



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE  
ALIMENTOS



PEDRO PAULO LORDELO GUIMARÃES TAVARES

**ELABORAÇÃO DE KEFIR NÃO LÁCTEO COM REDUZIDO VALOR CALÓRICO  
A PARTIR DE SUCOS MISTOS DE FRUTAS TROPICAIS**

SALVADOR - BA  
2019

PEDRO PAULO LORDELO GUIMARÃES TAVARES

**ELABORAÇÃO DE KEFIR NÃO LÁCTEO COM REDUZIDO VALOR CALÓRICO  
A PARTIR DE SUCOS MISTOS DE FRUTAS TROPICAIS**

Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Maria Eugênia de Oliveira Mamede  
Coorientadora: Dr<sup>a</sup>. Karina Teixeira Magalhães-Guedes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia - Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do grau de Mestre.

SALVADOR - BA  
2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

## TERMO DE APROVAÇÃO

PEDRO PAULO LORDELO GUIMARÃES TAVARES

ELABORAÇÃO DE KEFIR NÃO LÁCTEO COM REDUZIDO VALOR  
CALÓRICO A PARTIR DE SUCOS MISTOS DE FRUTAS TROPICAIS

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (nível Mestrado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Aprovada em 11 de junho de 2019.

### BANCA EXAMINADORA

---

Dr<sup>a</sup>. Maria Eugênia de Oliveira Mamede  
Universidade Federal da Bahia  
Orientadora

---

Dr. Ferlando Lima Santos  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

---

Dr. Marcelo Andrés Umsza Guez  
Universidade Federal da Bahia

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Tavares, Pedro Paulo Lordelo Guimarães  
ELABORAÇÃO DE KEFIR NÃO LÁCTEO COM REDUZIDO VALOR  
CALÓRICO A PARTIR DE SUCOS MISTOS DE FRUTAS TROPICAIS  
/ Pedro Paulo Lordelo Guimarães Tavares. -- Salvador,  
2019.

67 f. : il

Orientadora: Maria Eugênia de Oliveira Mamede.  
Coorientadora: Karina Teixeira Magalhães-Guedes.  
Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em  
Ciência de Alimentos) -- Universidade Federal da  
Bahia, Faculdade de Farmácia da UFBA, 2019.

1. Kefir brasileiro. 2. vida-de-prateleira. 3.  
Estévia. 4. Bebida simbiótica. 5. Teste de aceitação.  
I. Mamede, Maria Eugênia de Oliveira. II. Magalhães-  
Guedes, Karina Teixeira. III. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família pelo apoio incondicional,

A meus amigos pelas palavras de força e pelas risadas,

Às minhas orientadoras por me auxiliarem neste caminho acadêmico,

Ao PGAlí pelo acolhimento e por acreditar no meu potencial,

A todos os obstáculos que surgiram pelo meu caminho e que me fizeram crescer,

A mim, por conseguir chegar até aqui,

Agradeço.

“A noite é sempre mais escura antes do amanhecer, portanto, nunca desista na presença da escuridão.” (Harvey Dent)

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### CAPÍTULO I

**Figura 1.** Fluxograma de produção de bebida kefir.

**Figura 2.** Estrutura química dos principais frutoligossacarídeos: 1- kestose (A), nistose (B) e frutofuranosil-nistose (C)

**Figura 3.** Estrutura química do esteviosídeo.

**Figura 4.** Folhas e frutos de *Spondias tuberosa* (Umbu).

**Figura 5.** Fruto da *Mangifera indica* L.

### CAPÍTULO II

**Figure 1.** Mean Scores for each beverage in the Preliminary Sensory Acceptance Test.

**Figure 2.** pH (a), Acidity (b), Total Soluble Solids (TSS) (c) and Ascorbic Acid (d) concentrations during the 30 days of shelf life.

**Figure 3.** Lactic Acid Bacteria (a) and Yeast's (b) count per mL and Lactic Acid Bacteria's count (c) per 250 mL during the 30 days of shelf life.

