptação para iniciar o processo de fermentação e produzem bebidas menos ácidas. No presente estudo, os grãos e a cultura foram adaptados em leite antes da inoculação e resultaram em bebidas com pH entre 4,8 a 4,5.

Com um dia de armazenamento, as formulações com grãos de Kefir (1, 2, 5 e 6) também apresentaram valores maiores de pH do que as obtidas com cultura "starter" (3, 4, 7 e 8). As formulações com inulina diferiram das sem inulina e não houve diferenças entre as formulações integrais e desnatadas.

Ertekin e Guzel-Seydim (2010) obtiveram valores de pH entre 4,29 a 4,32 nas amostras de Kefir integrais e desnatadas fermentadas com 2 % de grãos de Kefir.

Apesar das diferenças de pH encontradas entre as formulações, não foram observadas variações na acidez titulável (valor médio de 0,93% em ácido

lático). Yazici e Akgun (2004) observaram que os iogurtes desnatados possuíam maior acidez que os iogurtes integrais. Segundo os autores esses resultados podem estar relacionados aos menores valores de teor de sólidos totais das formulações desnatadas.

Dello Staffolo et al. (2004) e Guven et al. (2005) afirmam que a presença de inulina nos iogurtes não influencia o valor de acidez. Robinson (1995) avaliando o potencial da inulina como um ingrediente funcional relata que iogurtes com diferentes porcentagens de inulina possuíam conteúdo de ácido láctico semelhante aos iogurtes sem inulina. Já, Akalin, Fenderya e Akbulut (2004) observaram menor conteúdo de ácido láctico em iogurtes adicionados de inulina, e atribuíram o fato ao menor conteúdo de lactose nesses iogurtes e não à presença do carboidrato.

Segundo Modler et al. (1983), iogurtes com maiores porcentagens de proteína, principalmente proveniente da adição de leite em pó desnatado, são menos ácidos devido à capacidade tamponante das proteínas. No presente trabalho as formulações sem inulina (1, 3, 5 e 7) apresentaram maiores teores de proteína (tabela 4) e também maiores valores de pH.

Os teores médios de lactose variaram de 2,85 a 3,38 g/100g, as formulações 3 e 4 (integrais) apresentaram maiores valores e as formulações 5, 6, 7 e 8 (desnatadas) menores valores. As formulações não foram influenciadas pelos iniciadores da fermentação (grãos ou cultura) e pela presença ou não de inulina. Durante a fermentação, a lactose presente no leite é hidrolisada pelos microrganismos presentes nos grãos de Kefir ou na cultura "starter" com produção de ácido láctico.

Irigoyen et al. (2005) encontraram valores de lactose de 3,5 a 3,4 % em amostras de Kefir com inoculação de 1 e 5 % de grãos de Kefir respectivamente, fermentadas por 24 horas. Garcia Fontán et al. (2006) observaram valores de 4 % em amostras de Kefir produzidas com cultura "starter", também fermentadas por 24 horas.

Farnworth e Mainville (2008) afirmam que a porcentagem de grãos ou cultura "starter" inoculados influencia o conteúdo de lactose presente na bebida. Quanto menor a porcentagem de grãos inoculada maior o teor de lactose no produto. Tomelin, Peil e Pepleu (2006) relatam valores de lactose entre 1,4 a 2,6 %. O autor observou que quanto maior o tempo da fermentação, mais lactose era

hidrolisada. Chammas, Saliba e Béal (2006) observaram que quanto maior a porcentagem de ácido láctico menor era o teor de lactose nas amostras de iogurte laban coletados do território Lebanese.

5.2.2 Caracterização Física

Os valores médios dos parâmetros de cor (L^* , a^* e b^*) das bebidas Kefir se encontram na Tabela 7.

Tabela 7 – Parâmetros L^* , a^* e b^* de cor das bebidas de Kefir*

Formulações***	Parâmetro**		
	L^*	a^*	b^*
1	50,83 ± 0,23 ^a	-1,29 ± 0,05 ^{bc}	5,97 ± 0,20 ^a
2	50,12 ± 0,11 ^b	-1,19 ± 0,02 ^{ab}	5,82 ± 0,11 ^a
3	50,97 ± 0,04 ^a	-1,31 ± 0,01 ^c	5,92 ± 0,04 ^a
4	50,21 ± 0,03 ^b	-1,19 ± 0,01 ^{ab}	5,78 ± 0,02 ^a
5	49,06 ± 0,05 ^d	-1,55 ± 0,06 ^d	3,82 ± 0,13 ^b
6	48,16 ± 0,02 ^e	-1,67 ± 0,03 ^e	4,06 ± 0,09 ^b
7	49,56 ± 0,02 ^c	-1,59 ± 0,02 ^{de}	4,13 ± 0,04 ^b
8	48,61 ± 0,08 ^d	-1,10 ± 0,02 ^a	3,04 ± 0,08 ^c

* Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$.

** L^* variando de 0 (preto) a 100 (branco); a^* variando do vermelho (+ a^*) ao verde (- a^*) e b^* variando do amarelo (+ b^*) ao azul (- b^*).

*** Formulações 1 (Kefir integral fermentado com grãos de Kefir), 2 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 3 (Kefir integral fermentado com cultura "starter" de Kefir), 4 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir), 5 (Kefir desnatado fermentado com grãos de Kefir), 6 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 7 (Kefir desnatado fermentado com cultura "starter" de Kefir), 8 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

Embora todas as formulações fossem brancas a avaliação de cor foi realizada para observar se os grãos de Kefir ou cultura "starter", o teor de gordura e/ou a adição de inulina teriam influência sobre este parâmetro.

Segundo Arayana (2003), um fator que influencia a cor do produto é a cor dos ingredientes utilizados em sua fabricação. O leite utilizado para preparo do Kefir foi UHT integral ou desnatado, leite em pó desnatado e inulina. Desta forma alguns desses componentes podem interferir na cor dos produtos, além do efeito das culturas utilizadas para a fermentação.

Todas as formulações apresentaram valores de a^* negativos, porém menores que 2 indicando que a cor vermelha não está presente no produto, e que o verde tem pouca participação. Os valores de b^* foram positivos e entre 5,97 e 3,04 indicando cor amarelada nos produtos.

As formulações apresentaram diferenças ($p \leq 0,05$) para os três parâmetros (L^* , a^* , b^*). As formulações integrais (1, 2, 3 e 4) apresentaram maior luminosidade (L^*) (50,83 a 50,21), menores valores de a^* (-1,31 a -1,19) e maiores valores b^* (5,97 a 5,78) sendo mais claras e amareladas em relação às formulações desnatadas (5, 6, 7 e 8), com menor luminosidade (49,61 a 48,16), maiores valores de a^* (-1,67 a -1,10) e menores valores de b^* (4,13 a 3,04), que aparentemente eram mais brancas, mostrando que o teor de gordura do leite foi um fator de influência para as características de cor da bebida Kefir.

Yazici e Akgun (2004), avaliando os efeitos de alguns substitutos de gordura protéicos, relatam que iogurtes desnatados eram mais brancos que os iogurtes integrais. Essas amostras também apresentaram valores negativos para a^* , como no presente estudo. As amostras com maior teor de gordura tiveram maior tendência ao verde na escala do CIE, e a média de valores do b^* foi menor para formulações desnatadas, indicando que o aumento do conteúdo de gordura resulta em aumento da tendência ao amarelo.

A inulina também influenciou a cor do Kefir. As formulações com inulina apresentaram menor luminosidade (L^*) e menor valor de a^* , sendo mais escuras e amareladas que as bebidas sem inulina. Aportela-Palacios et al. (2005) relatam que a presença de fibras em iogurtes afeta os parâmetros de cor. Os autores obtiveram valores de L^* na faixa de 75,0 a 87,2, valores de a^* na faixa de -3,12 a 1,31 e de b^* na faixa de 9,27 a 1,14, variando de acordo com o tipo e a quantidade de fibras adicionada nos iogurtes. Já Dello Stafollo et al. (2004) não observaram efeito da inulina nos parâmetros de cor dos iogurtes.

Os iniciadores da fermentação, grãos de Kefir ou cultura "starter", não influenciaram as características de cor das bebidas.

Os valores médios de firmeza, sinérese e viscosidade das bebidas estão na Tabela 8.

Tabela 8 – Firmeza, sinérese e viscosidade das bebidas Kefir*

Formulações**	Firmeza (N)	Sinerese (mL/100g)	Viscosidade (cP)
1	0,48 ± 0,005 ^c	26,52 ± 0,417 ^c	3854,75 ± 15,08 ^b
2	0,42 ± 0,001 ^{cd}	26,87 ± 0,260 ^c	4050,00 ± 50,0 ^b
3	1,82 ± 0,027 ^a	23,92 ± 0,417 ^d	5300,00 ± 0,05 ^a
4	1,79 ± 0,020 ^a	26,45 ± 0,385 ^c	3342,50 ± 2,50 ^{bc}
5	0,33 ± 0,032 ^d	32,25 ± 0,281 ^{ab}	2595,00 ± 5,00 ^d
6	0,37 ± 0,017 ^{cd}	31,57 ± 0,392 ^{ab}	2460,00 ± 0,02 ^d
7	1,46 ± 0,002 ^b	32,78 ± 0,239 ^a	3375,00 ± 9,57 ^{bc}
8	1,33 ± 0,052 ^b	30,67 ± 0,511 ^b	3085,00 ± 20,61 ^{cd}

*Médias na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$.

** Formulações 1 (Kefir integral fermentado com grãos de Kefir), 2 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 3 (Kefir integral fermentado com cultura "starter" de Kefir), 4 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir), 5 (Kefir desnatado fermentado com grãos de Kefir), 6 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 7 (Kefir desnatado fermentado com cultura "starter" de Kefir), 8 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

A firmeza das formulações com cultura "starter" diferiu daquelas com grãos de Kefir. As integrais fermentadas com cultura "starter" (3 e 4) seguidas das desnatadas (7 e 8) apresentaram maiores valores de firmeza (1,82 a 1,33 N). A formulação 5 (desnatada formulada com grãos) foi a menos firme (0,33 N).

A adição de inulina resultou em produtos (2, 4, 6 e 8) menos firmes ($p \leq 0,05$). Para Passephol, Small e Sherkat (2008) as moléculas de inulina ficam dispersas dentro das micelas de caseína, interferindo na formação da matriz proteica formando géis mais macios. Para Kim, Faqi, Wang (2001) a menor firmeza dos produtos adicionados de inulina está relacionada à incapacidade da inulina formar gel após aquecimento (25 a 100°C por 5 minutos) e resfriamento (25°C), quando a concentração varia de 5 a 10 %. No presente trabalho, o leite contendo 2 % de inulina foi pasteurizado a 92°C por 2 a 3 minutos, provavelmente a baixa concentração de inulina e o aquecimento também dificultaram a formação de gel.

Buriti et al. (2008) esperavam variações nos parâmetros de textura instrumental em amostras de queijo com adição de inulina, particularmente na firmeza, no entanto, foi constatado que as amostras com inulina apresentaram firmeza semelhante aos de queijos sem inulina. Murphy (2001) menciona que já foi comprovado que a inulina é capaz de atuar como modificador de textura em produtos alimentícios, e ainda, a funcionalidade tecnológica da inulina está baseada no seu efeito em soluções aquosas com vários teores de sólidos. Em baixas concentrações (5 a 10 %), a inulina produz um significativo aumento da viscosidade e pode ser utilizada como modificador reológico, enquanto que em concentrações de 40-45 % há formação de gel. Esse gel é firme, mas confere ao produto a mesma sensação cremosa oferecida pelos lipídios. Tendo em vista que no presente trabalho foi utilizada baixa concentração de inulina (2 %), não foi observado aumento da firmeza pela adição do carboidrato, mas houve diferenças na viscosidade.

Fuchs et al. (2005) também observaram que a suplementação de iogurtes de soja com 4,4 % de inulina resultava na diminuição da firmeza dos produtos. El-Nagar et al. (2002) observaram que a adição de 5 % de inulina provocava diminuição da firmeza em sorvetes com baixo teor de gordura.

Paseephol, Small e Sherkat (2008) analisando amostras de iogurte com 16 % de sólidos totais, sendo 4% de inulina, relatam que a adição de inulina alterava as características reológicas e propriedades de textura. A presença da inulina nos iogurtes diminuía os valores de compressão e firmeza.

Brenann e Tudorica (2008) relatam que a incorporação de 2, 4 e 6 % de inulina em iogurtes aumentava a firmeza e a consistência dos iogurtes desnatados. Robinson (1995) afirma que a força do gel é proporcional a concentração de inulina adicionada nos iogurtes. Como a concentração de inulina adicionada neste trabalho foi baixa não foi possível verificar a força do gel formado pela inulina.

Segundo Guggisberg et al. (2009), a firmeza de iogurtes está diretamente relacionada ao aumento do teor de sólidos, além de outros fatores como tratamento térmico do leite e cultura "starter" utilizada, que contribuem para as características de textura. Para Paseephol, Small e Sherkat (2008) a firmeza dos iogurtes está diretamente relacionada ao teor de sólidos, ao conteúdo de proteína e ao tipo de proteína. O maior conteúdo de proteína aumenta o número de ligações cruzadas no gel, resultando em maior densidade e rigidez do gel. No presente

trabalho as formulações com maiores valores de proteínas também eram mais firmes.

A presença de inulina e os iniciadores da fermentação (grãos ou cultura) não influenciaram a sinérese. As formulações desnatadas apresentaram maior sinérese (valor médio 31,81 mL/100g) que as integrais (valor médio 25,95 mL/100g) ($p \leq 0,05$). Provavelmente devido ao teor de gordura.

Guggisberg et al. (2009) também observaram que iogurtes desnatados apresentavam maiores valores de sinérese. Brennan e Tudorica (2008) relatam que iogurtes integrais retêm maior porcentagem de soro na sua estrutura, sendo característica desses produtos a pouca sinérese. Essa característica pode estar relacionada à presença dos glóbulos de gordura que limitam a agregação das moléculas de caseínas prevenindo a contração e o rearranjo tridimensional das micelas gerando estruturas compactas e diminuindo a sinérese.

Segundo Lucey et al. (1998), a presença de uma cadeia polissacarídica longa como a inulina interfere no desenvolvimento da estrutura tridimensional de caseína, levando a formação de gel com menor firmeza e incapaz de reter água. Guven et al. (2005), também observaram que iogurtes desnatados com inulina apresentavam maiores valores de sinérese. Já Brennan e Tudorica (2008) e Guggisberg et al. (2009) observaram que iogurtes desnatados com 2 % de inulina apresentavam menores valores de sinérese, comparáveis aos iogurtes integrais.

A análise de viscosidade foi realizada nas formulações homogeneizadas e mantidas a 4 °C durante a análise. Houve diferença ($p \leq 0,05$) entre as formulações integrais e desnatadas. O teor de gordura influenciou as características de viscosidade, fazendo com que as formulações integrais fossem mais viscosas (5300 a 3854,75 cP). Yazici e Akgun (2004) observaram que iogurtes desnatados possuem menor viscosidade que os integrais em medidas feitas a 25 °C.

Houve diferença ($p \leq 0,05$) entre as bebidas formuladas com grãos de Kefir e cultura "starter". Aquelas com cultura "starter" apresentaram maior viscosidade, sendo a formulação 3 (integral fermentada com cultura "starter") a mais viscosa (5300 cP), sendo característico da culturas "starter" originar bebidas consistentes. A formulação 6 (desnatada adicionada de inulina, fermentada com grãos de Kefir) foi a menos viscosa (2460 cP).

Garrote, Abraham e Antoni (1998) analisando inoculações de 1, 3 e 5 % de grãos de Kefir observaram que a de 1 % resultava em bebida mais viscosa. Nesse trabalho optou-se pela inoculação de 1% de grãos de Kefir obtendo uma bebida consistente semelhante à bebida formulada com cultura "starter".

A presença ou não de inulina também gerou diferenças ($p \leq 0,05$) entre as formulações, de forma geral a inulina ocasionou diminuição nos valores de viscosidade. A exceção foi a formulação 2 (integral com inulina) que apresentou maior viscosidade que a formulação 1 (integral sem inulina). A homogeneização das amostras pode ter influenciado a viscosidade de todas as amostras. Segundo Robinson (1995) a presença de inulina interfere na rede de ligações proteína-proteína, diminuindo o tamanho das partículas do gel e causando a diminuição da viscosidade.

Brenann e Tudorica (2008) relatam que iogurtes desnatados possuem menores valores de viscosidade que os iogurtes integrais, e que a adição de 2% de leite em pó desnatado aumentava os valores de viscosidade (1600 a 2300 cP) e diminuía a sinérese dos iogurtes desnatados. Neste trabalho optou-se por adicionar leite em pó desnatado em todas as formulações, sendo que nas sem inulina a adição foi de 3,5 % e nas com inulina de 1,5 %.

5.2.3 Caracterização Microbiologia

As contagens médias de bactérias e leveduras presentes na bebida Kefir com um dia de armazenagem estão apresentados na Tabela 9. Os valores foram convertidos à escala logarítima antes das análises estatísticas.

Tabela 9 – Valores médios das contagens de bactérias ácido lácticas, bactérias ácido acéticas e leveduras das bebidas Kefir*

Formul ações*	MRS	M17	APT	BAC	YEC
1	12,84 ± 0,17 ^a	12,97 ± 0,22 ^a	10,51 ± 0,16 ^{ab}	10,81 ± 0,03 ^b	8,97 ± 0,22 ^a
2	12,50 ± 0,02 ^{ab}	12,97 ± 0,22 ^a	10,72 ± 0,05 ^{ab}	11,01 ± 0,01 ^a	8,89 ± 0,20 ^a
3	11,77 ± 0,37 ^{abc}	13,47 ± 0,01 ^a	10,71 ± 0,05 ^{ab}		8,82 ± 0,21 ^a
4	11,59 ± 0,28 ^{abc}	12,32 ± 0,12 ^b	10,06 ± 0,18 ^b		7,97 ± 0,22 ^a
5	11,97 ± 0,22 ^{abc}	12,97 ± 0,22 ^a	10,54 ± 0,32 ^{ab}	10,18 ± 0,00 ^c	8,98 ± 0,33 ^a
6	10,97 ± 0,22 ^c	13,47 ± 0,01 ^a	11,10 ± 0,12 ^a	10,19 ± 0,01 ^c	9,08 ± 0,34 ^a
7	11,80 ± 0,18 ^{abc}	13,47 ± 0,01 ^a	9,93 ± 0,21 ^b		8,80 ± 0,33 ^a
8	11,20 ± 0,56 ^{bc}	13,47 ± 0,01 ^a	10,15 ± 0,18 ^b		7,97 ± 0,22 ^a

*Resultados expressos em log UFC g⁻¹. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a p ≤ 0,05.