**Figure 4.** L\* (a), a\* (b), b\* (c) and  $\Delta E$  (d) analyses during the 30 days of shelf life.

## LISTAS DE TABELAS

### CAPÍTULO I

**Tabela 1.** Microrganismos oficialmente considerados probióticos no Brasil.

**Tabela 2.** Microrganismos encontrados no grão de kefir brasileiro.

### CAPÍTULO II

**Table 1.** Final Formulations for the kefir beverages.

**Table 2.** Results from the Physicochemical characterization for the two samples with the best acceptance.

**Table 3.** Results from the Acceptance Test and Purchase Intention for the Mixed Fruit Kefir Beverages.



## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	13
1. OBJETIVOS .....	15
1.1. <i>Objetivo Geral</i> .....	15
1.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	15
CAPÍTULO I - REVISÃO DA LITERATURA .....	16
1. ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	17
1.1 Probióticos.....	17
1.1.2 O Kefir .....	19
1.2 Prebióticos.....	21
1.3 Simbióticos.....	23
2. ESTUDO DE VIDA-DE-PRATELEIRA .....	23
3. EDULCORANTES .....	24
4. ANÁLISE SENSORIAL.....	26
5. SUCOS MISTOS DE FRUTAS.....	28
5.1 <i>Spondias tuberosa</i> (UMBU).....	29
5.2 <i>Mangifera indica</i> L. (MANGA).....	30
REFERÊNCIAS .....	31
CAPÍTULO II - Viabilidade de bebidas simbióticas kefir não-lácteas de baixo valor calórico a partir de sucos mistos de frutas tropicais .....	39
RESUMO .....	41
1. Introdução .....	43
2. Material e métodos .....	44
2.1 <i>Preparo dos substratos para fermentação</i> .....	45
2.2 <i>Cultivo dos grãos de kefir</i> .....	45
2.3 <i>Adição dos demais ingredientes</i> .....	45
2.4 <i>Teste de aceitação</i> .....	45
2.5 <i>Composição centesimal</i> .....	46
2.6 <i>Vida-de-prateleira</i> .....	46
2.7 <i>Análise estatística</i> .....	48
3. Resultados e discussão .....	48
4. Conclusão.....	55
Agradecimentos.....	55
Referências.....	56
APÊNDICES.....	66
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	66

APÊNDICE B – Ficha do Teste de Aceitação Sensorial e Intenção de Compra ..... 67

## RESUMO

O kefir é uma bebida fermentada oriunda da Europa oriental. Os substratos fermentativos mais utilizados são leite de vaca e água com açúcar mascavo. Outros substratos têm sido utilizados, como sucos de frutas e extratos vegetais hidrossolúveis, no entanto, são necessários mais estudos para avaliar a viabilidade destas matrizes como novos produtos a serem inseridos no mercado de alimentos. O mercado brasileiro de sucos e néctares prontos para beber está em franca expansão, através da incorporação de sucos mistos de frutas, como umbu e manga, como forma de elaboração de novos sabores para o mercado de alimentos, que também tem focado na obtenção de produtos com reduzido valor calórico. Nesse sentido, a stevia apresenta potencial interessante como edulcorante substituto do açúcar por ser de origem natural e de baixa toxicidade. O objetivo da pesquisa foi avaliar o uso dos grãos de kefir como cultura inicial para bebida kefir simbiótica de baixa caloria baseada em frutas tropicais. A fermentação foi realizada pela inoculação de grãos de kefir em polpas mistas de manga e umbu. Doze formulações foram avaliadas através de uma análise sensorial de aceitação. As duas amostras com maior pontuação foram caracterizadas por cinzas, umidade, proteína, gordura, carboidratos, conteúdo calórico e passaram por um período de 30 dias sob refrigeração (5 ° C) em que as bactérias do ácido láctico, levedura, pH, acidez, cor (L \*, a \*, b \*, ΔE), sólidos solúveis, ácido ascórbico, aceitação sensorial e intenção de compra foram avaliados a cada 10 dias. As duas amostras com maior teor de sacarose / estévia e polpa de frutas foram as mais aceitas pelos provadores. A bebida adoçada com estévia continha teor de calorias estatisticamente inferior. Os resultados mostraram diminuição no pH, vitamina C, alteração de cor e aumento da acidez. Ambas as bebidas apresentaram boa aceitação, não houve diferença estatística para as análises sensoriais até o 20º dia, e ambas as amostras puderam ser consideradas potencialmente probióticas até o final do armazenamento, de acordo com a contagem do BAL. A bebida adocicada com stevia apresentou excelente aceitação em relação à bebida adoçada, indicando resultados potencialmente promissores para a elaboração de novas bebidas simbióticas de baixa caloria.

**Palavras-chave:** Kefir brasileiro, Teste de aceitação, ΔE, Estudo de vida de prateleira, Estévia, Umbu (*Spondias tuberosa*), Manga (*Mangifera indica* L.).

## ABSTRACT

Kefir is a fermented drink from Eastern Europe. The most used fermentative substrates are cow's milk and water with brown sugar. Other substrates have been used, such as fruit juices and water-soluble vegetable extracts, however, further studies are needed to evaluate the viability of these matrices as new products to be inserted in the food market. The Brazilian market for ready-to-drink juices and nectars is expanding, through the incorporation of mixed fruit juices, such as umbu and mango, as a way of elaborating new flavors for the food market, which has also focused on obtaining products with reduced caloric value. In this sense, stevia presents interesting potential as a sweetener substitute sugar because it is of natural origin and low toxicity. The objective of the research was to evaluate the use of kefir grains as the initial culture for symbiotic kefir beverage based on low calorie tropical fruits sweetened with stevia. The fermentation was carried out by the inoculation of kefir grains in mixed mango and umbu pulps. Twelve formulations were evaluated through a sensory acceptance analysis. The two highest-scoring samples were characterized by ash, moisture, protein, fat, carbohydrate, caloric content and went through a 30-day refrigeration period (5 ° C) in which lactic acid bacteria, yeast, pH, acidity, color (L \*, a \*, b \*, ΔE), soluble solids, ascorbic acid, sensory acceptance and purchase intention evaluated every 10 days. The two samples with higher content of sucrose / stevia and pulp of fruit content were the most accepted by the tasters. The stevia-sweetened beverage had statistically lower calorie content. The results showed decrease in pH, vitamin C, color parameters and increase of acidity and ΔE. Both beverages presented good acceptance and there was no statistical difference for the sensorial analyzes until the 20th day, and they could be considered potentially probiotic during the storage period. The drink sweetened with stevia presented promising results in relation to sucrose sweetened drink for the elaboration of new low-calorie symbiotic beverage.

**Keywords:** Brazilian kefir, Acceptance test, Colours, Shelf-life study, Stevia, Umbu (*Spondias tuberosa*), Mango (*Mangifera indica* L.).