** Formulações 1 (Kefir integral fermentado com grãos de Kefir), 2 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 3 (Kefir integral fermentado com cultura "starter" de Kefir), 4 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir), 5 (Kefir desnatado fermentado com grãos de Kefir), 6 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 7 (Kefir desnatado fermentado com cultura "starter" de Kefir), 8 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

Ágar MRS = seletivo para bactérias ácido lácticas, ágar M17 = seletivo para Lactococos, ágar APT adicionado de sacarose e azida sódica = seletivo para leuconostoc, ágar BAC = seletivo para contagem de bactérias ácido acéticas e ágar YEC = seletivo para contagem de leveduras.

Para bactérias ácido lácticas (MRS), a formulação 6 (desnatada com inulina, fermentada com grãos de Kefir) apresentou menor contagem (10,97 log UFC g⁻¹) que a 1 (integral fermentada com grãos de Kefir) (12,84 log UFC g⁻¹), as demais formulações (2, 3, 4, 5, 7 e 8) apresentaram valores intermediários. Para lactococos (M17) a formulação 4 (integral com inulina, fermentada com cultura "starter") apresentou o menor valor (12,32 log UFC g⁻¹), diferindo das demais, que não diferiram entre si (valor médio de 13,25 log UFC g⁻¹). Para leuconostoc (APT) as formulações 4, 7 e 8 (integral e desnatada fermentada com cultura "starter", sendo a 4 e a 8 com inulina) apresentaram contagem menor (valor médio de 10,06 log UFC g⁻¹) que a 6 (integral adicionada de inulina, fermentada com grãos de Kefir) (11,10 log UFC g⁻¹), e as demais mostraram valores intermediários. As contagens de bactérias ácido acéticas (BAC) foram realizada apenas nas formulações com grãos de Kefir, a formulação 2 apresentou maior valor (11,01 log UFC g⁻¹) e as 5 e 6 o

menores valores (valor médio de 10,18 log UFC g⁻¹). Para leveduras (YEC) não houve diferença entre as formulações, sendo a contagem média de 8,68 log UFC g⁻¹.

Como os valores encontrados para cada formulação em cada meio seletivo são próximos não foi possível discriminar a influência do teor de gordura, dos iniciadores da fermentação ou da presença de inulina. Os valores encontrados em cada meio seletivo são maiores do que os relatados na literatura, mas como cada tipo de grão ou cultura sofre influência da origem e forma de manutenção, encontram-se na literatura variações de contagens.

Nos dados transformados em UFC g⁻¹ (pois na literatura os resultados são expressos nesta unidade), tem-se contagens variando de 10¹¹ a 10¹² para bactérias ácido lácticas; 10¹² a 10¹³ para lactococos; 10⁹ a 10¹⁰ para leuconostoc; 10⁷ a 10⁸ para leveduras nas oito formulações, e de 10¹⁰ a 10¹¹ para bactérias ácido acéticas para as formulações preparadas com grãos.

Irigoyen et al. (2005), ao analisar bebidas provenientes da inoculação com 1 e 5% de grãos de Kefir, relatam que contagens médias de bactérias e leveduras foram compostas por 10⁸ UFC mL⁻¹ de lactobacilos e lactococos, 10⁶ UFC mL⁻¹ de bactérias ácido acéticas e 10⁵ UFC mL⁻¹ de leveduras. Níveis de lactobacilos e lactococos foram maiores nas formulações com 1% de grãos, enquanto contagens de leveduras e bactérias ácido acéticas foram maiores nas formulações com 5% de grãos. No presente estudo foi utilizada inoculação de 1% de grãos de Kefir ou cultura "starter", e verificou-se predominância de bactérias ácido lácticas.

Sarkar (2007) relatou que a bebida de Kefir era composta por 10⁹ UFC mL⁻¹ de lactococos, 10⁷ a 10⁸ UFC mL⁻¹ de leuconostoc, 10⁸ a 10⁹ UFC mL⁻¹ de lactobacilos, e 10⁴ a 10⁵ UFC mL⁻¹ de bactérias ácido acéticas, 10⁴ a 10⁵ UFC mL⁻¹ de leveduras.

Garrote, Abraham e Antoni (1998) observaram que a bebida Kefir inoculada de 1 a 20 g/L (0,1 % a 2 %) possuía contagem de lactococos de 10⁹ UFC mL⁻¹, lactobacilos de 10⁹ a 10⁸ UFC mL⁻¹ e leveduras de 10⁷ UFC mL⁻¹.

Como no presente estudo a contagem total de bactérias e leveduras foram de 10⁸ a 10¹³ UFC g⁻¹, as bebidas Kefir obtidas apresentaram número de microrganismos suficiente para atuar no intestino humano como probióticos. Desta maneira, as oito formulações do Kefir atenderam aos requisitos descritos na literatura, assim como na Legislação Brasileira de bebidas lácteas (BRASIL, 2000),

que preconizam que todos os microrganismos produtores da fermentação láctica devem ser viáveis e estar presentes no produto em quantidades mínimas de 10^6 UFC mL⁻¹.

Estudos realizados por Romanin et al. (2010) selecionaram e isolaram os microrganismos presentes no Kefir que mostraram alta capacidade de modular as respostas epiteliais e caracterizam essas atividades em diferentes sistemas in vitro e in vivo. Indicando que a ingestão da bebida Kefir pode fornecer uma alternativa para a gestão de processos inflamatórios e distúrbios gastrointestinais.

5.2.4 Coliformes Totais e Coliformes a 45° C

No presente estudo não foram encontrados coliformes totais e coliformes a 45°C em nenhuma das formulações com um dia de estocagem após o término da fermentação.

5.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E SENSORIAL DAS BEBIDAS ADOÇADAS DE KEFIR

A bebida Kefir apresenta sabor e aroma acentuados e característicos, e não é um produto muito conhecido no Brasil, desta forma optou-se por acrescentar 8 % de sacarose após o processo de fermentação e homogenizar as formulações para simular o consumo caseiro. As formulações permaneceram 24 horas a 4 °C para análises.

5.3.1 Firmeza e Viscosidade das Bebidas Adoçadas de Kefir

Na Tabela 10 estão os valores de firmeza e viscosidade das formulações sem e com sacarose.

Tabela 10 – Valores médios de firmeza e viscosidade das bebidas de Kefir com e sem sacarose*

Formulações**	Firmeza (N)		Viscosidade (cP)	
	Sem sacarose	Com sacarose	Sem sacarose	Com sacarose
1	0,48 ± 0,005 ^{dA}	0,53 ± 0,03 ^{aA}	3854,75 ± 15,08 ^{bA}	3140,0 ± 24,03 ^{dB}
2	0,42 ± 0,001 ^{eB}	0,52 ± 0,04 ^{aA}	4050,00 ± 50,0 ^{bA}	2435,0 ± 11,54 ^{dB}
3	1,82 ± 0,027 ^{aA}	0,55 ± 0,00 ^{aB}	5300,00 ± 0,05 ^{aA}	4000,0 ± 13,33 ^{aB}
4	1,79 ± 0,020 ^{aA}	0,42 ± 0,00 ^{bB}	3342,50 ± 2,50 ^{cA}	3935,0 ± 17,63 ^{aA}
5	0,33 ± 0,032 ^{fA}	0,28 ± 0,01 ^{cA}	2595,00 ± 5,00 ^{dA}	2415,0 ± 13,63 ^{dA}
6	0,37 ± 0,017 ^{fA}	0,22 ± 0,01 ^{dB}	2460,00 ± 0,02 ^{dA}	2170,0 ± 6,66 ^{dA}
7	1,46 ± 0,002 ^{bA}	0,29 ± 0,01 ^{cB}	3375,00 ± 9,57 ^{cA}	2770,0 ± 6,66 ^{cB}
8	1,33 ± 0,052 ^{cA}	0,26 ± 0,01 ^{cB}	3085,00 ± 20,61 ^{cA}	2390,0 ± 13,63 ^{dB}

* Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$. Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$, para cada parâmetro.

**Formulações 1(Kefir integral fermentado com grãos de Kefir), 2 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 3 (Kefir integral fermentado com cultura "starter" de Kefir), 4 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir), 5 (Kefir desnatado fermentado com grãos de Kefir), 6 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 7 (Kefir desnatado fermentado com cultura "starter" de Kefir), 8 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

De forma geral, a firmeza das formulações após a adição de sacarose e homogenização diminuiu, com exceção das formulações 1 e 5 (integral e desnatada fermentada grãos de Kefir) que mantiveram os valores, e a 2 (integral adicionada de inulina, fermentada com grãos de Kefir) que apresentou aumento. A maior diminuição da firmeza foi nas formulações com cultura "starter", que antes da adição de sacarose apresentavam firmeza de 1,82 a 1,33 N e após adição os valores foram de 0,55 a 0,26 N respectivamente. A diminuição de firmeza ocorreu provavelmente devido à quebra da estrutura do gel que foi formado durante a fermentação, não sendo mais possível a reorganização do gel durante o repouso sob refrigeração (4 °C) por 24 horas, a que as amostras foram submetidas antes das medidas.

Em relação a viscosidade, as formulações 1, 2, 3, 7 e 8 apresentaram diminuição dos valores após a adição de sacarose e homogenização, enquanto que as formulações 4, 5 e 6 não tiveram alteração da viscosidade.

Maisuthisakul (2008) relata que a adição de sacarose influencia a viscosidade e a cremosidade de iogurtes com pH 4,0 e 4,5, indicando que o grau de agregação das moléculas dessas amostras diminuem com a adição de sacarose. Enquanto que Oliveira e Danim (2003) analisando iogurtes com diferentes teores de sólidos e concentrações de sacarose observaram que os iogurtes adicionados com 8 % de sacarose possuíam maior firmeza após homogenização.

Comparando-se as bebidas adoçadas, as formulações integrais apresentaram maior firmeza (0,55 a 0,42 N) que as desnatadas (0,29 a 0,22 N), devido a influência do teor de gordura, e também foi observado o efeito da inulina nas formulações 2 e 8 que apresentaram menores valores que a 1 e 7 (sem inulina). Semelhante à firmeza, as formulações integrais apresentaram maiores valores de viscosidade que as desnatadas, sendo a 3 e a 4 as mais viscosas (valor médio de 3967,5 cP).

5.3.2 Perfil Sensorial das Bebidas Adoçadas de Kefir

Os resultados da análise descritiva quantitativa (ADQ) estão representados nos gráficos obtidos da análise dos componentes principais (ACP) (Figura 12).

A Figura 12a mostra a projeção dos atributos sensoriais (descritores) sobre os planos fatoriais (CP1X CP2), respectivamente, enquanto a Figura 12b mostra a projeção das bebidas (formulações) do Kefir para o mesmo plano.

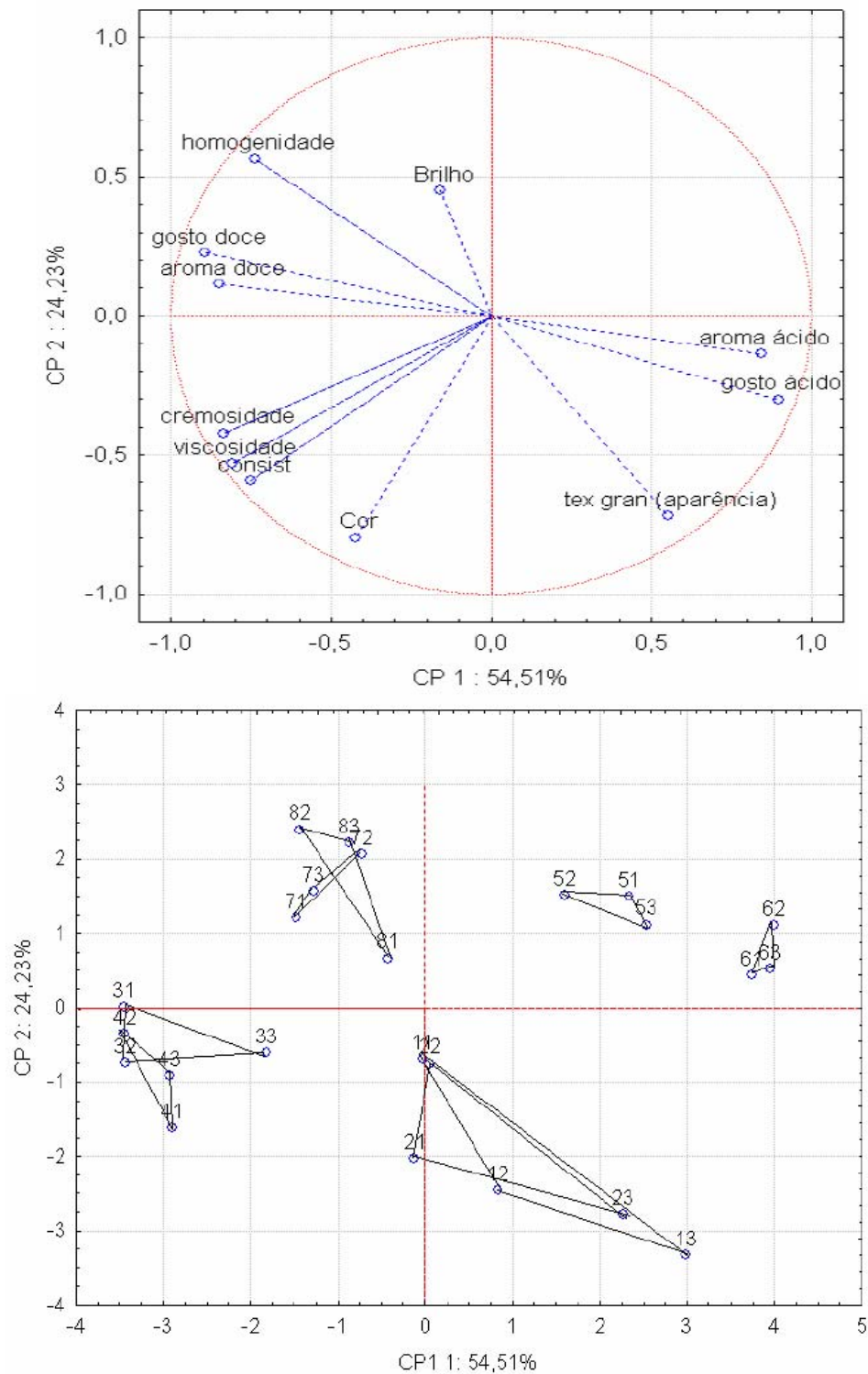


Figura 12 – Projeções dos Atributos Sensoriais (a) e bebidas (formulações) do Kefir (b) sobre o plano fatorial (CP1X CP2).

*Formulação e repetições 11, 12, 13 (Kefir integral fermentado com grãos de Kefir); 21, 22, 23 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir); 31, 32, 33 (Kefir integral fermentado com cultura "starter"); 41, 42, 43 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter"); 51, 52, 53 (Kefir desnatado fermentado com grãos de Kefir); 61, 62, 63 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir); 71, 72, 73 (Kefir desnatado fermentado com cultura "starter"); 81, 82, 83 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter").

O primeiro componente principal (CP1) explicou 54,51 % da variabilidade total contida nas variáveis originais, o segundo (CP2) 24,23 % e o terceiro (CP3) explicou 9,56 %, cujos autovalores foram iguais ou superiores a 1, totalizando 88,30 % de explicação. Segundo Lawless e Heymann (1998) é recomendável seguir o critério de Kaiser para determinar o número de dimensões a serem consideradas. Este critério considera que componentes principais com autovalores superiores a 1 devem ser mantidos e interpretados. Já Rosenthal (1999) afirma que um resultado adequado é aquele em que no mínimo 70 a 80 % da variação entre as formulações sejam explicadas nos três primeiros componentes principais. Desta forma, neste trabalho foram utilizados os dois primeiros componentes principais, por estar de acordo com os autores mencionados. O terceiro componente principal não foi utilizado, pois somente o atributo brilho foi importante para este componente.

Na ACP os descritores (atributos) são representados por vetores (Figura 12a), sendo que os vetores que se apresentam longos, ao serem decompostos em um eixo componente principal (CP), apresentam alta correlação com o eixo, explicando maior variabilidade entre as formulações mostrada naquele CP. Tais fatos podem ser confirmados pelos valores de correlações dos atributos com os eixos CP (Tabela 11) e indicam a importância ou o poder de cada atributo em cada componente principal. Foram considerados valores superiores a 0,7 (em módulo) como importantes. Os atributos com correlação negativa localizam-se à esquerda e aqueles com correlação positiva estão à direita no eixo horizontal (CP1), ou mais abaixo (correlação negativa) e mais acima (correlação positiva) no eixo vertical (CP2) do gráfico.

Tabela 11 – Correlações dos atributos com os eixos componentes principais (CP)*

Atributos	CP1	CP2
Aparência		
Cor	-0,422	-0,798
Brilho	-0,158	0,450
Textura Granulosa	0,552	-0,719
Aroma		
Aroma Ácido	0,844	-0,136
Aroma Doce	-0,850	0,115
Sabor		
Gosto Ácido	0,897	-0,301
Gosto Doce	-0,891	0,225
Textura		
Consistência	-0,750	-0,595
Viscosidade	-0,809	-0,533
Creiosidade	-0,833	-0,422
Homogeneidade	-0,736	0,564

* valores em negrito correspondem à correlações superiores a 0,7 (em módulo)

No primeiro CP, em ordem decrescente de importância (contribuição discriminante) e com correlação positiva encontram-se os atributos gosto ácido e aroma ácido, e com correlação negativa tem-se os atributos gosto e aroma doce, cremosidade, viscosidade, consistência e homogeneidade. No segundo CP, os principais foram cor e textura granulosa com correlação negativa. O brilho teve correlação de - 0,80 % no terceiro CP.