## INTRODUÇÃO GERAL

O kefir é uma bebida fermentada oriunda da europa oriental (ALMEIDA et al., 2011). Os grãos de kefir podem ser definidos como uma agregação de leveduras, bactérias ácido-láticas e bactérias ácido-acéticas que convivem em simbiose e são envolvidas por uma matriz de polissacarídeos.

Os substratos fermentativos mais utilizados são leite de vaca e água com açúcar mascavo. Outros substratos têm sido utilizados, como sucos de frutas e extratos vegetais hidrossolúveis, no entanto, são necessários mais estudos para avaliar a viabilidade destas matrizes como novos produtos a serem inseridos no mercado de alimentos. Puerari et al. (2012) elaboraram uma bebida kefir a partir da fermentação da polpa do cacau, o que foi um trabalho promissor, no sentido de favorecer a elaboração de novas bebidas fermentadas com caráter probiótico a um baixo custo utilizando-se de uma matriz tipicamente brasileira.

O mercado brasileiro de sucos e néctares prontos para beber está em franca expansão, acompanhando a tendência mundial de consumo de bebidas saudáveis, convenientes e saborosas. Percebe-se também uma tendência a elaboração de novos sabores de sucos, através da incorporação de sucos mistos, compostos por, ao menos, duas frutas diferentes (BEZERRA et al., 2013). Portanto, sucos mistos de frutas consumidas tipicamente no Brasil, como manga e umbu, apresentam interessantes potenciais como novas matrizes a serem fermentadas por grãos de kefir.

Além disso, os consumidores têm buscado por bebidas com menor teor calórico através do uso de edulcorantes artificiais em substituição à sacarose refinada. Neste sentido, glicosídeos extraídos da folha da *Stevia rebaudiana* apresentam grande potencial no mercado alimentar por ser um edulcorante natural e considerado como seguro, ou GRAS (Generally Recognized as Safe). Weber e Hekmat (2013) avaliaram que o uso de *Stevia* bebida probiótica não comprometeu a contagem de cepa isolada *lactobacillus rhamnosus*, no entanto há escassez de trabalhos que associem kefir com edulcorantes não calóricos.

A elaboração de novas bebidas pela combinação de carboidratos prebióticos com microorganismos probióticos mostra potencial para o mercado de alimentos. Os frutooligossacarídeos (FOS) são considerados como carboidratos prebióticos pelo seu potencial de servir como substrato para bactérias intestinais e para microrganismos

probióticos presentes em produtos alimentícios, quando usados em combinação (FREIRE; RAMOS & SCHWAN, 2017).

Dessa forma, é imprescindível avaliar a viabilidade dos microrganismos probióticos do kefir em um novo substrato fermentativo. Para tanto, o estudo de vida-de-prateleira se faz necessário para identificar o período de potencial probiótico de um produto, pois a legislação brasileira exige uma contagem mínima de células viáveis ao fim de seu tempo de consumo, de  $10^8$  a  $10^9$  UFC/ porção de produto (BRASIL, 2007). Não apenas isso, mas sensorialmente o produto precisa manter-se bem aceito e parâmetros como pH, acidez, sólidos solúveis e variação total de cor podem ser responsáveis pelo comprometimento da aceitação do produto e necessitam ser avaliados. A avaliação desses parâmetros durante o armazenamento do kefir permite o controle da qualidade da bebida.

Portanto, devido à escassez de estudos e considerando a necessidade de avaliar novos substratos fermentativos para elaboração de bebidas kefir, a proposta deste trabalho busca avaliar a estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial de bebidas kefir de sucos mistos de manga e umbu durante um período de 30 dias sob refrigeração ( $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) (refrigeração).

O trabalho está apresentado em dois capítulos, organizados da seguinte forma: Capítulo 1 apresenta revisão bibliográfica contextualizada sobre os temas estudados para desenvolvimento do projeto de dissertação e o Capítulo 2 aborda o estudo de vida-de-prateleira físico-químico (pH, acidez total, sólidos solúveis, L,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $\Delta E$ ), microbiológico (Contagem de bactérias ácido-láticas e leveduras) e sensorial (aceitação sensorial e intenção de compra), além de caracterização nutricional (cinzas, umidade, carboidratos, lipídios e proteínas) de bebidas kefir a partir de sucos mistos de frutas submetidos a temperatura de refrigeração ( $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) por um período de 30 dias.

## 1. OBJETIVOS

### 1.1. *Objetivo Geral*

- Avaliar a viabilidade de elaboração de nova bebida kefir com reduzido teor calórico usando como substratos sucos mistos de frutas.

### 1.2. *Objetivos específicos*

- Avaliar a aceitabilidade sensorial de bebidas kefir elaboradas a partir das frutas umbu (*Spondias tuberosa*) e manga (*Mangifera indica*);
- Avaliar a composição centesimal e o valor calórico (kcal) das bebidas kefir;
- Avaliar a estabilidade físico-química, microbiológica e sensorial das bebidas kefir durante um período de 30 dias sob refrigeração (5 °C).

## **CAPÍTULO I - REVISÃO DA LITERATURA**

---



## 1. ALIMENTOS FUNCIONAIS

Os alimentos funcionais representam uma tendência no mercado de alimentos da atualidade. O cuidado com o consumo de alimentos saudáveis, a preocupação na saúde e as comprovações científicas de benefícios do seu uso podem ser fatores que justificam a venda crescente de alimentos funcionais. (RAUD, 2008; BALDISSERA et al., 2011). Algumas definições para alimentos funcionais foram propostas no meio científico, a exemplo de Lajolo (2002) que descreve alimento funcional como aquele que possui função nutricional e aparência semelhante com o convencional, mas que, por outro lado, é capaz de resultar em efeitos no organismo do consumidor que sejam relevantes para a manutenção de uma boa saúde, além de atuar na redução do risco de doenças crônicas, tais como câncer, doenças degenerativas e doenças cardiovasculares por atuarem, principalmente, como antioxidantes e reguladores do metabolismo. A legislação brasileira define a alegação de propriedade funcional acordo com a RDC 18/99 (BRASIL, 1999), como aquela associada a modulações metabólicas ou fisiológicas no crescimento, desenvolvimento, na manutenção e em outras funções normais do organismo humano.

Os alimentos funcionais podem assumir diversas tipologias. Alguns podem ser enriquecidos ou adicionados de componentes bioativos associados com resultados positivos à saúde como antioxidantes, fibras alimentares, vitaminas, entre outros ou até mesmo microrganismos vivos, como *lactobacillus* (BALDISSERA et al., 2011).

### 1.1 Probióticos

De acordo com a FAO/WHO (2001), probióticos são microrganismos vivos, administrados em certas quantidades que conferem benefícios a saúde. O empenho na utilização de microrganismos vivos com enfoque na melhora da saúde, além de prevenção/melhora em tratamento de patologias, vem crescendo recentemente (FOOKS, 1999). O resultado disto é observado no mercado alimentício, pois probióticos representam grande parcela de produtos com alegação funcional na indústria alimentar. (GRANATO, 2010). Para ser considerado como probiótico, um microrganismo deve atender a certos critérios estabelecidos, tais como resistência ao suco gástrico, a bile e enzimas pancreáticas (FOOKS et al., 1999). A seleção de uma matriz alimentar para fornecer probióticos é imprescindível e deve ser levado em consideração para o desenvolvimento de alimento probiótico. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2014), a recomendação de consumo de probióticos é

baseada na porção diária de microrganismos viáveis ingerida, sendo o mínimo de  $10^8$  a  $10^9$  UFC/dia (BRASIL, 2007).

**Tabela 1.** Microrganismos oficialmente considerados probióticos no Brasil.

Espécies
<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Lactobacillus casei shirota</i>
<i>Lactobacillus casei</i> variedade <i>rhamnosus</i>
<i>Lactobacillus casei</i> variedade <i>defensis</i>
<i>Lactobacillus paracasei</i>
<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Bifidobacterium bifidum</i>
<i>Bifidobacterium animalis</i> (incluindo a subespécie <i>Bifidobacterium lactis</i> )
<i>Bifidobacterium longum</i>
<i>Enterococcus faecium</i>

Fonte: Brasil, 2014

No entanto, outras referências, tais como Bertazzoni e Benini (2008) discutem que contagens entre  $10^7$  e  $10^8$  UFC/dia são capazes de conferir efeitos benéficos ao organismo, portanto pode-se dizer que há uma flexibilização quanto a contagem mínima para considerar um produto como probiótico.

Nacionalmente, a ANVISA considera 11 microrganismos como probióticos, de acordo com comprovações científicas, dentre os quais, a maioria corresponde ao gênero *Lactobacillus*. Por outro lado, estudos nacionais e internacionais consideram que há 56 espécies que pertencem ao gênero *Lactobacillus* e 29 espécies *Bifidobacterium* que podem ser consideradas probióticas, ou seja, conferem efeitos benéficos ao organismo. (SHAH, 2007). Os *Lactobacillus*, gênero mais comum no grupo de probióticos, são capazes de auxiliar na digestão da lactose em indivíduos com intolerância, diminuir a constipação, além de auxiliar na resistência a infecções por *Salmonella* (KOMATSU et al., 2008). Além de bactérias, a levedura *Saccharomyces boulardii* é um dos poucos microrganismos utilizados como probióticos, recomendado para uso no combate de distúrbios gastrointestinais. Probióticos têm sido sugeridos na manutenção do tratamento da doença de Crohn e na prevenção de diarreia em pacientes recebendo alimentação por sonda. Além destes, existem ensaios clínicos mostrando o seu efeito sobre a microbiota

de prematuros, na diminuição da diarreia em pacientes com amebíase aguda. (MARTINS et al., 2005) e no tratamento de quadro de intolerância a lactose (PINTO et al., 2015).

### 1.1.2 O Kefir

O kefir é uma bebida fermentada originária da Rússia, mais especificamente, das montanhas do Cáucaso (ALMEIDA et al., 2011). O kefir pode ser considerado como um produto probiótico, pois este apresenta microrganismos que auxiliam no equilíbrio da flora intestinal e que apresentam efeitos positivos na saúde humana (WESCHENFELDER et al., 2011). Fisicamente, os grãos de kefir apresentam consistência gelatinosa e podem medir de 3 a 35 mm de diâmetro. Além disso, exibem forma irregular, semelhante a um couve-flor. (SANTOS et al., 2012). O kefir é um polissacarídeo ramificado e solúvel em água que envolve a simbiose microbiana. É formado por quantidades proporcionais de glicose e galactose e apresenta capacidade de conferir coesão e estabilidade ao grão, além de características sensoriais ao substrato em que estiver presente (TERRA, 2007). A produção deste polissacarídeo é devida, primordialmente, a presença de *Lactobacillus kefirianofaciens*, sendo estimulada pela simbiose entre este e a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (CHEIRSILP et al., 2003).