Quando os vetores estão próximos um do outro indicam correlação positiva entre os atributos, quando são ortogonais, possivelmente não há correlação linear entre os atributos e quando estão num ângulo de 180° entre si indicam correlação negativa. Para confirmar a correlação entre os atributos e o nível de significância foi realizada a análise de correlação linear entre os dados e os resultados estão discutidos no item 5.3.3.

Na Figura 12b, cada formulação da bebida Kefir está representada por um triângulo, onde cada vértice corresponde ao valor médio atribuído pela

equipe sensorial em cada repetição. Assim, se os vértices estiverem próximos significa que houve repetibilidade da avaliação.

O primeiro componente principal separou (discriminou) as formulações quanto ao tipo de iniciador da fermentação (grãos ou cultura "starter"). As formulações à direita (1, 2, 5 e 6) eram formulações fermentadas com grãos de Kefir, e as formulações à esquerda (3, 4, 7 e 8) formulações fermentadas com cultura "starter". O segundo componente principal separou as formulações quanto ao teor de gordura. As formulações mais acima no eixo (5, 6, 7 e 8) eram desnatadas e as formulações localizadas mais abaixo no eixo (1, 2, 3 e 4) eram integrais.

Na ACP quando as formulações (triângulos) estão próximas entre si (Figura 12b), significa que são semelhantes em relação aos atributos julgados e quando posicionadas num ângulo de 180° tem características opostas. Cada formulação se localiza na região próxima ao vetor (descriptor) que a caracteriza (Figura 12a). Dessa forma, analisando-se as Figuras 12a e 12b em conjunto, verifica-se que as formulações 1 (integral fermentada com grãos de Kefir) e 2 (integral adicionada de inulina, fermentada com grãos de Kefir) estão sobrepostas e localizadas mais à direita do CP1 e mais abaixo no CP2, tendo como principais características textura granulosa e pouco homogênea; as formulações 3 (integral fermentada com cultura "starter") e a 4 (integral adicionada de inulina, fermentada com cultura "starter") também estão sobrepostas e se localizam do lado esquerdo do CP1 e mais abaixo do CP2, apresentando maior intensidade de cremosidade, viscosidade, consistência e cor amarelada. As formulações 5 (desnatada fermentada com grãos de Kefir) e a 6 (desnatada adicionada de inulina, fermentada com grãos de Kefir) estão próximas e do lado direito do CP2 e, portanto, apresentam maior intensidade de gosto ácido e aroma ácido e menor consistência, cremosidade e viscosidade. As formulações 7 (desnatada fermentada com cultura "starter") e 8 (desnatada adicionada de inulina, fermentada com cultura "starter") estão sobrepostas e a esquerda do CP1 e mais acima do CP2 apresentam maior intensidade de aroma doce, gosto doce, homogeneidade, e textura granulosa menos intensa.

A Análise dos Componentes Principais (ACP) apenas sugere semelhanças e diferenças entre as formulações. Desta forma, para se obter resultados com nível de significância, realizou-se análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias Tukey dos dados.

A análise de variância demonstrou que o valor de $F_{\text{formulação} \times \text{provedor}}$ foi significativo para 7 dos 11 atributos ($p \leq 0,05$) avaliados (textura granulosa, aroma ácido, aroma doce, gosto ácido, gosto doce, homogeneidade e cremosidade), indicando que apesar da seleção e treinamento dos provedores, para esses atributos havia na equipe pelo menos um provedor avaliando as amostras de forma não consensual com os demais. Assim, de acordo com Stone e Sidel (2004), foi calculado o F_{ajustado} e o teste Tukey para todos os atributos.

Os valores médios de intensidade dos atributos sensoriais conforme determinações da equipe sensorial estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 – Média dos atributos sensoriais das bebidas adoçadas de Kefir.

Atributos	Formulações**							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Aparência								
Cor	4,64 ^a	4,68 ^a	4,67 ^a	4,76 ^a	3,56 ^b	3,14 ^b	3,35 ^b	3,19 ^b
Brilho	4,44 ^a	4,96 ^a	4,95 ^a	4,61 ^a	5,14 ^a	4,69 ^a	4,90 ^a	4,80 ^a
Textura Granulosa	4,22 ^a	4,46 ^a	2,71 ^{bc}	3,05 ^b	3,09 ^b	3,82 ^{ab}	2,48 ^{bc}	2,30 ^c
Aroma								
Aroma Ácido	4,73 ^{ab}	4,45 ^{abc}	3,98 ^{bc}	3,69 ^c	4,46 ^{abc}	4,92 ^a	4,04 ^{bc}	4,33 ^{abc}
Aroma Doce	3,77 ^{bc}	3,78 ^{bc}	4,59 ^a	4,38 ^{ab}	3,46 ^c	3,10 ^c	4,44 ^{ab}	4,26 ^{ab}
Sabor								
Gosto Ácido	5,22 ^a	5,23 ^a	3,69 ^b	3,39 ^b	5,08 ^a	5,32 ^a	3,92 ^b	3,65 ^b
Gosto Doce	4,12 ^{bc}	4,12 ^{bc}	5,02 ^a	5,34 ^a	4,14 ^{bc}	3,90 ^c	4,80 ^{ab}	4,90 ^{ab}
Textura								
Consistência	4,36 ^b	4,49 ^b	5,39 ^a	5,35 ^a	3,02 ^c	2,81 ^c	3,84 ^b	3,89 ^b
Viscosidade	4,33 ^c	4,53 ^{bc}	5,16 ^{ab}	5,34 ^a	3,02 ^d	2,75 ^d	4,07 ^c	4,07 ^c
Cremosidade	5,26 ^b	5,22 ^b	6,00 ^a	5,93 ^a	3,85 ^c	3,37 ^c	5,15 ^b	4,86 ^b
Homogeneidade	5,14 ^{cd}	4,94 ^d	6,40 ^a	6,12 ^{ab}	5,63 ^{bc}	5,12 ^{cd}	6,51 ^a	6,46 ^a

*Médias na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$.

**Formulações 1(Kefir integral fermentado com grãos de Kefir), 2 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 3 (Kefir integral fermentado com cultura “starter” de Kefir), 4 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com cultura “starter” de Kefir), 5 (Kefir desnatado fermentado com grãos de Kefir), 6 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 7 (Kefir desnatado fermentado com cultura “starter” de Kefir), 8 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com cultura “starter” de Kefir).

Verificou-se que houve diferença ($p \leq 0,05$) entre as formulações para todos os atributos, exceto para o brilho. Indicando que a fermentação com

grãos de Kefir ou cultura "starter", o teor de gordura e a presença ou não de inulina influenciaram na percepção destes atributos. Foi confirmada a semelhança sensorial, observada na ACP, entre formulações 1 e 2; 3 e 4; 5 e 6; 7 e 8 em relação aos atributos avaliados.

As formulações integrais (1, 2, 3 e 4) apresentaram cor amarela mais intensa (valor médio de 4,68) enquanto as desnatadas (5, 6, 7 e 8) eram menos amarelas (valor médio de 3,31). Tal fato deve-se a cor da gordura das amostras integrais. Brenna e Tudorica (2008) utilizando equipe treinada, não encontraram diferenças na intensidade da cor de iogurtes adicionados de fibras, dentre elas a inulina.

As formulações 1 e 2 apresentaram aparência mais granulosa (valor médio de 4,34). Para adição de sacarose, todas formulações foram homogeneizadas e peneiradas, no entanto, essas duas formulações mostraram-se mais difíceis para homogeneizar provavelmente por serem formuladas com leite integral e grãos de Kefir, sendo que a 2 continha inulina. A formulação 8 teve a menor intensidade (2,30). As demais formulações (3, 4, 5, 6 e 7) apresentaram valores intermediários (3,09 a 2,48) para este atributo.

A formulação 6 (desnatada adicionada de inulina, fermentada com grãos de Kefir) mostrou aroma ácido mais intenso (4,92) que a formulação 4 (3,69) (integral adicionada de inulina, fermentada com cultura "starter"); as demais formulações apresentaram valores intermediários (4,73 a 3,98). As bebidas produzidas com grãos de Kefir eram mais ácidas, nas formulações desnatadas a sensação do aroma ácido foi mais intenso.

Jaworska et al. (2005), observaram que iogurtes desnatados apresentavam maior intensidade de aroma ácido, quando avaliado por uma equipe não treinada de 30 provadores, os quais utilizaram escala de 10 pontos para intensidade.

Wróblerwska et al. (2009) obtiveram valor médio 2,9 para o aroma ácido em bebida de Kefir integral fermentada com grãos de Kefir, utilizando escala de 0 a 10 e equipe treinada.

Quanto o aroma doce, a formulação 3 apresentou maior intensidade (4,59) que as formulações 5 e 6 (valor médio de 3,28) e as demais formulações mostraram valores intermediários (4,44 a 3,77).

O gosto ácido das amostras fermentadas com grãos (1, 2, 5 e 6) apresentou-se mais intenso (valor médio de 5,21) que das fermentadas com cultura "starter" (valor médio de 3,66). É característico dos grãos de Kefir produzirem bebidas mais ácidas. Wróblerwska et al. (2009) obtiveram valor médio de 5,8, em escala de intensidade que variava de 0 a 10, para o gosto ácido em amostras de Kefir integral fermentada com grãos de Kefir.

A seqüência decrescente das formulações quanto ao gosto doce foi: 3 e 4 (valor médio de 5,18); 7 e 8 (valor médio de 4,85); 1, 2 e 5 (valor médio de 4,13) e 6 (3,90). A sensação de maior doçura deve ser resultado do tipo do iniciador da fermentação utilizado nas formulações 3, 4, 7 e 8, e não foi efeito da adição de sacarose, pois todas as formulações receberam a mesma proporção.

As formulações 3 e 4 apresentaram consistência mais firme (valor médio de 5,37), por serem integrais e fermentadas com cultura "starter". A formulação 4 também continha inulina, que contribui para produção de bebidas mais consistentes e semelhantes ao iogurte natural. As formulações 1, 2 (integrais fermentadas com grãos de Kefir, sendo a 2 com inulina), 7 e 8 (desnatadas fermentadas com cultura "starter" sendo a 8 com inulina) apresentaram valores intermediários (valor médio de 4,14). As formulações 5 e 6 (desnatadas fermentadas com grãos de Kefir, sendo a 6 com inulina) apresentaram os menores valores (valor médio de 2,91), essas formulações possuíam aparência mais líquida. O teor de gordura e os iniciadores da fermentação foram fatores que influenciaram a consistência das bebidas.

Jaworska et al. (2005) observaram que os iogurtes comerciais integrais eram mais macios e consistentes do que os desnatados.

Guggisberg et al. (2009) analisando sensorialmente iogurtes de baixo teor de gordura e com diferentes teores de inulina, observaram que as amostras com 3,5 % de gordura eram mais firmes e viscosas que as amostras de baixo teor de gordura. De acordo com o autor, a análise sensorial não foi sensível o suficiente para detectar mudanças na firmeza causada por diferentes níveis de inulina adicionados nos iogurtes. A consistência foi avaliada por meio da inserção de uma colher no iogurte e elevação da mesma até a boca. No presente trabalho a consistência foi avaliada de forma semelhante e também não foi possível detectar diferenças na consistência causada pela presença de inulina.

Kailasapathy (2006) observou que iogurtes integrais não tinham aparência, cor, aroma ácido e gosto ácido alterados pela presença da cultura probiótica, mas havia alteração das propriedades de firmeza.

Quanto a viscosidade das bebidas, observou-se a seguinte ordem decrescente de intensidade: formulações 4 e 3 (5,34 e 5,16); 2 e 1 (4,53 e 4,33); formulação 7 e 8 (valor médio de 4,07) e formulação 5 e 6 (valor médio de 2,88). O teor de gordura, seguido dos iniciadores da fermentação (grãos ou cultura "starter") foram os fatores que influenciaram a viscosidade. A inulina não influenciou este atributo.

Guggisberg et al. (2009) observaram que a firmeza e a viscosidade de iogurtes não foram afetadas pela adição de diferentes níveis de inulina. Entretanto, a viscosidade aumentou quanto maior concentração foi adicionada. Segundo Guven et al. (2005) o efeito de diferentes níveis de adição de inulina afeta significativamente a consistência de iogurtes durante o período de estocagem.

Bebidas preparadas com leite integral e cultura "starter" (3 e 4) foram as mais cremosas (valor médio 5,96) e as preparadas com leite desnatado e grãos (5 e 6) as menos cremosas (valor médio 3,61), independente da presença de inulina. As formulações integrais fermentadas com grãos (1 e 2), juntamente com as desnatadas fermentadas com cultura (7 e 8), independente da presença de inulina, apresentaram valor intermediário para cremosidade (valor médio de 5,12). O fator que pode ter discriminado as formulações em relação à cremosidade foi a interação do teor de gordura e tipo de iniciador da fermentação (grãos ou cultura "starter"). A cultura "starter" influenciou aumentando a cremosidade. Em bebidas com mesmo teor de gordura, a cremosidade foi mais intensa naquelas fermentadas com cultura "starter" do que com grãos (3 e 4 versus 1 e 2; 7 e 8 versus 5 e 6). Além disso, a fermentação com cultura tornou a cremosidade das bebidas desnatadas (7 e 8) semelhante a das bebidas integrais fermentadas com grãos (1 e 2). A inulina não teve influência, provavelmente porque a quantidade adicionada foi pequena, não sendo percebida pelos provadores.

Wróblerwska et al. (2009) obtiveram valor médio de 4,0, em escala que variava de 0 a 10, para cremosidade em amostra de Kefir integral fermentada com grãos de Kefir.

Segundo Wszolek (2001), as características sensoriais do Kefir variam de acordo com a cultura utilizada, o teor de gordura e o período de

estocagem do produto, sendo que a cultura utilizada influencia principalmente as características de cremosidade e viscosidade.

Akin et al. (2007) não observaram influência da inulina nas propriedades sensoriais (cor e aparência, corpo, textura e sabor) em sorvetes probióticos. Pimentel (2009) também não observou influência da adição de 2 % inulina no atributo cremosidade para iogurtes desnatados. Guggisberg et al. (2009) observaram que para iogurtes com teores de 1 a 3,5 % de gordura, o aumento na concentração de inulina melhorava a percepção da cremosidade. No entanto, para iogurtes contendo 0,1 % de gordura nenhuma influência foi observada. Brennan & Tudorica (2007) também não observaram efeito da inulina na cremosidade de iogurtes quando adicionada de 2 %, a mesma quantidade utilizada no presente trabalho, porém para adição de 6 % o efeito foi observado.

As formulações fermentadas com cultura "starter" (3, 4, 7 e 8) (valor de 6,46 a 6,12) apresentaram textura mais homogênea que as fermentadas com grãos de Kefir (1, 2, 5 e 6) (valor de 5,63 a 4,94). Não houve influência do teor de gordura e da adição de inulina na homogeneidade, já que as formulações apresentaram valores próximos. Pimentel (2009) também não observou efeito da adição da inulina nos iogurtes desnatados.

Ertekin e Guzel-Seydim (2010) avaliaram sensorialmente quatro formulações de Kefir fermentadas com 2 % de grãos (desnatada, integral, desnatada contendo 2 % de inulina e desnatada contendo 2 % de proteína "dairy lo"). Observaram que a formulação integral apresentou maiores valores para os atributos cor amarelada, aroma fermentado, homogeneidade, consistência, viscosidade, sabor característico do Kefir; a formulação desnatada mostrou-se menos amarelada e carbonatada e com aroma pouco fermentado; as formulações com inulina e com proteína apresentaram valores intermediários para todos os atributos avaliados. Os autores concluíram que a inulina e a proteína não influenciaram nas características de sabor e odor da formulação estudada.

5.3.3 Correlações entre os Atributos Gerados na ADQ

Foram determinadas as correlações de Pearson entre os atributos sensoriais obtidos na Análise Descritiva Quantitativa e os resultados estão dispostos na Tabela 13.

Tabela 13 – Coeficiente de correlação de Pearson dos atributos sensoriais obtidos na ADQ*

Var**	Cor	Brilho	Textura Gran	Aroma Ácido	Aroma Doce	Gosto Ácido	Gosto Doce	Consist	Viscos	Cre mos	Hom og
Cor	1										
Brilho	-0,170	1									
Textura Gran	0,376	-0,217	1								
Aroma Ácido	-0,345	-0,272	0,479	1							
Aroma Doce	0,274	0,330	-0,433	-0,754	1						
Gosto Ácido	-0,151	-0,122	0,728	0,774	-0,721	1					
Gosto Doce	0,233	0,257	-0,546	-0,814	0,824	-0,911	1				
Consist	0,719	-0,196	-0,065	-0,490	0,495	-0,489	0,474	1			
Viscos	0,703	-0,112	-0,111	-0,536	0,592	-0,566	0,543	0,972	1		
Cre mos	0,602	-0,011	-0,183	-0,547	0,653	-0,562	0,595	0,911	0,940	1	
Homog	-0,180	0,188	-0,919	-0,604	0,584	-0,851	0,703	0,265	0,329	0,428	1

* Resultados em negrito apresentam correlação significativa a $p \leq 0,05$ (teste t)

Var** (Variáveis): Cor, Brilho, Textura Granulosa (textura gran), Aroma Ácido, Aroma Doce, Gosto Ácido, Gosto Doce, Consistência (consist), Viscosidade (Viscos), Cremosidade (Cre mos), Homogeneidade (Homog).