A procedência do grão, assim como o seu método de cultivo influenciam a diversidade da composição da microbiota (WSZOLEK et al, 2001). Segundo Farnworth (2005), em um período de 24 horas de fermentação, a massa de grãos aumenta em cerca de 25%. Este crescimento acelerado possibilita que o kefir seja doado entre os seus produtores em uma produção artesanal. Esta prática é bastante comum, principalmente nos países onde sua produção industrial ainda é escassa, como no Brasil. Países como Portugal e Espanha, no entanto, já possuem produtos kefir à venda em mercados e, portanto, já há metodologias de produção em larga escala consolidados (TERRA, 2007).

Os *Lactobacillus* representam a maior parte da microbiota do grão de kefir, correspondendo a cerca de 65-80% do total de microrganismos, seguidos das leveduras (MIGUEL, 2009). Segundo Magalhães et al. (2010), os microrganismos encontrados no kefir brasileiro são *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus parabuchneri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus kefiri*, *Lactococcus lactis*, *Acetobacter lovaniensis*, *Kluyveromyces lactis*, *Kazachstania aerobia*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Lachancea meyersii*.

**Tabela 2.** Microrganismos encontrados no grão de kefir brasileiro.

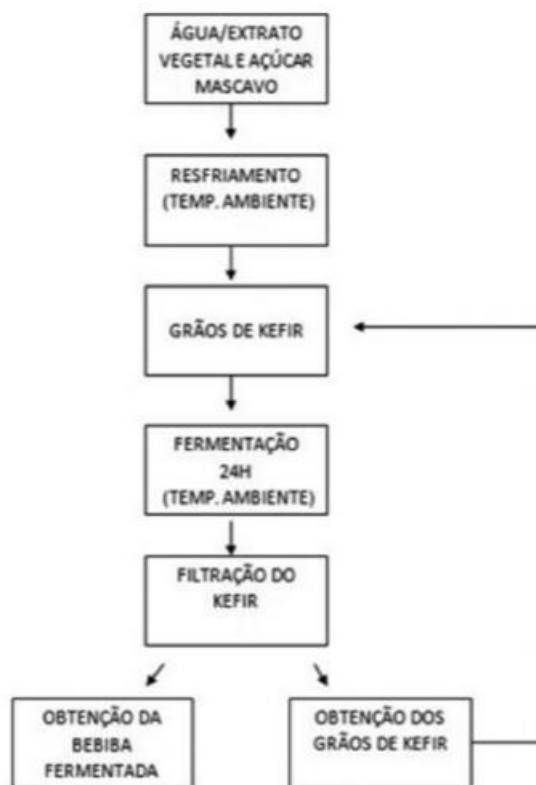
<b>Espécies</b>
<i>Lactobacillus paracasei</i>
<i>Lactobacillus casei</i>
<i>Lactobacillus paracasei</i> subespécie <i>paracasei</i>
<i>Lactobacillus paracasei</i> subespécie <i>tolerans</i>
<i>Lactobacillus lactis</i>
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>
<i>Lactobacillus kefir</i>
<i>Leuconostoc citreum</i>
<i>Lactobacillus buchneri</i>
<i>Acetobacter lovaniensis</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Kluyveromyces lactis</i>
<i>Lachancea meyersii</i>
<i>Kazachstania aeróbia</i>

Fonte: Tavares et al., 2018.

Em termos gerais, a produção artesanal da bebida kefir (Figura 1), se baseia na inoculação de grãos de kefir em meio contendo água com açúcar mascavo na proporção de 5 a 10% do volume total do líquido, para que fermente por um período médio de 24 horas em temperatura ambiente. Ao final do processo fermentativo, os grãos devem ser recuperados e a bebida pode ser consumida ou passar por um processo de maturação sob refrigeração, onde há desenvolvimento de sabor e gaseificação. Por outro lado, para que haja um padrão de qualidade da bebida kefir, a produção necessita de um controle rigoroso quanto ao tempo de fermentação, além de percentual de grão utilizado e temperatura aplicada (TAVARES et al., 2018; SOUZA & da SILVA, 2017).

As fermentações alcoólica, láctica e acética resultantes da ação das bactérias e leveduras presentes no grão produzem um alimento contendo ácidos láctico e acético, etanol, gás carbônico, vitamina B12 e polissacarídeos que proporcionam as características organolépticas únicas do kefir. O ácido láctico, assim com o ácido acético, metabólitos da fermentação da lactose, funcionam como uma espécie de conservante, e, assim, pode-se dizer que o kefir é biologicamente seguro (WESCHENFELDER et al., 2011).

**Figura 1.** Fluxograma de produção de bebida kefir.



Fonte: Souza e da Silva, 2017.

Alguns estudos relatam que o kefir possui propriedades benéficas à saúde, tais como antitumoral, antiinflamatória, antioxidante e imunomoduladora. As bactérias ácido-láticas presentes nos grãos de kefir são responsáveis pela síntese de bacteriocinas, associadas com o controle da ação da atividade de bactérias patogênicas (POWELL, 2006). Não apenas isto, mas uma dieta com consumo frequente de kefir pode contribuir de forma pronunciada na modulação da composição da flora intestinal através do aumento de *Lactobacillus* e *Enterococcus*. Estes, por sua vez, competem no epitélio intestinal com bactérias patogênicas, como *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* (MARQUINA et al., 2002).

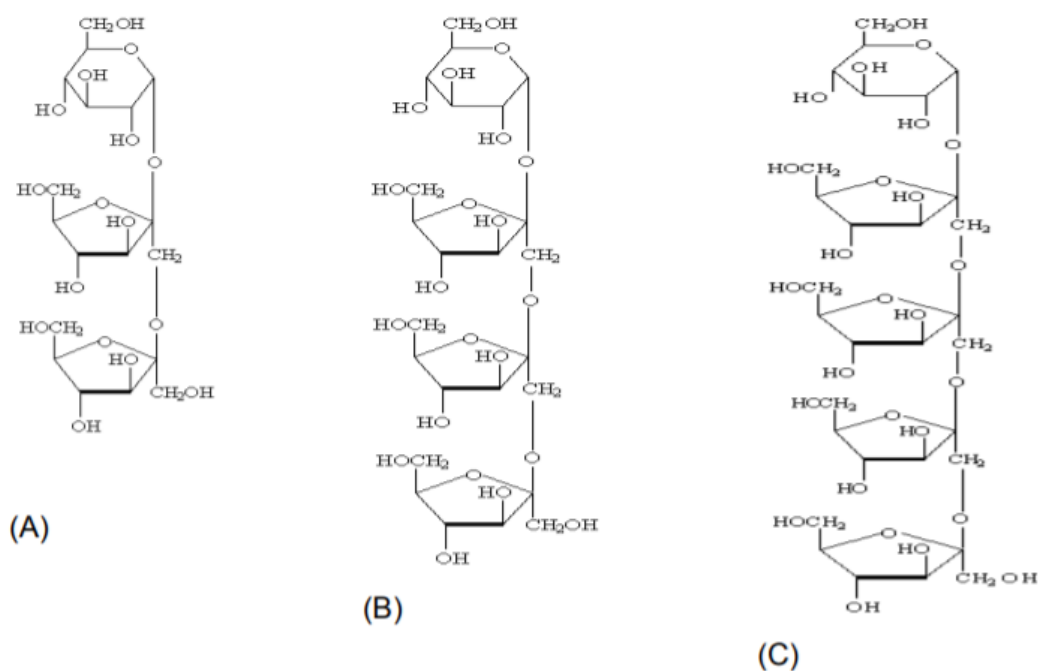
## 1.2 Prebióticos

Prebióticos são componentes alimentares não digeríveis pelo organismo humano, mas que são metabolizados por microrganismos e favorecem mudanças na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal (BINDELS et al., 2015). Os prebióticos

verificados na atualidade são carboidratos não-digeríveis pelo organismo humano, mas são substratos fermentáveis pelas bactérias benéficas do intestino. Estes componentes apresentam funções associadas com regulação do trânsito intestinal, controle de metabólitos tóxicos e aumento da disponibilidade de certos nutrientes consumidos. Além disso, podem exercer funções de regulação, como inibição ou estímulo da produção de hormônios peptídeos secretados por células L (GLP-1 e PYY) (DELZENNE et al., 2005). Para ser considerado como prebiótico, o alimento necessita de certas características, a exemplo de não ser hidrolisável nem ser absorvível no trato gastrointestinal superior, assim como a capacidade de servir como substrato para bactérias intestinais (GIBSON & ROBERFROID, 1995; PINEIRO et al., 2008).

Frutooligosacarídeos (FOS) são oligossacarídeos que podem ser encontrados, principalmente, em vegetais (HARTEMINK et al., 1997). São compostos por cadeias lineares de carboidratos que consistem de ligações do tipo  $\beta$ - e uma molécula de  $\alpha$ -glicose (FERREIRA & TESHIMA, 2000). A hidrólise deste carboidrato libera oligofrutoses. Caso este possua grau de polimerização  $< 10$ , dá-se o nome de FOS (PASSOS & PARK, 2003). Pode haver uma subdivisão do 1) FOS produzido a partir de hidrólise enzimática e 2) reação enzimática de transfrutossilacção (PASSOS & PARK, 2003).

**Figura 2.** Estrutura química dos principais frutooligosacarídeos: 1- kestose (A), nistose (B) e frutofuranosil-nistose (C)



Fonte: Passos & Park, 2003.

Os FOS são denominados de prebióticos, por serem capazes de favorecer a multiplicação de probióticos e também a colonização destes no trato gastrintestinal (VALCHEVA & DIELEMAN, 2016). Além disso, o consumo diário de FOS é imprescindível também pelo caráter competitivo dos probióticos com bactérias patogênicas (YAMASHITA et al., 1984). Este caráter competitivo ocorre, em grande parte, pois os FOS são conhecidos por auxiliar o metabolismo de certas cepas, como as bifidobactérias, causando uma redução do pH no lúmen intestinal e inibição de bactérias patogênicas, que são mais sensíveis a um meio mais ácido. O consumo regular de prebióticos deve ser estimulado por conta do desenvolvimento de uma microbiota mais saudável (DAVID et al., 2014).

### **1.3 Simbióticos**

Produtos simbióticos são aqueles que apresentam em sua composição microrganismos probióticos e ingredientes prebióticos (ROBERFROID et al., 1998). Para tanto, é relevante que haja seleção de linhagens de microrganismos com melhor capacidade de utilização de um determinado prebiótico e com melhor possibilidade de sobrevivência no meio selecionado, para que o efeito sinérgico ocorra de forma ideal (FERREIRA & TESHIMA, 2000).