Houve correlações significativas ($p \leq 0,05$) entre os atributos cor e: textura granulosa (+), consistência (+), viscosidade (+), cremosidade (+); textura granulosa e: aroma ácido (+), aroma doce (-), gosto ácido (+), gosto doce (-), homogeneidade (-); aroma ácido e: aroma doce (-), gosto ácido (+), gosto doce (-), consistência (-), viscosidade (-), cremosidade (-), homogeneidade (-); aroma doce e: gosto ácido (-), gosto doce (+), consistência (+), viscosidade (+), cremosidade (+), e homogeneidade (+); gosto ácido e: gosto doce (-), consistência (-), viscosidade (-), cremosidade (-) e homogeneidade (-); gosto doce e: consistência (+), viscosidade (+), cremosidade (+) e homogeneidade (+); consistência e: viscosidade (+) e cremosidade (+); viscosidade e: cremosidade (+); cremosidade e: homogeneidade (+). O brilho não se correlacionou com nenhum atributo.

A cor amarelada esteve diretamente relacionada à textura granulosa, consistência, viscosidade e cremosidade, que são atributos característicos de formulações com maior teor de gordura.

A textura granulosa foi diretamente relacionada ao aroma ácido e gosto ácido e inversamente relacionada ao aroma doce, gosto doce e homogeneidade. O leite integral e o iniciador da fermentação na forma de grão são os prováveis responsáveis por essa correlação e resultam em produto mais macio, menos doce e com aparência mais granulosa.

O aroma ácido e o gosto ácido estiveram inversamente relacionados com o aroma doce, gosto doce, consistência, viscosidade, cremosidade e homogeneidade. Possivelmente as formulações desnatadas resultaram em sensações mais ácidas, menos doce, cremosas, homogêneas e viscosas.

González-Tomás et al. (2008) afirmam que a quantidade de gordura afeta a liberação de compostos voláteis responsáveis pelo aroma dos produtos.

O aroma e o gosto doce foram influenciados diretamente pela consistência, viscosidade, cremosidade e homogeneidade e inversamente relacionados com o gosto ácido. Os provadores consideraram as formulações menos ácidas como mais doces, por serem mais suaves, além disso eram formuladas com cultura "starter".

González-Tomás et al. (2008) afirmam que a percepção de sabor ocorre através de um complexo sistema onde o gosto, o aroma e a textura interagem para formar a percepção. Isso pode explicar as correlações do gosto doce com os parâmetros de textura: cremosidade e viscosidade.

A consistência teve correlação positiva com viscosidade e cremosidade. O leite integral, iniciador da fermentação na forma de cultura e a presença de inulina são responsáveis por essa correlação, que resultam em um produto mais consistente.

A viscosidade teve correlação positiva com a cremosidade. E a cremosidade foi diretamente influenciada pela homogeneidade. Os provadores consideraram as formulações com maior teor de gordura e/ou inulina como sendo mais cremosas e viscosas.

A cremosidade foi diretamente influenciada pela homogeneidade e viscosidade. Os provadores consideraram as formulações com maior teor de gordura e/ou inulina como sendo mais cremosas e viscosas.

Janhoj et al. (2008) mostraram relação entre maciez e a cremosidade em iogurtes com adição de baixos e altos níveis de leite em pó desnatado. Para baixos níveis a correlação entre maciez e cremosidade foi maior, enquanto que para altos níveis foi negativa. Os autores sugerem que as amostras com leite em pó desnatado possuem maior intensidade de aroma de leite fermentado e maior cremosidade, e que a percepção da cremosidade supera a da maciez devido à viscosidade, amostras menos macias podem ser mais cremosas.

Esses resultados confirmaram as sugestões de correlação entre os atributos mostrados no ACP (item 5.3.2).

5.3.4 Correlações entre Medidas Químicas e Físicas das Bebidas com e sem Sacarose e Atributos Sensoriais das Bebidas Adoçadas

Os resultados das correlações de Pearson entre as medidas químicas e físicas e os atributos sensoriais gerados estão na Tabela 14.

Tabela 14 – Coeficientes de correlação de Pearson entre as medidas físico-químicas e instrumentais e os atributos sensoriais gerados no ADQ*

Atributos Sensoriais	L*	a*	b*	pH	Acidez	Firmeza		Viscosidade	
						Sem sacarose	Com sacarose	Sem sacarose	Com sacarose
						Cor	0,663	0,073	0,753
Brilho	-0,067	-0,016	-0,054	-0,010	0,003	-0,004	-0,004	-0,008	-0,033
Textura granulosa	0,154	0,014	0,359	0,054	-0,021	-0,353	0,041	0,045	-0,111
Consistência firme	0,759	0,090	0,810	0,005	-0,026	0,415	0,090	0,717	0,556
Aroma ácido	-0,143	-0,015	-0,137	0,028	0,000	-0,228	-0,011	-0,213	-0,200
Aroma doce	0,252	0,037	0,207	-0,022	-0,008	0,281	0,028	0,303	0,229
Gosto ácido	-0,148	-0,049	-0,068	0,072	-0,011	-0,485	-0,005	-0,277	-0,329
Gosto doce	0,148	0,032	0,148	-0,041	0,000	0,299	0,014	0,229	0,239
Cremosidade	0,735	0,084	0,698	-0,007	-0,008	0,428	0,083	0,661	0,516
Homogeneidade	0,021	0,005	-0,143	-0,052	0,023	0,356	-0,016	0,106	0,188
Viscosidade	0,696	0,096	0,729	-0,006	-0,022	0,404	0,084	0,648	0,503

*Resultados em negrito apresentam correlação significativa a $p \leq 0,05$ (teste t)

Correlações significativas foram encontradas para L^* e: cor (+), consistência firme (+), aroma doce (+), cremosidade (+), e viscosidade (+); b^* e: cor (+), textura granulosa (+), consistência firme (+), cremosidade (+), viscosidade (+); firmeza sem sacarose e: textura granulosa (-), consistência firme (+), aroma ácido (-), aroma doce (+), gosto ácido (-), gosto doce (+), cremosidade (+), homogeneidade (+), viscosidade (+); viscosidade sem sacarose e: cor (+), consistência firme (+), aroma doce (+), gosto ácido (-), gosto doce (+), cremosidade (+), viscosidade (+); viscosidade com sacarose e: cor (+), consistência firme (+), aroma doce (+), gosto ácido (-), gosto doce (+), cremosidade (+) e viscosidade (+).

O parâmetro de cor a^* , pH, acidez e a firmeza das bebidas contendo sacarose não tiveram correlação com nenhum atributo.

Os parâmetros L^* e b^* afetaram positivamente a cor, consistência firme, textura granulosa, cremosidade e viscosidade. Provavelmente foram influenciados pelo teor de gordura das formulações integrais.

A firmeza instrumental (sem adição de sacarose) teve correlação positiva com os atributos consistência firme, aroma doce, gosto doce, cremosidade, homogeneidade e viscosidade, e correlação negativa com o aroma ácido e gosto ácido. Essa correlação deve ter ocorrido provavelmente pelo resultado da fermentação com cultura "starter", ou grãos.

A viscosidade com e sem sacarose tiveram correlações semelhantes; positiva com o atributo cor, consistência firme, gosto doce, cremosidade, e viscosidade, e negativa com aroma ácido e gosto ácido. As formulações de Kefir com maior viscosidade tiveram influência do teor de gordura, da fermentação com cultura "starter" ou grãos, e da presença ou não da inulina. Guggisberg et al. (2009) também observaram que o aumento do teor de gordura aumentava a cremosidade dos iogurtes.

5.3.5 Aceitação das Bebidas Adoçadas de Kefir

A aceitação das bebidas de Kefir foi determinada por meio da escala hedônica, com participação de 50 voluntários, sendo 38 mulheres e 12 homens, com idade variando de 15 a 50 anos, prevalecendo a faixa etária de 15 a 25 anos. A

equipe era composta por 54 % de alunos de pós-graduação, 40 % de alunos de graduação e 6 % de funcionários da instituição. Todos os voluntários relataram que gostavam de iogurte, mas somente 32 % conheciam e já haviam consumido a bebida Kefir.

Na Tabela 15 estão os valores hedônicos das oito formulações e as porcentagens de aprovação, indiferença e rejeição das bebidas.

Tabela 15 – Aceitação das bebidas Kefir adoçadas*

Formulação**	Aceitabilidade	% Aprovação	% Indiferença	% Rejeição
1	6,60±0,214 ^{ab}	80%	10%	10%
2	6,58±0,229 ^{ab}	74%	8%	18%
3	6,26±0,258 ^{ab}	64%	8%	28%
4	6,94±0,213 ^a	82%	8%	10%
5	5,76±0,255 ^b	60%	2%	38%
6	6,24±0,215 ^{ab}	72%	10%	18%
7	6,42±0,231 ^{ab}	74%	6%	20%
8	6,36±0,240 ^{ab}	74%	6%	20%

*Médias na mesma coluna acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$.

**Formulações 1 (Kefir integral fermentado com grãos de Kefir), 2 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 3 (Kefir integral fermentado com cultura "starter" de Kefir), 4 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir), 5 (Kefir desnatado fermentado com grãos de Kefir), 6 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 7 (Kefir desnatado fermentado com cultura "starter" de Kefir), 8 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

Valor Hedônico 1 = desgostei muitíssimo, 5 = nem gostei nem desgostei, 9 = gostei muitíssimo

% de aprovação= porcentagem de notas de 6 a 9

% de indiferença= porcentagem de notas 5

% de rejeição= porcentagem de notas de 1 a 4

A aceitabilidade situou-se entre 6 e 7, indicando que os consumidores gostaram moderadamente das bebidas Kefir. Essa estreita faixa de valores demonstra que apesar das diferenças na intensidade dos atributos, as formulações tiveram aceitação semelhante.

A formulação 5 (desnatada e fermentada com grãos) foi menos aceita (com maior porcentagem de rejeição) que a formulação 4 (integral, adicionada de inulina e fermentada com cultura "starter"). A formulação 4 foi a mais aceita, provavelmente por apresentar semelhanças com iogurte, e ser menos ácida. As

demais formulações apresentaram valores de aceitação intermediários a essas duas formulações, não diferindo entre si.

Ertekin e Guzel-Seydim (2010) também observaram que Kefir integral era mais aceito que formulações desnatadas.

Dalla Santa et al. (2006) realizaram testes de aceitação, utilizando a escala hedônica estruturada de nove pontos, da bebida Kefir contendo 10 % de polpa de morango e 10 e 12 % de sacarose. A bebida com 10 % de açúcar obteve nota média de 6,4 e com 12 % de açúcar de 7,2. Nesse mesmo estudo foram avaliadas amostras de Kefir com diferentes teores de polpa de ameixa, as formulações obtiveram notas médias entre 6 e 7 indicando que os provadores gostaram moderadamente da bebida Kefir, semelhante aos valores encontrados neste trabalho.

Wróblewska et al. (2009) obtiveram baixa aceitação (2,8) da bebida Kefir integral fermentada com grãos de Kefir utilizando escala que variava de 0 (não gostei) a 10 (gostei muitíssimo).

A adição de inulina contribuiu para melhorar a aceitação das bebidas de Kefir. Guven et al. (2005) e Brennan e Tudorica (2008) não observaram efeito da adição de inulina na aceitabilidade geral de iogurtes integrais e desnatados.

5.4 COMPORTAMENTO QUÍMICO, FÍSICO E MICROBIOLÓGICO DAS BEBIDAS KEFIR NÃO ADOÇADAS DURANTE O ARMAZENAMENTO A 4° C

Para observar a influência dos grãos de Kefir ou cultura "starter", e da presença ou não de inulina no comportamento das bebidas durante o armazenamento, o experimento foi dividido em formulações integrais e desnatadas.

Na análise de variância os valores de $F_{\text{formulação} \times \text{tempo de armazenamento}}$ não foram significativos ($p > 0,05$) para teor de inulina (formulações integrais e desnatadas), teor de lactose (formulações desnatadas), contagem de bactérias em agar MRS (formulações desnatadas) e agar M17 (formulações integrais e desnatadas), indicando que as formulações se comportaram de maneira semelhante em relação ao tempo de estocagem. Para os demais parâmetros a interação foi

significativa ($p \leq 0,05$), indicando que as formulações se comportaram de forma diferente em relação ao tempo.

5.4.1 pH, Acidez, Teor de Lactose e Inulina

Os valores de pH das bebidas integrais e desnatadas de Kefir durante o período de armazenagem estão demonstrados nas Tabelas 16 e 17 respectivamente.

Tabela 16 – Valores médios de pH nas bebidas integrais de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C*.

Tempo (dias)	Formulações**			
	1	2	3	4
0	4,83 ± 0,017 ^{aA}	4,78 ± 0,014 ^{aA}	4,59 ± 0,026 ^{bB}	4,57 ± 0,016 ^{bA}
1	4,60 ± 0,035 ^{aB}	4,53 ± 0,025 ^{bB}	4,47 ± 0,042 ^{bcC}	4,41 ± 0,024 ^{cB}
7	4,47 ± 0,023 ^{aC}	4,47 ± 0,017 ^{aB}	4,39 ± 0,05 ^{aD}	4,39 ± 0,039 ^{aB}
14	4,35 ± 0,052 ^{bcD}	4,27 ± 0,033 ^{cc}	4,55 ± 0,029 ^{aBC}	4,43 ± 0,020 ^{bB}
21	4,18 ± 0,006 ^{cE}	4,06 ± 0,025 ^{dD}	4,63 ± 0,002 ^{aB}	4,42 ± 0,025 ^{bB}
28	4,08 ± 0,036 ^{bF}	4,06 ± 0,070 ^{bD}	4,72 ± 0,003 ^{aA}	4,66 ± 0,034 ^{aA}

* Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$.

**Formulações 1 (Kefir integral fermentado com grãos de Kefir), 2 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 3 (Kefir integral fermentado com cultura "starter" de Kefir), 4 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

Tabela 17 – Valores médios de pH nas bebidas desnatadas de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C*

Tempo (dias)	Formulações**			
	5	6	7	8
0	4,83 ± 0,012 ^{aA}	4,75 ± 0,015 ^{aA}	4,57 ± 0,037 ^{bA}	4,52 ± 0,026 ^{bA}
1	4,53 ± 0,041 ^{aB}	4,52 ± 0,021 ^{aB}	4,45 ± 0,041 ^{abAB}	4,36 ± 0,033 ^{bB}
7	4,40 ± 0,077 ^{abB}	4,49 ± 0,00 ^{aB}	4,38 ± 0,048 ^{abB}	4,33 ± 0,030 ^{bB}
14	4,25 ± 0,035 ^{bC}	4,24 ± 0,018 ^{bC}	4,49 ± 0,020 ^{aAB}	4,39 ± 0,011 ^{aB}
21	4,12 ± 0,053 ^{bD}	4,13 ± 0,025 ^{bCD}	4,48 ± 0,021 ^{aAB}	4,39 ± 0,004 ^{aAB}
28	4,20 ± 0,091 ^{bCD}	4,10 ± 0,087 ^{bD}	4,58 ± 0,059 ^{aA}	4,58 ± 0,042 ^{aA}

* Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$.

**Formulações 5 (Kefir desnatado fermentado com grãos de Kefir), 6 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 7 (Kefir desnatado fermentado com cultura "starter" de Kefir), 8 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

Conforme já explicado no item 5. 2. 1, o pH de todas as formulações diminuiu dentro das primeiras 24 horas de armazenagem. No tempo 0, as formulações fermentadas com grãos de Kefir (1, 2, 5 e 6) possuíam maior pH que as fermentadas com cultura "starter" (3, 4, 7 e 8). As formulações integrais 1 e 2 (fermentadas com grãos de Kefir) tiveram diminuição do pH durante o armazenamento. As formulações fermentadas com cultura "starter" (3 e 4) tiveram diminuição e novo aumento nos valores, sendo que para a 3 o aumento foi após o 7° dia e para a 4 após o 21° dia. No 28° dia os valores médios do pH das formulações fermentadas com grãos de Kefir (1 e 2) foram inferiores (valor médio de 4,07) aos das fermentadas com cultura "starter" (3 e 4) (valor médio de 4,69).

As formulações desnatadas tiveram comportamento durante o armazenamento, em relação ao pH, semelhantes as formulações integrais.

Os resultados da acidez das formulações durante o armazenamento estão nas Tabelas 18 (integrais) e 19 (desnatadas).

Tabela 18 – Valores médios de acidez nas bebidas integrais de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C*

Tempo (dias)	Formulações**			
	1	2	3	4
1	0,92 ± 0,04 ^{aD}	0,88 ± 0,025 ^{aD}	0,96 ± 0,039 ^{aA}	0,84 ± 0,045 ^{aB}
7	1,02 ± 0,02 ^{aD}	0,96 ± 0,033 ^{aD}	0,92 ± 0,017 ^{abA}	0,82 ± 0,021 ^{bB}
14	1,12 ± 0,046 ^{aC}	1,10 ± 0,055 ^{aC}	0,92 ± 0,021 ^{bA}	0,82 ± 0,029 ^{cB}
21	1,32 ± 0,042 ^{bB}	1,54 ± 0,013 ^{aA}	0,91 ± 0,019 ^{cA}	0,97 ± 0,038 ^{cA}
28	1,49 ± 0,047 ^{aA}	1,37 ± 0,039 ^{bB}	0,87 ± 0,030 ^{cA}	0,85 ± 0,029 ^{cAB}

*Resultados expressos em % de ácido láctico. Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$.

**Formulações 1(Kefir integral fermentado com grãos de Kefir), 2 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 3 (Kefir integral fermentado com cultura "starter" de Kefir), 4 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

Tabela 19 – Valores médios de acidez nas bebidas desnatadas de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C*

Tempo (dias)	Formulações**			
	5	6	7	8
1	0,99 ± 0,049 ^{aC}	0,92 ± 0,038 ^{aC}	1,02 ± 0,056 ^{aA}	0,92 ± 0,055 ^{aAB}
7	1,02 ± 0,017 ^{aC}	0,95 ± 0,031 ^{abC}	0,96 ± 0,014 ^{abA}	0,88 ± 0,021 ^{bAB}
14	1,19 ± 0,078 ^{aB}	1,08 ± 0,060 ^{bB}	0,93 ± 0,038 ^{cA}	0,92 ± 0,031 ^{cAB}
21	1,43 ± 0,027 ^{aA}	1,32 ± 0,083 ^{bA}	1,00 ± 0,046 ^{cA}	0,97 ± 0,019 ^{cA}
28	1,38 ± 0,056 ^{aA}	1,41 ± 0,106 ^{aA}	0,98 ± 0,064 ^{bA}	0,87 ± 0,035 ^{cB}

* Resultados expressos em % de ácido láctico. Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$.

** Formulações 5 (Kefir desnatado fermentado com grãos de Kefir), 6 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 7 (Kefir desnatado fermentado com cultura "starter" de Kefir), 8 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

No tempo 1 as formulações apresentaram acidez semelhante (média de 0,90 % para as integrais e de 0,96 % para as desnatadas). Observou-se aumento nos valores para as bebidas fermentadas com grãos, sendo de 61 % para integral,

sem inulina (1), 56 % para integral com inulina (2), 39 % para desnatada sem inulina (5) e de 53 % para desnatada com inulina (6). De modo geral, nas bebidas fermentadas com cultura "starter" (3, 4, 7 e 8) não houve variação na acidez. No 28º dia verificou-se que as bebidas provenientes da fermentação com grãos (integrais 1 e 2 e desnatadas 5 e 6) possuíam maior acidez que as provenientes da cultura "starter" (integrais 3 e 4 e desnatadas 7 e 8).

O declínio do pH e o aumento da acidez são resultados da pós-acidificação dos produtos e estão relacionados à continuidade do processo fermentativo pelas bactérias ácido lácticas durante o período de estocagem em temperatura de refrigeração (APORTELA-PALACIOS et al., 2005). Tal fato foi confirmado pela verificação de declínio do teor de lactose tanto nas formulações integrais (Tabela 20), quanto nas desnatadas (Tabela 21).

Tabela 20 – Conteúdo médio de lactose nas bebidas integrais de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C*

Tempo (dias)	Formulações**			
	1	2	3	4
1	3,05 ± 0,102 ^{bA}	3,02 ± 0,023 ^{bA}	3,38 ± 0,091 ^{aA}	3,15 ± 0,021 ^{abA}
14	2,54 ± 0,137 ^{abB}	2,48 ± 0,102 ^{abB}	2,35 ± 0,108 ^{abB}	2,27 ± 0,075 ^{bB}
28	2,02 ± ,006 ^{abC}	2,13 ± 0,054 ^{aC}	1,92 ± 0,049 ^{bC}	1,86 ± 0,041 ^{bC}

*Resultados expressos em g/100g de produto. Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$.

**Formulações 1(Kefir integral fermentado com grãos de Kefir), 2 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 3 (Kefir integral fermentado com cultura "starter" de Kefir), 4 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

Tabela 21 – Conteúdo médio de lactose nas bebidas desnatadas de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C*

Tempo (dias)	Formulações**				Média
	5	6	7	8	
1	2,93 ± 0,057	2,86 ± 0,073	3,02 ± 0,083	2,81 ± 0,101	2,90 ± 0,04 ^A
14	2,29 ± 0,089	2,37 ± 0,057	2,10 ± 0,062	2,25 ± 0,094	2,25 ± 0,04 ^B
28	1,96 ± 0,047	2,08 ± 0,051	1,83 ± 0,072	1,90 ± 0,091	1,94 ± 0,03 ^C
Média	2,39 ± 0,10 ^a	2,44 ± 0,08 ^a	2,32 ± 0,12 ^a	2,32 ± 0,10 ^a	

*Resultados expressos em g/100g de produto. Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$.

**Formulações 5 (Kefir desnatado fermentado com grãos de Kefir), 6 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 7 (Kefir desnatado fermentado com cultura "starter" de Kefir), 8 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

Nas bebidas desnatadas o declínio médio para as quatro formulações foi de 33,1 %, ou seja passou de 2,90 para 1,94 g/100g (o valor de $F_{\text{formulação} \times \text{tempo de armazenagem}}$ da ANOVA não foi significativo, mostrando que as formulações comportam-se de maneira semelhante durante o armazenamento). Nas bebidas integrais observou-se maior queda do teor nas formulações com cultura "starter", 4 (40,9 %) e 3 (43,2 %) do que nas fermentadas com grãos, 1 (33,8 %) e 2 (29,5 %).

Farnworth e Mainville (2008) relatam que pelo menos 30 % da lactose são hidrolisadas durante a fermentação e o processo continua durante o período de armazenamento refrigerado.

Garcia Fontán et al. (2006) relatam que a lactose diminui nas primeiras 24 horas de fermentação do Kefir, seguido de decréscimo da hidrólise durante o período de armazenagem. Segundo os autores, não foi possível detectar a quantidade de glicose e galactose nas amostras durante a fermentação, e foi sugerido que esses monossacarídeos produzidos durante o processo de fermentação pela degradação da lactose são imediatamente metabolizados em outros produtos como ácido láctico, etanol e CO₂ e, não são acumulados na bebida. Segundo Irigoyen et al. (2005), a galactose formada pela hidrólise da lactose é usada pela microbiota dos grãos de Kefir para produzir o Kefiran durante o processo de fermentação.

Para Irigoyen et al. (2005), o pH da bebida fermentada com grãos de Kefir não varia durante o período de estocagem refrigerado. O decréscimo ocorre apenas durante o processo de fermentação e na estocagem a produção de ácido láctico diminuiu devido ao declínio da população de bactérias ácido lácticas na bebida, porém em iogurte, o pH diminui com o tempo de estocagem refrigerado devido à hidrólise da lactose pelas bactérias fermentadoras. Para os autores, o pH do Kefir não variou durante a estocagem, devido a presença de leveduras. A presença de leveduras nos grãos ou culturas faz com que as bactérias ácido lácticas se multipliquem mais lentamente e produzam ácido láctico em baixa concentração (COLLAR, 1996; IRIGOYEN et al., 2005). No presente estudo não foi verificado tal efeito das leveduras nas bebidas fermentadas com grãos, tendo em vista que houve diminuição do pH ($p \leq 0,05$) durante armazenamento.

Cardarelli et al. (2008) observaram que queijos petit-suisse tradicional apresentavam menor pH que os simbióticos. Durante o período de estocagem os autores verificaram que mais lactose podia ser degradada a ácidos orgânicos, levando ao menor pH. Uma maior concentração de lactose provê o microrganismo de maior quantidade de substrato a ser degradado em ácidos orgânicos, levando a menor pH e maiores valores de acidez durante a estocagem.

Guggisberg et al. (2009) observaram que o pH de iogurtes não é influenciado pela adição de inulina, mas pode ser influenciado pelo conteúdo de gordura (2 a 3,5 %), após 6 dias de estocagem.

Nas Tabelas 22 e 23 estão os resultados referentes ao teor de inulina das formulações nas quais foram adicionadas (integrais 2 e 4 e desnatadas 5 e 6) nos diferentes tempos de armazenamento.

Tabela 22 – Conteúdo médio de inulina das bebidas integrais Kefir durante o período de armazenagem a 4°C*

Tempo (dias)	Formulações**		Média
	2	4	
1	2,00 ± 0,003	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00 ^A
7	1,98 ± 0,001	2,00 ± 0,005	1,99 ± 0,00 ^A
14	1,98 ± 0,005	2,00 ± 0,005	1,99 ± 0,00 ^A
21	1,84 ± 0,045	1,94 ± 0,040	1,89 ± 0,03 ^B
28	1,77 ± 0,025	1,91 ± 0,010	1,84 ± 0,04 ^B
Média	1,92 ± 0,031 ^a	1,97 ± 0,01 ^a	

* Resultados expressos em g/100g de produto. Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhada de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhada de letras maiúsculas não diferem a $p \leq 0,05$.

**Formulações 2 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 4 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

Tabela 23 – Conteúdo médio de inulina das bebidas desnatadas Kefir durante o período de armazenagem a 4°C*

Tempo (dias)	Formulações**		Média
	6	8	
1	2,00 ± 0,045	2,00 ± 0,005	2,00 ± 0,02 ^A
7	1,93 ± 0,045	1,98 ± 0,005	1,96 ± 0,02 ^B
14	1,93 ± 0,010	1,98 ± 0,005	1,96 ± 0,02 ^B
21	1,87 ± 0,010	1,90 ± 0,015	1,88 ± 0,01 ^C
28	1,76 ± 0,005	1,88 ± 0,005	1,82 ± 0,03 ^D
Média	1,90 ± 0,028 ^a	1,95 ± 0,016 ^a	

*Resultados expressos em g/100g de produto. Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhada de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhada de letras maiúsculas não diferem a $p \leq 0,05$.

**Formulações 6 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 8 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

A análise estatística dos dados resultou em $F_{\text{formulação} \times \text{tempo de armazenamento}}$ não significativo ($p > 0,05$), indicando que as formulações apresentaram comportamento semelhante durante a estocagem.

Todas as formulações tiveram diminuição do teor de inulina durante o período de estocagem. Verificou-se declínio de 8 % para as integrais e de 9 % para as desnatadas, sendo o teor, no 28º dia de 1,84 e 1,82 g/100g respectivamente. A provável causa, dessa redução é a hidrólise ácida, pois o meio tornou-se mais ácido durante armazenamento (Tabela 18 e 19). Segundo Oraffi (1999) em ambiente ácido, a inulina pode ser hidrolisada, resultando na formação de frutose e na perda de suas alegações funcionais. Entretanto, durante a produção e estocagem do produto, a hidrólise é limitada; 1 % durante a pasteurização do leite, 2% durante a incubação do leite e 5 % durante a estocagem do produto.

Cardarelli et al. (2006) obtiveram redução no conteúdo de inulina de 2,7 % em queijos petit-suisse probióticos com 28 dias de armazenagem.

5.4.2 Firmeza, Sinérese e Viscosidade

Os valores de firmeza das bebidas integrais e desnatadas de Kefir durante o período de armazenamento estão dispostos nas Tabelas 24 e 25.

Tabela 24 – Valores médios de firmeza nas bebidas integrais de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C*

Tempo (dias)	Formulações**			
	1	2	3	4
1	0,48 ± 0,005 ^{bB}	0,42 ± 0,001 ^{bB}	1,82 ± 0,027 ^{aB}	1,79 ± 0,020 ^{aB}
14	0,84 ± 0,026 ^{bA}	0,67 ± 0,070 ^{cA}	2,02 ± 0,023 ^{aA}	1,93 ± 0,005 ^{aA}
28	0,57 ± 0,001 ^{bB}	0,60 ± 0,001 ^{bA}	2,12 ± 0,057 ^{aA}	2,03 ± 0,023 ^{aA}

*Resultados expressos em Newton (N). . Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$.

**Formulações 1(Kefir integral fermentado com grãos de Kefir), 2 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 3 (Kefir integral fermentado com cultura "starter" de Kefir), 4 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

Tabela 25 – Valores médios de firmeza nas bebidas desnatadas de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C*

Tempo (dias)	Formulações**			
	5	6	7	8
1	0,33 ± 0,032 ^{CB}	0,37 ± 0,017 ^{CC}	1,46 ± 0,002 ^{AB}	1,33 ± 0,052 ^{BB}
14	0,77 ± 0,001 ^{BA}	0,49 ± 0,010 ^{CB}	1,69 ± 0,047 ^{AA}	1,60 ± 0,035 ^{AA}
28	0,71 ± 0,043 ^{CA}	0,78 ± 0,010 ^{CA}	1,70 ± 0,006 ^{AA}	1,54 ± 0,044 ^{BA}

* Resultados expressos em Newton (N). Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$.

**Formulações 5 (Kefir desnatado fermentado com grãos de Kefir), 6 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 7 (Kefir desnatado fermentado com cultura "starter" de Kefir), 8 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

As formulações integrais (2, 3 e 4) e as desnatadas (5, 6, 7 e 8) tiveram aumento de 13 a 115 % de firmeza durante armazenagem, sendo as maiores variações nas formulações com grãos (2, 5 e 6). A formulação 1 teve aumento da firmeza até o 14º dia, seguido de diminuição, mas igualando-se ao valor inicial. As formulações fermentadas com cultura "starter" (integrais 3 e 4 e desnatadas 7 e 8) apresentaram valores de firmeza superiores aos das formulações com grãos (integrais 1 e 2 e desnatadas 5 e 6) durante todo o período de estocagem. Não foi observada influência da presença de inulina.

Buriti et al. (2008) observaram aumento da firmeza em queijos cremoso durante as duas primeiras semanas de armazenamento, e os valores permaneceram estáveis entre a segunda e a terceira semana. Para Guven et al. (2005), a firmeza dos iogurtes permaneceu inalterada durante os 28 dias de estocagem.

Kailasapathy (2006) afirmou que a pós-acidificação em iogurtes durante o período de estocagem e conseqüentemente rearranjo da caseína, pode resultar em estrutura mais firme.

O teor de sinérese das bebidas integrais e desnatadas de Kefir durante o período de armazenamento estão dispostos nas Tabelas 26 e 27.

Tabela 26 – Valores médios de sinérese nas bebidas integrais de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C*

Tempo (dias)	Formulações**			
	1	2	3	4
1	26,52 ± 0,417 ^{aB}	26,87 ± 0,260 ^{aA}	23,92 ± 0,417 ^{bA}	26,45 ± 0,385 ^{aA}
14	27,33 ± 0,333 ^{aB}	27,27 ± 0,430 ^{aA}	23,00 ± 0,350 ^{bA}	22,67 ± 0,494 ^{bB}
28	31,67 ± 1,430 ^{aA}	26,48 ± 1,365 ^{bA}	22,23 ± 0,498 ^{cA}	23,75 ± 0,443 ^{cB}

* Resultados expressos em mL /100g de produto. Médias na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$.

**Formulações 1(Kefir integral fermentado com grãos de Kefir), 2 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 3 (Kefir integral fermentado com cultura "starter" de Kefir), 4 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

Tabela 27 – Valores médios de sinérese nas bebidas desnatadas de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C

Tempo (dias)	Formulações**			
	5	6	7	8
1	32,25 ± 0,281 ^{aB}	31,57 ± 0,392 ^{aC}	32,78 ± 0,239 ^{aA}	30,67 ± 0,511 ^{aB}
14	30,67 ± 0,422 ^{bB}	36,75 ± 1,153 ^{aB}	25,00 ± 0,258 ^{cC}	32,25 ± 1,320 ^{bAB}
28	39,83 ± 1,014 ^{bA}	46,58 ± 1,987 ^{aA}	29,70 ± 0,998 ^{dB}	33,70 ± 0,792 ^{cA}

* Resultados expressos em mL /100g de produto. Médias na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$.

** Formulações 5 (Kefir desnatado fermentado com grãos de Kefir), 6 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 7 (Kefir desnatado fermentado com cultura "starter" de Kefir), 8 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

Durante a armazenagem foi observada que as formulações 2 e 3 não tiveram variação na sinérese, as formulações 1, 5, 6 e 8 aumento e as formulações 4 e 7 tiveram redução nos valores. No 28º dia, observou-se que houve maior perda de líquido nas formulações fermentadas com grãos (1, 2, 5 e 6) do que nas fermentadas com cultura "starter" (3, 4, 7 e 8). De forma geral, a sinérese foi maior nas bebidas desnatadas do que nas integrais.

Achanta, Arayana e Boeneke (2007) atribuem o aumento da sinérese ao decréscimo do pH durante a estocagem, que provoca contração da

matriz micelar de caseína, aumentando a expulsão de soro. No presente estudo, as formulações 1, 5 e 6 apresentaram maior diminuição do pH e conseqüentemente maior sinérese.

Para Aportela-Palacios et al. (2005), valores de sinérese menores que 39 % são considerados satisfatórios em iogurtes. Os autores também concluíram que a presença de fibras diminui a sinérese. Guven et al. (2005) observou diminuição (17 %) da sinérese em iogurtes desnatados com inulina durante 15 dias de armazenagem. No presente estudo não foi observado efeito da inulina sobre a sinérese.

As formulações fermentadas com grãos de Kefir eram homogenizadas e peneiradas para retirar os grãos, devido à quebra da estrutura (gel) formada durante a fermentação essas bebidas retêm menos água, enquanto que as com cultura "starter" eram fermentadas direto nos coletores de armazenamento.

As análises de viscosidade foram realizadas nas bebidas Kefir homogenizadas e mantidas a 4 °C. Os resultados das bebidas integrais e desnatadas estão apresentados nas Tabelas 28 e 29.

Tabela 28 – Valores médios de viscosidade nas bebidas integrais de Kefir durante o período de armazenagem a 4°C*

Tempo (dias)	Formulações**			
	1	2	3	4
1	3854,75 ± 15,08 ^{CB}	4050,00 ± 50,0 ^{BC}	5300,00 ± 0,05 ^{AA}	3340,00 ± 40,5 ^{DC}
14	4041,25 ± 1,25 ^{DA}	4310,00 ± 5,77 ^{CB}	4880,00 ± 14,14 ^{BC}	5200,00 ± 20,41 ^{AA}
28	3651,00 ± 10,37 ^{CC}	4565,00 ± 12,58 ^{BA}	4980,00 ± 0,02 ^{AB}	4540,00 ± 14,14 ^{BB}

* Resultados expressos em cP. Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$.

** Formulações 1 (Kefir integral fermentado com grãos de Kefir), 2 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 3 (Kefir integral fermentado com cultura "starter" de Kefir), 4 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

Tabela 29 – Valores médios de viscosidade nas bebidas desnatadas de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C*

Tempo (dias)	Formulações**			
	5	6	7	8
1	2595,00 ± 5,00 ^{cB}	2460,00 ± 0,02 ^{dB}	3375,00 ± 9,57 ^{aA}	3085,00 ± 20,61 ^{bB}
14	2760,00 ± 0,02 ^{bA}	2585,00 ± 5,00 ^{cA}	3385,00 ± 5,00 ^{aA}	3380,00 ± 8,16 ^{aA}
28	486,00 ± 2,00 ^{dC}	2140,00 ± 0,02 ^{cC}	3265,00 ± 9,57 ^{aB}	2920,00 ± 14,14 ^{bC}

* Resultados expressos em cP Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a $p \leq 0,05$.