A ação simbiótica entre microrganismos e componentes prebióticos é capaz de ser potencializada quando se realiza uma adaptação prévia do microrganismo probiótico ao substrato, resultando, inclusive em um auxílio competitivo para o probiótico quando exposto a um meio com grande diversidade de microrganismos, como o lúmen intestinal. A grande vantagem do uso concomitante de probióticos e prebióticos se dá pela potencialização dos efeitos associados a cada um deles, em comparação a quando aplicados de forma isolada (SAAD, 2006).

## **2. ESTUDO DE VIDA-DE-PRATELEIRA**

A vida-de-prateleira pode ser conceituada como o tempo no qual o alimento pode ser estocado em determinadas condições físicas, onde haverá mínimas alterações que devem ser consideradas como aceitáveis pela legislação vigente, devendo-se levar em consideração as características inerentes ao produto em questão, além das condições de

processamento, pois estes são de grande influência na sua viabilidade (LEWIS & DALE, 2000). Os critérios a serem utilizados para determinar o período final da vida-de-prateleira de um produto é resultante de uma série de variáveis, que permeiam legislação, análise microbiológica, físico-química, sensorial, além de demanda do público consumidor (FU & LABUZA, 1993).

Quando se discute produtos probióticos, sua vida-de-prateleira pode ser influenciada por algumas condições, tais como matérias-primas; formulação; embalagem e condições de conservação (LEWIS & DALE, 2000). É importante ressaltar que, para definir o tempo de vida útil de um produto, é necessário realizar um acompanhamento de sua estabilidade durante um período de armazenamento. No caso de sucos de frutas, é imprescindível avaliar a degradação da vitamina C, além de alterações de cor e de aceitação sensorial. Especificamente, em relação a produtos probióticos, modificações no pH e acidez podem ser responsáveis pelo comprometimento da viabilidade dos microrganismos. Além disso, deve-se considerar a exigência da legislação brasileira de, ao menos,  $10^8$  UFC por porção do produto, ou acima de  $10^6$  UFC por ml (DONKOR et al., 2007). Outras referências discutem uma maior flexibilidade no limite de contagens, como que descrevem que o consumo de  $10^7$  UFC/dia é suficiente para produzir efeitos benéficos ao organismo.

### **3. EDULCORANTES**

Desde o início da humanidade, desenvolveu-se a ideia de que o gosto doce se trata de um gosto seguro e saudável, ao contrário do gosto amargo (SANTOS, 2011). Há, inclusive, registros de que o primeiro edulcorante utilizado pelo homem foi o mel, substituídos depois pela sacarose (WEIHRAUCH & DIEHL, 2004). Os primeiros edulcorantes artificiais produzidos e utilizados na indústria alimentar foram: sacarina, ciclamato e aspartame. No entanto, na atualidade já há uma maior variedade de edulcorantes, como acesulfame-K e sucralose (ZANINI, 2010). Os edulcorantes artificiais são largamente utilizados em substituição à sacarose na indústria de alimentos ao preparar alimentos e bebidas com reduzido valor energético, pois não são capazes de fornecer calorias ou as contêm em quantidades mínimas. (VERMUNT; SCHAAFSMA & KARDINAAL, 2003).

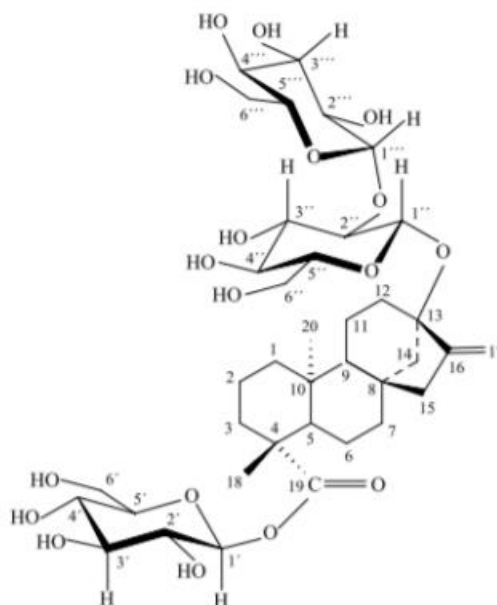


A obesidade é um grande problema em todo o mundo. Pesquisas mostram constantemente que as pessoas estão preocupadas com o peso e suas implicações relacionadas à saúde, e por isso a maioria da população mundial apresenta um esforço conjunto para manter ou perder peso (BORGES et al., 2017). Os adoçantes artificiais são tipicamente usados como auxílio nutricional àqueles que precisam reduzir o consumo de alimentos açucarados ou de calorias ou precisam gerenciar seu peso, o que contribuiria com um risco menor de desenvolver doenças não transmissíveis (CHATTOPADHYAY; RAYCHAUDHURI & CHAKRABORTY, 2014). No entanto, algumas pesquisas têm discutido que o consumo excessivo de adoçante não calórico pode estar relacionado à sensibilidade comprometida ao gosto doce e pode induzir ganho de peso (IMAMURA et al., 2016), portanto, pode-se dizer que os dados atuais sobre seu uso ainda não estão completamente solucionados.