**Formulações 5 (Kefir desnatado fermentado com grãos de Kefir), 6 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 7 (Kefir desnatado fermentado com cultura "starter" de Kefir), 8 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

As formulações desnatadas foram menos viscosas que as integrais durante todo o armazenamento. De maneira geral, as formulações preparadas com grãos foram menos viscosas que aquelas preparadas com cultura "starter". As formulações integrais 1 e 3 tiveram diminuição da viscosidade, enquanto que a 2 e 4, que continham inulina, tiveram aumento da viscosidade durante o período de armazenamento. No 28º dia a formulação 1 fermentada com grãos de Kefir foi a menos viscosa (3651 cP) e a 3 e 4, fermentadas com cultura "starter", as mais viscosas (valor médio de 4760 cP). Nas formulações desnatadas todas tiveram diminuição da viscosidade durante o armazenamento e no 28º dia a formulação 5 fermentada com grãos de Kefir foi a menos viscosa (486 cP) e a 7 fermentada com cultura "starter" a mais viscosa (3265 cP).

Wróblewka et al. (2009) observaram aumento da viscosidade de 340 cP no 1º dia de armazenamento a 4 °C para 399 cP no 14º dia, em bebidas de Kefir integrais fermentadas com grãos.

Para Kefir, Irigoyen et al. (2005) observaram diminuição da viscosidade durante o período de estocagem de bebidas produzidas com 1 e 5 % de grãos, sendo o maior valor nas amostras com maior quantidade de grãos. Enquanto que, para iogurtes foi observado aumento da viscosidade durante o período de estocagem. Yazici e Akgun (2004) verificaram aumento da viscosidade durante o período de estocagem em iogurte integrais e desnatados.

Ertekin e Guzel-Seydim (2010) avaliando amostras de Kefir integral, Kefir desnatado e Kefir desnatado com 2% de inulina relatam aumento da viscosidade aparente em todas as amostras durante sete dias de armazenagem.

5.4.3 Contagem Microbiológica

As contagens de bactérias ácido lácticas, ácido acéticas e leveduras das bebidas integrais e desnatadas de Kefir durante o período de armazenamento estão dispostas nas Tabelas 30 e 31 respectivamente.

Tabela 30 – Valores médios das contagens de bactérias ácido lácticas, ácido acéticas e leveduras nas bebidas integrais de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C*.

Meio	Tempo (dias)	Formulações				Média
		1	2	3	4	
MRS	1	12,84 ± 0,17 ^{aA}	12,50 ± 0,02 ^{aA}	11,77 ± 0,37 ^{abA}	11,59 ± 0,28 ^{bA}	
	14	10,87 ± 0,18 ^{aB}	11,54 ± 0,32 ^{aB}	10,78 ± 0,30 ^{aB}	11,46 ± 0,51 ^{aA}	
	28	11,24 ± 0,28 ^{aB}	11,47 ± 0,44 ^{aB}	11,61 ± 0,38 ^{aA}	11,53 ± 0,38 ^{aA}	
M17	1	12,97 ± 0,22	12,97 ± 0,22	13,47 ± 0,01	12,32 ± 0,12	12,93 ± 0,11 ^A
	14	12,49 ± 0,11	12,24 ± 0,09	12,30 ± 0,11	11,06 ± 0,42	12,02 ± 0,15 ^B
	28	12,70 ± 0,13	12,89 ± 0,18	13,12 ± 0,03	11,99 ± 0,47	12,67 ± 0,15 ^A
Média		12,27 ± 0,10 ^a	12,70 ± 0,12 ^a	12,96 ± 0,12 ^a	11,78 ± 0,24 ^b	
APT	1	10,51 ± 0,16 ^{abA}	10,72 ± 0,05 ^{aB}	10,71 ± 0,05 ^{aB}	10,06 ± 0,18 ^{bB}	
	14	10,61 ± 0,24 ^{bB}	11,30 ± 0,10 ^{aA}	10,58 ± 0,21 ^{bB}	9,63 ± 0,38 ^{cB}	
	28	11,15 ± 0,12 ^{aA}	11,21 ± 0,06 ^{aA}	11,18 ± 0,06 ^{aA}	11,51 ± 0,30 ^{aA}	
BAC	1	10,81 ± 0,03 ^{aC}	11,01 ± 0,01 ^{aB}	-	-	
	14	12,06 ± 0,18 ^{aA}	12,06 ± 0,18 ^{aA}	-	-	
	28	11,32 ± 0,19 ^{bB}	11,92 ± 0,00 ^{aA}	-	-	
YEC	1	8,97 ± 0,22 ^{aB}	8,89 ± 0,20 ^{aB}	8,82 ± 0,21 ^{aA}	7,97 ± 0,22 ^{bB}	
	14	9,08 ± 0,18 ^{aB}	9,14 ± 0,23 ^{aB}	7,47 ± 0,01 ^{bB}	7,57 ± 0,01 ^{bB}	
	28	9,91 ± 0,15 ^{aA}	10,12 ± 0,16 ^{aA}	9,05 ± 0,25 ^{bA}	9,28 ± 0,26 ^{bA}	

*Resultados expressos em log UFC g⁻¹. Médias ± desvio padrão acompanhadas de letra minúsculas iguais, na linha, não diferem a p ≤ 0,05. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais, na coluna, para cada meio, não diferem a p ≤ 0,05.

**Formulações 1 (Kefir integral fermentado com grãos de Kefir), 2 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 3 (Kefir integral fermentado com cultura "starter" de Kefir), 4 (Kefir integral adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

Ágar MRS = seletivo para bactérias ácido lácticas, agar M17= seletivo para lactococos, agar APT= seletivo para leuconostoc, agar BAC = seletivo para bactérias ácido acéticas e ágar YEC = seletivo para leveduras.

Tabela 31 – Valores médios das contagens de bactérias ácido lácticas, ácido acéticas e leveduras nas bebidas desnatadas de Kefir durante o período de armazenamento a 4°C*.

Meio	Tempo (dias)	Formulações				Média
		5	6	7	8	
MRS	1	11,97 ± 0,22	10,97 ± 0,22	11,80 ± 0,18	11,20 ± 0,56	11,48 ± 0,18 ^A
	14	11,74 ± 0,34	11,78 ± 0,11	11,24 ± 0,09	11,02 ± 0,21	11,44 ± 0,12 ^A
	28	11,53 ± 0,01	10,89 ± 0,45	11,18 ± 0,13	11,51 ± 0,49	11,27 ± 0,17 ^A
Média		11,79 ± 0,13 ^a	11,21 ± 0,18 ^b	11,40 ± 0,10 ^{ab}	11,24 ± 0,24 ^b	
M17	1	12,97 ± 0,22	13,47 ± 0,01	13,47 ± 0,01	13,47 ± 0,01	13,34 ± 0,07 ^A
	14	11,93 ± 0,19	12,09 ± 0,19	12,93 ± 0,21	12,47 ± 0,22	12,35 ± 0,13 ^B
	28	11,84 ± 0,12	10,88 ± 0,45	11,66 ± 0,38	11,51 ± 0,49	11,47 ± 0,20 ^C
Média		12,24 ± 0,16 ^{ab}	12,14 ± 0,30 ^b	12,68 ± 0,23 ^a	12,48 ± 0,26 ^{ab}	
APT	1	10,54 ± 0,32 ^{abA}	11,10 ± 0,12 ^{aA}	9,93 ± 0,21 ^{bB}	10,14 ± 0,18 ^{bB}	
	14	11,20 ± 0,48 ^{aA}	10,10 ± 0,26 ^{bB}	9,64 ± 0,45 ^{bB}	10,06 ± 0,16 ^{bB}	
	28	11,18 ± 0,08 ^{aA}	11,22 ± 0,05 ^{aA}	11,04 ± 0,18 ^{aA}	11,19 ± 0,07 ^{aA}	
BAC	1	10,18 ± 0,00 ^{aC}	10,19 ± 0,01 ^{aA}	-	-	
	14	11,45 ± 0,11 ^{aA}	10,26 ± 0,13 ^{bA}	-	-	
	28	10,98 ± 0,15 ^{aB}	9,47 ± 0,01 ^{bB}	-	-	
YEC	1	8,98 ± 0,33 ^{aAB}	9,08 ± 0,34 ^{aAB}	8,80 ± 0,33 ^{aB}	7,97 ± 0,22 ^{bB}	
	14	8,69 ± 0,13 ^{abB}	8,00 ± 0,22 ^{bB}	8,50 ± 0,38 ^{bB}	9,39 ± 0,34 ^{aA}	
	28	9,45 ± 0,22 ^{abA}	9,64 ± 0,10 ^{abA}	10,04 ± 0,19 ^{aA}	9,09 ± 0,28 ^{bA}	

*Resultados expressos em log UFC g⁻¹. Médias ± desvio padrão acompanhadas de letra minúsculas iguais, na linha, não diferem a p ≤ 0,05. Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais, na coluna, para cada meio, não diferem a p ≤ 0,05.

**Formulações 5 (Kefir desnatado fermentado com grãos de Kefir), 6 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com grãos de Kefir), 7 (Kefir desnatado fermentado com cultura "starter" de Kefir), 8 (Kefir desnatado adicionado de inulina, fermentado com cultura "starter" de Kefir).

Ágar MRS = seletivo para bactérias ácido lácticas, ágar M17= seletivo para lactococos, ágar APT adicionada de sacarose e azida sódica = seletivo para leuconostoc, ágar BAC = seletivo para bactérias ácido acéticas e ágar YEC = seletivo para leveduras.

Nas contagens de bactérias ácido lácticas (MRS), as bebidas integrais fermentadas com grãos de Kefir (1 e 2) tiveram diminuição de 1 log na viabilidade, enquanto que as fermentadas com cultura "starter" (3 e 4) não tiveram variação. No 28° dia as quatro formulações apresentaram contagens semelhantes (valor médio de 11,46 log UFC g⁻¹). As bebidas desnatadas (5, 6, 7 e 8) tiveram comportamento semelhante ao longo do armazenamento (F_{formulação x tempo de armazenamento}, p > 0,05), e observou-se que não houve variação na contagem de bactérias ácido láticas. Durante a armazenagem a formulação 5 apresentou maior

contagem ($11,79 \log \text{ UFC g}^{-1}$) que as formulações 6 e 8 (valor médio $11,22 \log \text{ UFC g}^{-1}$).

Irigoyen et al. (2005) relataram que níveis de lactobacilos diminuíram $1,5 \log$ entre o sétimo e décimo quarto dia em formulações integrais com 1 e 5 % de grãos de Kefir. Já Kiliç et al. (1999) observaram aumento de 1 log na contagem de lactobacilos nos 4 primeiros dias de armazenamento em Kefir integrais.

Ertekin e Guzel-Seydim (2010) avaliando Kefir integral, e Kefir desnatado sem e com 2 % de inulina encontraram contagens de *Lactobacillos spp* entre 9,1 a 9,4 $\log \text{ UFC mL}^{-1}$ no 1° dia e 9,7 a 9,9 $\log \text{ UFC mL}^{-1}$ no 7° dia de armazenamento.

Wróblewka et al. (2009) observaram contagens de bactérias ácido lácticas $4,4 \cdot 10^8$ no 1° dia de armazenamento e $1,60 \cdot 10^8$ no 14° dia em bebidas de Kefir integral fermentada com grãos de Kefir.

Para lactococos (M17), tanto as formulações integrais como as desnatadas tiveram comportamento semelhante durante o armazenamento ($F_{\text{formulação} \times \text{tempo de armazenagem}}$, $p > 0,05$). Nas integrais (1, 2, 3 e 4) houve diminuição na contagem do 1° para o 14° dia, seguido de aumento do 14° para 28° dia, dessa forma o valor se igualou ao inicial ($12,5 \log \text{ UFC g}^{-1}$). A formulação 4 (média de $11,78 \log \text{ UFC g}^{-1}$) apresentou menor contagem, em 1 log, que as demais. Nas formulações desnatadas (5, 6, 7 e 8) houve diminuição de 2 log durante o período de armazenagem (média de $11,47 \log \text{ UFC g}^{-1}$). Verificou-se que a formulação 7 (fermentada com cultura "starter") possuía maior contagem ($12,68 \log \text{ UFC g}^{-1}$) que a 6 (fermentada com grãos de Kefir) ($12,14 \log \text{ UFC g}^{-1}$), e as demais valores intermediários.

Ertekin e Guzel-Seydim (2010) encontraram contagens de *Streptococcus spp* no Kefir integral e Kefir desnatado sem e com 2 % de inulina entre 9,3 a 9,8 $\log \text{ UFC mL}^{-1}$ no 1° dia e entre 9,5 a 9,9 $\log \text{ UFC mL}^{-1}$ no 7° dia de armazenamento. Kiliç et al. (1999) observaram aumento das contagens de lactococos em Kefir integrais durante os três primeiros dias de armazenagem (4°C).

Para leuconostoc (APT) as formulações integrais (1, 2, 3 e 4) tiveram aumento das contagens durante os 28 dias de armazenagem. No 28° dia as contagens tornaram-se semelhantes (valor médio $11,26 \log \text{ UFC g}^{-1}$) para as quatro formulações. Nas desnatadas fermentadas com grãos de Kefir (5 e 6), a contagem no final do armazenamento foi semelhante a inicial, enquanto que nas fermentadas

com cultura "starter" (7 e 8) houve aumento de 1 log na viabilidade. Dessa forma, no 28° dia, as quatro formulações apresentaram valores semelhantes (valor médio de 11,16 log UFC g⁻¹).

Observou-se aumento na viabilidade de bactérias ácido acéticas (BAC) nas formulações integrais com grãos (1 e 2) durante a estocagem. No 28° dia, a formulação 1 apresentou menor contagem (11,32 log UFC g⁻¹) que a 2 (com inulina) (11,92 log UFC g⁻¹). A bebida desnatada 5 teve aumento de viabilidade, seguido de diminuição, enquanto na 6 (com inulina) houve diminuição, dessa forma no 28° dia de armazenamento sua contagem foi menor em 1 log que a formulação 5 (10,98 log UFC g⁻¹).

Para as leveduras (YEC), as formulações integrais 1, 2 e 4 tiveram aumento de viabilidade, e para a formulação 3 a contagem final foi semelhante a inicial, mas ao final do período de estocagem, as formulações com cultura "starter" (3 e 4) apresentaram menores valores (valor médio de 9,16 log UFC g⁻¹) que aquelas com grãos de Kefir (1 e 2) (valor médio de 10,0 log UFC g⁻¹). Todas formulações desnatadas (5, 6, 7 e 8) tiveram aumento do número de leveduras durante o armazenamento. No 28° dia a formulação 8 (com inulina) apresentou contagem de 1 log a menos que a 7 (10,0 log UFC g⁻¹) e as demais valores intermediários.

Para Ertekin e Guzel-Seydim (2010) as contagens de leveduras em bebidas integrais e desnatadas de Kefir sem e com 2% de inulina foram entre 5,3 a 5,6 log UFC mL⁻¹ no 1° dia, e 5,2 a 5,5 log UFC mL⁻¹ no 7° dia de armazenamento.

Irigoyen et al. (2005) observaram maiores contagens de leveduras durante o armazenamento em Kefir adicionados de 5 % de grãos (10⁵ UFC mL⁻¹), enquanto que nas formulações com 1% de grãos verificaram diminuição entre o 14° e 21° dia (10⁵ para 10³ UFC mL⁻¹).

Alguns autores reportaram que prebióticos, como a inulina, são capazes de aumentar a viabilidade de microrganismos probióticos durante a fermentação e estocagem de iogurtes e outros produtos lácteos (ARAYNA, 2007; HOZER; KIRMACI, 2010; MADRIGAL; SANGRONIS, 2007). Neste estudo não foi possível verificar se a inulina influenciou a viabilidade dos microrganismos.

No presente estudo algumas amostras de Kefir desenvolveram forte odor fermentado e bolores na sua superfície a partir do 14° dia de armazenamento,

provavelmente devido à alta acidez das bebidas e a presença de oxigênio nas embalagens.

5.4.4 Coliformes Totais e Coliformes a 45° C

Não foram encontrados coliformes totais e coliformes a 45° C em nenhuma das formulações, no primeiro e no 28° dia de armazenamento, atendendo aos padrões microbiológicos sanitários da resolução RDC 12 da Anvisa (2001). Durante a elaboração das bebidas foram empregadas boas práticas de fabricação e embalagens estéreis para armazenamento, evitando a contaminação por coliformes, além do efeito da microbiota presente nos iniciadores da fermentação. Segundo Garrote, Abraham e Antoni (2001), os ácidos lácticos e acéticos produzidos pelos grãos ou cultura "starter" de Kefir durante o processo de fermentação inibem o desenvolvimento de *Escherichia coli*. Culturas "starter" com bactérias ácido acéticas possuem maior potencial de inibição do que as compostas só com bactérias ácido lácticas e leveduras.

6 CONCLUSÕES

Parte 1: Caracterização química e microbiológica dos grãos e da cultura "starter" de Kefir

- As características químicas dos grãos de Kefir utilizados são semelhantes às relatadas na literatura. Os grãos possuem maior número de bactérias e leveduras que a cultura "starter", porque as bactérias e leveduras se desenvolvem de acordo com o meio e as condições de manutenção desses grãos, enquanto, as culturas são compostas por microrganismos selecionados;

Parte 2: Caracterização química, física e microbiológica das bebidas não adoçadas de Kefir

- O tipo de leite UHT (integral ou desnatado), a quantidade de leite em pó adicionada, a presença ou não de inulina e o tipo de iniciador da fermentação (grãos ou cultura "starter") interferem nas características químicas, físicas, microbiológicas e sensoriais das bebidas;
- A inulina Raftiline HP não é hidrolisada durante o processo de fermentação; e não resulta em alteração de cor e contagens de bactérias e leveduras, mas exercem influência na firmeza e viscosidade das bebidas;
- O teor de gordura do leite influencia a cor, teor de lactose, firmeza, sinérese e viscosidade, e não exerce influência nas contagens de bactérias e leveduras das bebidas;
- Os iniciadores da fermentação (grãos ou cultura) afetam a firmeza, a viscosidade, e o pH das formulações, mas não exercem influência na acidez, teor de lactose, cor, sinérese e contagem microbiológica.

Parte 3: Caracterização física e sensorial das bebidas adoçadas de Kefir

- A adição de sacarose e homogenização diminuem a firmeza e a viscosidade das bebidas;
- O teor de gordura do leite influencia as características sensoriais de cor, textura granulosa, cremosidade, viscosidade, aroma e gosto ácido. Os iniciadores da fermentação influenciam a consistência, cremosidade, aroma doce e gosto doce das bebidas. A presença de inulina não exerce influência significativa;
- A formulação integral adicionada de inulina e fermentada com cultura "starter" foi a mais aceita sensorialmente e a desnatada fermentada com grãos de Kefir a menos aceita.

Parte 4: Coportamento químico, físico e microbiológico das bebidas não adoçadas durante o armazenamento refrigerado a 4°C

- ocorre o processo de pós-acidificação, por meio do consumo de lactose e formação ácido. Como consequência da formação de ácido há aumento de firmeza e sinérese, e queda de viscosidade dos Kefir. Tais eventos são mais acentuados nas formulações fermentadas com grãos do que com cultura. Dessa forma, a utilização de cultura "starter" resulta em Kefir com características químicas e físicas mais estáveis, durante o período de armazenamento, do que as produzidas com grãos;
- a ação da inulina sobre a viabilidade dos microrganismos textura e acidez das bebidas é pouco evidente. A degradação da inulina é menor que 10 % e as bebidas ainda podem ter efeito prebiótico para os consumidores.
- nas formulações desnatadas de kefir, as alterações na textura são mais perceptíveis;
- ocorre pequena variação no número de bactérias ácido lácticas e ácido acéticas e aumento de leveduras. A contagem dos diferentes microrganismos situa-se entre 10^8 a 10^{13} UFC g⁻¹, sendo suficiente para ter ação probiótica ao consumidor. A viabilidade dos microrganismos independe do iniciador da fermentação (grãos ou cultura "starter") do Kefir.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, A. G.; ANTONI, G.L. Characterization of Kefir grains grown in cows milk and in soya milk. **Journal of Dairy Research**, v.66, p.327-333, 1999.
- ACHANTA, L.R.; ARAYANA, K.J.; BOENEKE, C. A. fat free plain set yogurts fortified with various minerals. **LWT- Food Science and Technology**, v. 40, n.3, p.424-429, 2007.
- AKALIN, A. S.; FENDERYA, S.; AKBULUT, N. Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. **International Journal of Food Science and Technology**, v.39, n.6, p.613-621, 2004.
- AKIN, M.B.; AKIN, M. S.; KIRMACI, Z. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. **Food Chemistry**, v.104, p.93-99, 2007.
- APÓRTELA-PALACIOS, A.; SOSA-MORALES, M.E.; VÉLEZ-RUIZ, J. F. Rheological and physicochemical behavior of fortified yogurt, whit fiber and calcium. **Journal of Texture Studies**, v.36, n.3, p.333-349, 2005.
- ANFITEATRO, D.N. **Kefir Grains**. The essential Manual, 2008. S7p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (AOAC). **Official methods of analysis of AOAC**. 16. ed. Arlington, v.2, 1995.
- ARAYANA, K. Folic acid fortified fat-free plain set yogurt. **International Journal of Dairy Technology**, v.56, n.4, p.219-222, 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e da Reforma Agrária, Resolução nº5 de 13 de novembro de 2000. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2000. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=109>>. Acesso em: 30 ago. 2009.
- BRASIL, Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. 2001. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em: 30 ago. 2009.
- BRASIL, Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº02 de 07 de janeiro de 2002. Aprova Regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional ou de saúde. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. 9 jan. 2002. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=1567&word=>>>. Acesso em: 30 ago. 2009.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e da Reforma Agrária, Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Anexo I-Métodos Analíticos Oficiais para análises microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e água. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851> . Acesso em: 30 ago. 2009.

BRASIL, Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. **Atualizado em agosto de 2007**. IX - Lista das alegações de propriedades funcionais aprovadas. Disponível em: < http://anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 30 ago. 2009.

BISSOLI, M.C. **Respostas lipídêmicas de coelhos à ingestão de ração suplementada com quefir**. 2005. 48 f. Dissertação. (Mestrado em Ciência Animal) – Unifenas. Alfenas, MG, 2005.

BRANDÃO, S. C. C. Novas gerações de produtos lácteos funcionais. **Indústria De Laticínios**, p. 64-66, 2002.

BRENNAN, C.S.; TUDORICA, C.M. Carbohydrate-based fat replaces in the modification of the rheological, textural and sensory quality of yoghurt: comparative study of the utilization of barley beta-glucan, guar gum and inulin. **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, n.5, p.824-833, 2008.

BURITI, F.C.A. et al. Probiotic potential of minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. **Food Science and Technology- LWT**, v.38, n.2, p.173-180, 2005.

BURITI, F.C.A.; CARDARELLI, H.R.; SAAD, S.M.I. Textura instrumental e avaliação sensorial de queijo cremoso simbiótico: implicações da adição de *Lactobacillus paracasei* e inulina. **Revista Brasileira de Ciência Farmacêutica**, v. 44, n.1, p. 75-84, 2008.

CARABIN, I.G.; FLAMM, W.G. Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v.30, p.268-282, 1999.

CARDARELLI, H. R. et al. Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially symbiotic petit-suisse cheese. **LWT- Food Science and Technology**, v.41, n.6, p.1037-1046, 2008.

CHAMMAS, I. G.; SALIBA, R.; BEAL, C. Characterization of the fermented milk "laban" with sensory analysis and instrumental measurements. **Journal of Food Science**, v.71, n.2, p.156-162, 2006.

COPPOLA, M.M.; TURNES, G. Probióticos e resposta imune. **Ciência Rural**, v.34, n.4, p.1297-1303, 2004.

COUSSEMENT, P.A.A. Inulin and oligofructose: safe intakes and legal status. **Journal Nutrition**, v.129, p.1412-1417, 1999.

DAMÁSIO, M. H; COSTELL, E. Analysis sensorial descriptive: generation de descriptors y selection de catadores. **Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos**, v.31, n.2, p.165-178, 1991.

DALLA SANTA, O. R. et al. Obtenção e avaliação sensorial de bebida láctea fermentada com grãos de Kefir. **XVIII Seminário de Pesquisa - Unicentro**, Guarapuava. 2006.

DELLO STAFOLLO, M. et al. Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological frozen yogurt characteristics. **International Dairy Journal**, v.14, n.3, p. 263-268, 2004.

EL-NAGAR, C. G. et al. Rheological quality and stability of yog-ice cream with added inulin. **International Journal of Dairy Technology**, v. 55, n. 2, p. 89-93, 2002.

ERTEKIN, B.; GUZEL-SEYDIM, Z. Effect of fat replaces on kefir quality. **Journal of Science Food Agriculture**, Society of Chemical Industry, p.1-6, 2010.

FAO / AGNS. **FAO Technical Meeting Report on Prebiotics**. 2007. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/agns/files/Prebiotics_Tech_Meeting_Report.pdf>. Acesso em: 07 set. 2010.

FARNWORTH, E.D.; MAINVILLE, A. Kefir-A Fermented milk product. **Handbook of Fermented Functional Foods Functional Foods and Nutraceuticals Series**. 2 ed. n. 4, p. 89-128, 2008.

FOOKS, L.J.; FULLER, R.; GIBSON, G.R. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. **International Dairy Journal**, v.9, p. 53- 61, 1999.

FRANCK, A. Technological functionality of inulin and oligofructose. **Journal of Nutrition**, v.87, n.2, p.287-291, 2002.

FUCKS, R. H.B. **logurte de soja suplementado com oligofrutose e inulina**. 2004. 100p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2004.

FUCKS, R. H. B. et al. logurte de soja suplementado com oligofrutose e inulina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n. 1, p. 175-181, 2005.

GARCIA FONTAN, M. et al. Microbiological and chemical changes during the manufacture of Kefir made from cows' milk, using a commercial starter culture. **International Dairy Journal**, v.16, p.762-767, 2006.

GARROTE, G. L.; ABRAHAM, A.G.; ANTONI, G.L. Characteristics of Kefir prepared with different grain: milk ratios. **Journal of Dairy Research**, v.65, p.149-154, 1998.

GARROTE, G. L.; ABRAHAM, A.G.; ANTONI, G.L. Preservation of Kefir, a comparative study. **LWT- Food Science and Technology**, v.30, p.77-84, 1997.

GARROTE, G. L.; ABRAHAM, A.G.; ANTONI, G.L. Chemical and microbiological characterization of Kefir grains. **Journal of Dairy Research**, v.68, p.639- 652, 2001.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v.125, p.1401-1412, 1995.

GIBSON, G.R. et al. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Reviews**, v.17, p. 259-275, 2004.

GONZÁLEZ-TOMÁS, L. et al. Rheology, flavor release and perception of low-fat dairy desserts. **International Dairy Journal**, v.18, p.858-866, 2008.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tecnológicas. **Boletim de tecnologia da sociedade Portuguesa**, n. 64, p. 12-21, 1999.

GORBACH, S. L. The discovery of L. GG. **Nutrition Today**, v.31, p. 2- 4, 1996.

GUGGISBERG, D. et al. Rheological, microstructural and sensory characterization of low-fat and whole milk set yogurt as influenced by inulin addition. **International Dairy Journal**, v.19, n.2, p.107-115, 2009.

GUVEN, M. et al. The effect of inulin as fat replacer on the quality of set-type low-fat yogurt manufacture. **International Journal of Dairy Technology**, v.58, n.3, p.180-184, 2005.

GUZEL-SEYDIM, Z. et al. Turkish kefir and kefir grains: microbial enumeration and electron microscopic observation. **Internacional Journal of Dairy Technology**, v.58, n.1, 2005.

HAULY, M. C. O; MASCATTO, J.A. Inulina e oligofrutoses: uma revisão sobre propriedades funcionais, efeito prebiótico e importância na indústria de alimentos. **Revista da Nutrição**, v.23, n.1, p.105-118, 2002.

HLASTAN-RIBIC, C.; POKORNA, D.; ZEBIC, A. Effects of Kefir containing various levels of fat on chemically induced colorectal epithelial tumors in Wistar rats. **Nutrition Research**, v. 63, p.55-56, 2005.

HOZER, B.; KIRMACI, H. A. Functional milks and dairy beverages. **International Journal of Dairy Technology**, v.63, n. 1, 2010.

INTERNATIONAL FOOD INFORMATION COUNCIL FOUNDATION- IFIC. **Alimentos funcionales**, 2005. Disponível em:<
<http://www.ific.org/sp/nutrition/functional/index.cfm>>. Acesso em: 15 set. 2009.

IRIGOYEN, A. et al. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. **Food Chemistry**, v.90, p.613-620, 2005.

JAWORSKA, D. et al. Relative importance of texture properties in the sensory quality and acceptance of natural yogurt. **International Journal of Dairy Technology**, v.58, n.1, p.39-46, 2005.

JANHOJ, T. et al. Sensory and rheological of acidified milks drinks. **Food Hydrocolloids**, v.22, n.5, p. 798-806, 2008.

KAILASAPATHY, K. Survival of free encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yogurt. **LWT- Food Science and Technology**, v.39, p.1221-1227, 2006.

KILIQ,S. et al. Chemical, microbiological and sensory changes in ripening Kefirs produced from starters and grains. **Ziraat Fakultesi Dergisi Cilt**, v.36, p.111-118, 1999.

KIM, Y.; FAQI, M. N.; WANG, S. S. Factors affecting gel formation of inulin. **Carbohydrate Polymers**, v.46, n.2, p.135-145, 2001.

LAWLESS, H.T.; HEYMANN, H. **Sensory evaluation of food: principles and practices**. 1998. 819p.

LEE, M.Y. et al. Anti-inflammatory and anti-allergic effects of Kefir in a mouse asthma model. **Immunobiology**, v.212, p.647-654, 2007.

LI, D.; KIM,J.M.; ZHOU, J. Probiotic effectiveness of inulin extracts from edible burdock, **Food Microbiology**, v. 14, p 29-30, 2008.

LIONG, M. T.; SHAH, N.P. Optimization of growth of *Lactobacillus casei* ASCC 292 and production of organic acids in the presence of fructooligosaccharide and maltodextrin. **Journal of Food Science**, v. 70, n.2, p. 113-120, 2005.

LUCEY,J.A.; TAMEHANA,H.; SINGH & MUNRO. A compararison of the formation, rheological properties and microstructure of acid skim milk gels made with a bacterial culture of glucono-5-lactone. **Food Research International**, v.31, n.2, p.147-155, 1998.

MADRIGAL, L.; SANGRONIS, E. La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. **Archives Latin-Americans de Nutrition**, v. 57, n. 4, p. 387-396, 2007.

MAISUTHISAKUL, P.; HARNASILAWAT, T. Effect of pH and sucrose on physical properties of drinking yoghurt stabilized by whey protein concentrate. **Journal of Agricultural**, v.57, n.4, p.387-396, 2008.

MARTINS, F. S. et al. Utilização de leveduras como probióticos. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, v. 5, n. 2, p. 1-13, 2005.

MAYEUX, J.V.; COLMER, C.A. **Selective Medium For Leuconostoc Detection**, p. 1009-1011, 1961.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory Evaluation Techniques**. 3. ed. 1998. 386p.

MEGAZYME. Disponível em: <www.megazyme.com>. Acesso em: 03 nov. 2009.

MODLER, H. W. et al. Physical and sensory properties of yogurt stabilized with milk proteins. **Journal of Dairy Science**, v.66, n.3, p.422-429, 1983.

MOSKOWITZ, H.R. Product testing and sensory evaluation of food-marketing and R&D approaches, Westport. **Food and Nutrition Press**, 1983. 605p.

MORAES F. P.; COLLA L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.3, n.2, p.99-112, 2006.

MURPHY, O. Non-polyol low-digestible carbohydrates: food applications and functional benefits. **British Journal of Nutrition**, v.85, n.1, p.47-53, 2001.

OLIVEIRA, M. N.; DAMIN, M.R. Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em Leite Fermentado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 172-176, 2003.

OLIVEIRA, R.A. et al. Otimização de extração de inulina de raízes de chicória. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 6, n. 2, p.140, 2004.

ORAFTI - ACTIVE FOOD INGREDIENTS. **Application File: Fermented Dairy Products Doc A89-90*01/99**. Belgium, 1999. 10p.

ORDONEZ, J.A. **Tecnologia de Alimentos - Alimentos de Origem Animal**. v.2, Artmed, 2005. 279p.

OTLES S. AND CAGINDI O. Kefir: a probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. **Food Engineering Department**, v.2, p.54-59, 2003.

PASEEPHOL, T.; SMALL, D.M.; SHERKAT, F. Rheology and texture of set yogurt as affected by inulin addition. **Journal of Texture Studies**, v.39, p.617-634, 2008.

PIERMARIA, J. A.; CANAL, M. L.; ABRAHAM, A. G. Gelling properties of kefirin, a food-grade polysaccharide obtained from kefir grain. **Food Hydrocolloids**, p.1-8, 2007.

PIMENTEL, T.C. **Iogurte Probiótico com Inulina como Substituto de Gordura**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009, 178p.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**, v.34, n. 2, p.105-10, 2002.

ROBINSON, K. R. The potential of inulin as a functional ingredient. **British Food Journal**, v.97, n.4, p.30-32, 1995.

ROMANIN, D. et al. Down-regulation of intestinal epithelial innate response by probiotic yeasts isolated from kefir. **International Journal of Food Microbiology**, v.140, p.102-108, 2010.

ROSENTHAL, A.J. **Food Texture: measurement and perception**. Aspen Publishers, 1999. 311p.

SACCO. Disponível em: <www.saccosrl.it>. Acesso em: 20 mar. 2010.

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

SAS Institute Inc. (1989). PC - SAS Version 6.0. Cary, NC: Statistical Analysis System Institute.

SILVA, R. F. Use of inulin as a natural texture modifier. **Cereal Foods World**, v.41, n.10, p.792-795, 1996.

STATSOFT, STATISTICA for Windows - Computer program manual. Tulsa: Statsoft Inc., 2004.

STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory Evaluation Practices**. 3. ed. Academic Press, New York, NY. 2004. 408p.

TAMIME, A.Y. Fermented milks: a historical food with odern applications: a review. **European Journal Nutriton**, v.56, n.4, p.2-15, 2002.

TIETZE, H. W. **Kefir for pleasure, beauty and well being**, 1996. 100p.

TOMELIN, B.; PEIL, J.S.; PEPLAU, P. Avaliação das características físico-químicas de leite fermentado ácido-alcoólico: kefir natural e suas principais diferenças em relação ao iogurte natural. **Revista Higiene Alimentar**, v. 2, p. 1-7, 2006.

TONELI, J. T. C.L.; PARK, K.J. Efeito da umidade sobre a microestrutura da inulina em pó. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.38, p.122- 131, 2008.

YAZICI, F.; AKGUN, A. Effect of some protein based fat replaces on physical, chemical, textural and sensory proprieties of strained yogurt. **Journal of Food Engineering**, v.62, n.3, p.245-254, 2004.

ZAJSEK, K.; GORSEK, A. Effect of natural starter culture activity on ethanol content in fermented dairy products. **International Journal of Dairy Technology**, v.63, p. 1-6, 2009.

ZUBILLAGA, M. et al. Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. **Nutrition Research**, v.21, p.569-579, 2001.

WILDERNESS FAMILY NATURALS. Disponível em:
<<http://www.wildernessfamilynaturals.com>>. Acesso em: 03 maio 2010.

WITHUHN, R. C.; SCHOMENAN, T.; BRITZ, T. J. Characterization of microbial population at different stages of Kefir production and Kefir grain mass cultivation. **International Dairy Journal**, v.15, p.383-389, 2005.

WROBLEWSKA, B. et al. Influence of the addition of transglutaminase on the immunoreactivity of milk proteins and sensory quality of Kefir. **Food Hydrocolloids**, v.23, p.2334-2445, 2009.

WSZOLEK, M. et al. Properties of Kefir made in Scotland and Poland using bovine, caprine and ovine milk with different starter cultures. **Food Science and Technology- LWT**, v.34, p.251-261, 2001

ANEXOS

ANEXO A – INFORMACÕES TÉCNICAS DA CULTURA STARTER DE KEFIR



Lyofast MT 036 LV

Technical sheet



Description **Lyofast MT 036 LV** is a undefined culture consisting of strains of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* spp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* to ensure a uniform and controlled production of fermented milk like Kefir.

General information Please see the general information sheet accessible on www.saccosrl.it about explanatory remarks to the items mentioned. Furthermore, you will find information about specifications, GMO, allergens, package data, storage, shelf life, safety information, Kosher and ISO certificates, and service.

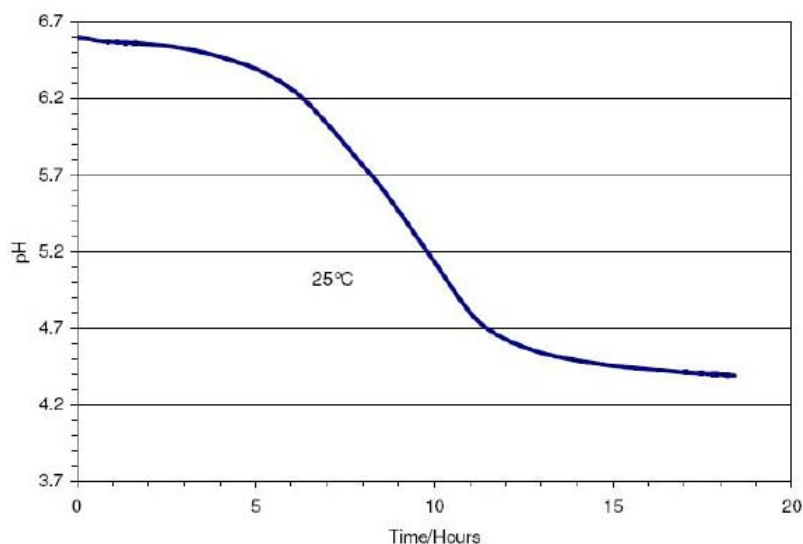
Application The following may be used as inoculation guidelines:

Product examples	Inoculation level UC/100 l
Fermented milk like Kefir	1-3

Acidification information

Acidification profile


Inoculation level corresponding to 1 UC per 100 litres milk.



Standard activity

Expressed as temperature/time/pH relations: 25°C/15 hours/pH 4.5 ± 0.1.

ANEXO B – INFORMAÇÕES TÉCNICAS DA INULINA HP, ORAFTI



Product Sheet

Orafti® HP

DOC.A4-05*09/07

Description

Orafti® HP is a High Performance Inulin. It is a food ingredient consisting of chicory inulin, from which the smaller molecules were removed (patent pending).

chicory inulin is a mixture of oligo- and polysaccharides which are composed of fructose units linked together by $\beta(2-1)$ linkages. Almost every molecule is terminated by a glucose unit. The total number of fructose or glucose units (= Degree of Polymerisation or DP) of chicory inulin ranges mainly between 2 and 60.

Compositional Specifications

All values expressed on dry matter.
Analytical Methods : see our Technical Brochures.

Inulin	> 99.5 %
Inulin DP ≥ 5	≥ 99 %
Glucose + fructose + sucrose	≤ 0.5 %
Dry Matter (d.m.)	97 ± 1.5 %
Carbohydrate content	> 99.5 %
Average DP of the inulin	≥ 23
Ash (sulphated)	< 0.2 %
Conductivity (15 Brix)	< 250 μ S
Heavy Metals	Pb, As each < 0.1 mg/kg Cd, Hg each < 0.01mg/kg
pH (10°Brix)	5.0 - 7.0

Microbiological Specifications

All values expressed on dry matter.
Analytical Methods : see our Technical Brochures.

Mesophilic bacteria - total count	max. 1000/g
Yeasts	max. 20/g
Moulds	max. 20/g
Thermophilic aerobic spores	max. 1000/g
Anaerobic H ₂ S producing thermophilic spores	max. 25/g
Enterobacteriaceae	absent in 1 g
Bacillus cereus	max. 100/g
Staphylococcus aureus	absent in 1 g
Escherichia coli	absent in 1 g
Clostridium perfringens	absent in 1 g
Clostridium botulinum	absent in 1 g
Salmonella	absent in 100 g
Listeria	Absent in 25 g

HP A4-05-09-07.doc 1/2

Labelling

All values are average values expressed per 100 g commercial product.

Carbohydrates	0 (97 ¹⁾)	Gluten	absent
Sugars	0	Lactose	absent
Dietary Fibre ²⁾	97	Milk/meat/egg components	absent
Protein	absent	Seed/soy components	absent
Fat	absent	Insecticides, pesticides	absent
Vitamins and Minerals	Negligeable	Nuts, nut components	absent
Caloric value ³⁾	97 kcal/407 kJ	Colza	absent
Broteinheite ⁴⁾	0	Other allergens	absent
		Enzymatic activity	absent
		Folate	absent

N.D. = Not Detectable N/A = Not Applicable

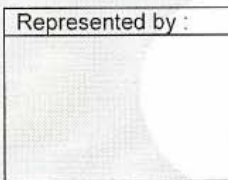
1) including dietary fibre

2) measured by AOAC Method 997.08

3) based on a caloric value of 1 kcal/g for pure inulin. To be adapted to local regulations.

4) in accordance with German regulations.

Other Information (see also our Technical Brochures)

Aspect	Fine white granulated powder	
Behaviour	Hygroscopic	
Taste	Neutral, not sweet, without aftertaste	
Solubility in water	20 g/l at 25°C - 300 g/l at 90°C	
Wettability in water	Good.	
Dispersability in water	Requires stirring.	
Properties and Applications	See our Technical Brochures.	
Particle Sizes	See document " Particle Sizes".	
Density	Approx. 490 ± 40 g/l	
Labelling - Ingredients List	Inulin	
Safety	Safe. Not toxic. Not dangerous. Excessive consumption may cause laxative effects. Is, like other fine powders, when mixed with air and ignited, capable of causing an explosion.	
Packaging	Paper bags on pallets, see 'Packaging Sheet Powders'	
Optimal storage conditions	Cool and dry, in its original airtight packaging.	
Maximum durability	See packaging (minimum 18 months upon delivery)	
Transport conditions	According to document 'Transport Conditions'	
Irradiation	Not irradiated	
GMO	Not containing GMOs or GMO-derived components. Not produced using GMO-based technology.	
Kosher	Certified, Orthodox Union	Represented by : 
Halal	Certified, Halal Feed and Food Inspection Authority	
Plant origin	Suitable for vegetarians & vegans	
Produced by	BENE0-Orafti – see address on packaging label	

To the best of our knowledge, this information is reliable but should not be considered as a warranty of any kind.
Specifications might be subject to change without notice

ORAFI SA
Rue L. MARECHAL 1
B-4360 OREYE - BELGIUM

Attention of : MARTA GHIZZI
Customer : CLARIANT SA

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Date of shipping : 21.09.2007
Ship to : CLARIANT SA
Product : 42002012 BENE0 HP BAG 20KG (800KG)
Batch nr : HPAHR7GJR7(pal. from: 02 to 15)
Best before date : 27.07.2010
Quantity : 20,00 KG **Date of production** : 27.07.2007.

Analysis :		Values	Norms
Specifications:			
ORAFI phys/chem parameters packaged	Dry matter	98.3 %	95.5 - 98.5
	pH	6.1	5.0 - 7.0
ORAFI Spectrometry packaged	Inulin (% DM)	99.9 %	99.6 - 100.0
	Glucose+fructose+sucrose(%DM)	0.1 %	0.0 - 0.5
ORAFI Microbiology	Total count/(g d.m.)	12	0 - 1000
	Yeasts/(g d.m.)	8	0 - 20
	Moulds/(g d.m.)	0	0 - 20

Customer note:

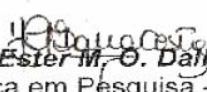
Customer note for material:

Quality Department

**ANEXO C – APROVAÇÃO DO PROJETO DE DISSERTAÇÃO PELO COMITÊ
DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS DA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA**



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS
Universidade Estadual de Londrina/ Hospital Universitário Regional Norte do Paraná
Registro CONEP 268

PARECER CEP N° 183/08 CAAE N° 0177.0.268.000- 08	Londrina, 04 de março de 2009.
PESQUISADOR(A): SANDRA HELENA PRUDENCIO	
<p>Ilmo(a) Sr(a)</p> <p>O "Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina/ Hospital Universitário Regional Norte do Paraná" de acordo com as orientações da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS e Resoluções Complementares, APROVA a execução do projeto:</p> <p>"ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL DO KEFIR COM ADIÇÃO DE INULINA"</p> <p>Informamos que a Sr(a) deverá comunicar, por escrito, qualquer modificação que ocorra no desenvolvimento da pesquisa, bem como deverá apresentar ao CEP/UEL relatório final da pesquisa.</p>	
Situação do Projeto: APROVADO	
<p align="center">Atenciosamente,</p> <p align="center">  Prof. Dra. Ester M. O. Dalla Costa Comitê de Ética em Pesquisa - CEP/UEL Coordenadora </p>	

ANEXO D – FICHA DE RECRUTAMENTO DE PROVADORES OU JUGADORES PARA TESTE SENSORIAL DESCRITIVO E TERMO DE CONSENTIMENTO

QUESTIONÁRIO PARA RECRUTAMENTO DE PROVADORES OU JULGADORES (Teste descritivo)

Você já deve ter ouvido falar de julgadores profissionais de vinhos que diferenciam vinhos de safras diferentes apenas pelo odor. O que torna esses julgadores capazes de tal façanha é, principalmente, o treinamento que eles recebem.

Neste momento, desejamos formar uma equipe treinada de julgadores, capacitada para medir a intensidade das características sensoriais (aparência, sabor, aroma e textura) de Kefir. Ser um julgador não tomará muito de seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. A equipe de julgadores se reunirá semanalmente, por um período de 30 minutos, no Laboratório de Análise Sensorial do DCTA. Esperamos que os julgadores tenham disponibilidade para participar da equipe por cerca de 6 (seis) meses.

Se você deseja participar da equipe de julgadores, por favor, preencha este formulário.

Se você tiver alguma dúvida, ou necessitar de informações adicionais, não hesite em entrar em contato com Flávia (tel: 9936-6274, e-mail: flamontanuci@yahoo.com.br) ou Profa. Sandra Helena (tel: 3371-4080, e-mail: sandrah@uel.br).

Dados Pessoais:

Nome _____

Telefone _____ trabalho _____

Telefone casa _____

Email _____

Horários e dias da semana disponíveis para participar do treinamento:

1. Faixa etária:

- () 15-25
() 25-35
() 35-50
() acima de 50 anos

2. Sexo:

- () masculino
() feminino

3. Ocupação:

- () aluno _____
() funcionário _____
() professor _____
() outro _____

4. Escolaridade:

- () 1º grau _____
() 2º grau _____
() 3º grau _____
() outro _____

5. Indique o quanto você aprecia cada um destes produtos:

	Gosto	Nem gosto/Nem desgosto	Não gosto	Nunca provei
logurte				
logurte com fibras				

6. Já teve a oportunidade de experimentar Kefir? ? () Sim () Não

7. Já participou de algum teste sensorial? () Não () Sim

De que tipo? Aceitação () Discriminativo () Descritivo ()

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(Teste Descritivo)**

Eu, _____, declaro que fui satisfatoriamente esclarecido pelo pesquisador, em relação à minha participação no projeto de pesquisa “Elaboração e Caracterização Físico-Química, Microbiológica e Sensorial de Kefir adicionado de Inulina”, na qualidade de provador ou julgador do produto. Sei que a função da equipe de julgadores é, durante as sessões de avaliações previamente agendadas, medir a intensidade das características sensoriais de aroma, gosto, sabor e textura em amostras de *Kefir*. Para tanto, antes da etapa de avaliação, os julgadores serão selecionados e treinados em avaliar tais amostras. Fui informado de que os *Kefir* serão produzidos a partir de leite integral ou desnatado e adicionados de inulina, tendo inteira consciência de que a ingestão de tais produtos não trará nenhum risco à minha saúde. Estou ciente de que minha participação na equipe será por um período aproximado de seis meses, conforme descrito no **Questionário para Recrutamento de Julgadores**, em anexo, que respondi por desejar participar desta equipe sensorial.

Entendo que poderei, a qualquer momento, entrar em contato com o pesquisador responsável (tel. trab.: 3371-4080, tel. res.: 3321-1856) e/ou com o Comitê de Ética (tel: 3371-4417), caso haja algum efeito inesperado que possa prejudicar meu estado de saúde físico e/ou mental. Entendo também que poderei deixar de participar da pesquisa em qualquer fase, que minha participação não envolverá quaisquer custos, e que, ao participar, estarei colaborando para o desenvolvimento de uma dissertação de mestrado e o aperfeiçoamento de um profissional. Além disso, não coloco qualquer objeção quanto ao uso dos dados originados neste projeto para fins didáticos e de divulgação em revistas científicas brasileiras ou estrangeiras.

Desta forma, sem ter sido submetido a qualquer tipo de pressão ou coação, concordo voluntariamente e expresso meu total consentimento em participar do projeto.

Londrina, _____ de _____ de 200____.

Assinatura do Participante

Telefone/e-mail:

Assinatura do Pesquisador
Responsável

(Profa. Dra. Sandra Helena Prudêncio)
telefone/e-mail:3371-4080/
sandrah@uel.br

Lab. Análise Sensorial do DCTA/CCA/UEL

ANEXO E – FICHA DE RECRUTAMENTO DE PROVADORES OU JULGADORES PARA TESTE DE ACEITAÇÃO E TERMO DE CONSENTIMENTO

QUESTIONÁRIO PARA RECRUTAMENTO DE PROVADORES OU JULGADORES (Teste de Aceitação)

Desejamos formar uma equipe de julgadores ou provadores para avaliar a aceitação de Kefir. As amostras serão produzidas a partir de leite integral ou desnatado, culturas de bactérias fermentadoras e adicionadas de inulina (fibra alimentar). Ser um julgador não tomará muito seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. A prova será realizada no Laboratório de Análise Sensorial do DCTA, leva em torno de 15 minutos e você poderá fazê-la no horário em que tiver maior disponibilidade.

Se você deseja participar do teste, por favor, preencha este formulário.

Se você tiver alguma dúvida, ou necessitar de informações adicionais, não hesite em entrar em contato com Flávia (tel: 9936-6274, e-mail: flamontanuci@yahoo.com.br) ou Profa. Sandra Helena (tel: 3371-4080 ou 3321- 1856, e-mail: sandrah@uel.br).

Dados Pessoais:

Nome _____

Telefone _____ Telefone casa _____

E-mail _____

1. Faixa etária:

- () 15-25
 () 25-35
 () 35-50
 () acima de 50 anos

2. Sexo:

- () masculino
 () feminino

3. Ocupação:

- () aluno _____
 () funcionário _____
 () professor _____
 () outro _____

4. Escolaridade:

- () 1º grau
 () 2º grau
 () 3º grau
 () outro _____

5. Gosta de *iogurte*? () Sim () Não

7. Frequência de consumo de *iogurte*:

- () Nunca
 () Ocasionalmente - _____ vezes por ano
 () Moderadamente - _____ vezes por mês
 () Frequentemente - _____ vezes por semana

8. Frequência de consumo de *iogurte* com fibras:

- () Nunca
 () Ocasionalmente - _____ vezes por ano
 () Moderadamente - _____ vezes por mês
 () Frequentemente - _____ vezes por semana

9. Já teve a oportunidade de experimentar Kefir, um fermentado de leite que se parece com *iogurte*? () Sim () Não

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(Teste de Aceitação)**

Eu, _____, declaro que fui satisfatoriamente esclarecido pelo pesquisador, em relação à minha participação no projeto de pesquisa “Elaboração e Caracterização Físico-Química, Microbiológica e Sensorial de Kefir com Inulina”, na qualidade de provador ou julgador do produto. Sei que a função dos julgadores é avaliar o quanto gostou das amostras de *Kefir* fornecidas durante a sessão de avaliação previamente agendada. Fui informado de que o “Kefir” é um produto fermentado de leite, que será produzido a partir de leite integral ou desnatado, culturas de bactérias fermentadoras e adicionados de inulina (fibra alimentar), e que a ingestão de tal produto não trará nenhum risco à minha saúde por se tratar de um alimento seguro. Estou ciente de que minha participação no teste irá requerer apenas 15-20 minutos, conforme descrito no **Questionário para Recrutamento de Julgadores**, em anexo, que respondi por desejar participar desta equipe sensorial.

Entendo que poderei, a qualquer momento, entrar em contato com o pesquisador responsável (tel. trab: 3371-4080 ou tel. res. 3321-1856) e/ou com o Comitê de Ética (fone 3371-4417), caso haja algum efeito inesperado que possa prejudicar meu estado de saúde físico e/ou mental. Entendo também que poderei deixar de participar da pesquisa em qualquer fase, que minha participação não envolverá quaisquer custos, e que, ao participar, estarei colaborando para o desenvolvimento de uma dissertação de mestrado e o aperfeiçoamento de um profissional. Além disso, não coloco qualquer objeção quanto ao uso dos dados originados neste projeto para fins didáticos e de divulgação em revistas científicas brasileiras ou estrangeiras.

Desta forma, sem ter sido submetido a qualquer tipo de pressão ou coação, concordo voluntariamente e expresse meu total consentimento em participar do projeto.

Londrina, _____ de _____ de 200 ____.

Assinatura do Participante
Telefone/e-mail:

Assinatura do Pesquisador Responsável
(Profa. Dra. Sandra Helena Prudêncio)
telefone/e-mail:3371-080/sandrah@uel.br
Lab. Análise Sensorial do DCTA/CCA/UDEL