Alguns pesquisadores têm buscado avaliar a associação de bebidas probióticas com uso de edulcorantes artificiais. Esmerino et al. (2013) utilizaram sucralose, stevia, aspartame e neotame como substitutos da sacarose em queijos petit suisse probióticos. Resultados indicaram que não houve comprometimento da contagem de microrganismos probióticos em relação ao controle com sacarose. Filho et al. (2019) avaliaram que o uso de sucralose auxiliou na manutenção de *Lactobacillus casei* em bebida probiótica de suco de polpa de cacau. Tais resultados indicam potencial no uso de edulcorantes artificiais para elaborar bebidas probióticas com reduzido teor calórico.

A *Stevia rebaudiana*, planta originária do Paraguai, era utilizada por índios tupi-guaranis com a função edulcorante (LIMA FILHO et al., 2004). O esteviosídeo, glicosídeo presente nas folhas desta planta, é uma mistura de componentes que são capazes de gerar dulçor ao paladar (GOYAL, 2010). Por ser um produto de origem vegetal, ou natural, o extrato de folha de Stevia é amplamente apreciado pelos consumidores em geral. Apresenta-se sob forma de um pó fino claro, formado por cristais adoçantes de estévia. (BHUTIA & SHARANGI, 2016).

**Figura 3.** Estrutura química do esteviosídeo.



Fonte: Oliveira, 2007.

Em relação a sacarose, a estévia apresenta gosto de maior persistência e gosto residual, além disso, possui até 300 vezes maior dulçor (AHMED et al., 2011). A produção de estévia pode ser aperfeiçoada, a exemplo de plantas que possuam maior teor de rebaudiosídeo A, o que gera menor gosto amargo residual e pode reduzir odores desagradáveis (Goto & Clemente, 1998).

Weber e Hekmat (2013) avaliaram a influência do extrato de stevia na sobrevivência de *Lactobacillus* em iogurte. Neste caso, a presença do edulcorante não resultou em comprometimento do potencial probiótico da bebida. Por outro lado, Denina et al. (2014) verificaram potencial inibitório da stevia na multiplicação de *Lactobacillus reuteri*, o que leva a necessidade de avaliação mais aprofundada do uso de stevia em alimentos probióticos.

#### 4. ANÁLISE SENSORIAL

As bactérias lácticas são responsáveis pela contribuição de aroma e sabor de bebidas fermentadas. As modificações do alimento durante o seu processamento, como o consumo de carboidratos, a produção de ácidos e outros compostos aromáticos, além de alterarem a composição do alimento, lhe conferindo características sensoriais, como

modificações na textura, pela produção de metabólitos, também contribuem no perfil de sabor e aroma do produto fermentado pronto para consumo (STADIE et al., 2013). Portanto, é de extrema importância avaliar de que forma a presença de um processo fermentativo pode modificar sensorialmente o produto a ser avaliado.

A análise sensorial é definida pela ABNT (1993) como uma metodologia científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais e como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição. A análise sensorial na indústria de alimentos é instrumento de grande relevância para a tomada de decisões, tais como: avaliação da qualidade dos produtos novos, reformulação de custos; análise das relações entre processo e ingredientes nos atributos sensoriais (TEIXEIRA, 2009).

Dentre os tipos de testes aplicados na análise sensorial, os afetivos representam uma ferramenta para avaliar diretamente a aceitação do público em relação a um dado produto, além de suas características específicas ou globais, sendo também denominados de testes de consumidor. Nos testes afetivos é importante haver uma quantidade grande de avaliadores, sendo que estes devem representar o público-alvo do produto a ser avaliado. É importante que seja uma equipe não treinada e consumidores habituais para que a avaliação tenha validade (LAWLESS & HEYMANN, 2010).

Um dos testes afetivos, aceitação do consumidor pode ser avaliada através de aplicação de uma escala hedônica estruturada ou não estruturada (TEIXEIRA, 2009). No que diz respeito a escala hedônica tradicional de nove pontos, pode-se relatar que esta apresenta certas limitações, como pouca liberdade para os avaliadores expressarem suas percepções sensoriais, devido ao número limitado de respostas e produzem efeitos de tendência central, já que os avaliadores evitam usar categorias extremas, reduzindo efetivamente escala de nove pontos a uma escala de sete pontos, resultando, como consequência, na diminuição da capacidade de detectar diferenças entre amostras de alta ou baixa aceitação (VILLANUEVA; PETENATE & SILVA, 2005).

A escala híbrida hedônica, proposta por Villanueva, Petenate e Silva (2005), é uma escala linear resultante da combinação das escalas estruturada e não estruturada. Para ser mais amigável ao consumidor do que a escala não estruturada, esta possui âncoras com rótulos afetivos verbais nas regiões média e extrema da escala. A grande vantagem do uso desta escala sobre a escala hedônica tradicional inclui o fato de que o avaliador pode usar qualquer parte da escala para atribuir valores, ao invés de se limitar aos

indicados na escala hedônica estruturada, o que possivelmente aumenta seu poder de discriminação (JIM, 2011).

## **5. SUCOS MISTOS DE FRUTAS**

O Brasil destaca-se como grande produtor de frutas. Sua produção é dividida entre o mercado de frutas processadas e de frutas frescas (IBRAF, 2013). O setor de bebidas, principalmente não alcoólicas, vem crescendo por conta do aumento do consumo per capita, além de seu elevado volume de produção. A procura pelo maior consumo de variedades de frutas na dieta associa-se diretamente com a preocupação com a saúde e com o consumo de alimentos nutritivos (BEZERRA et al., 2013). Este fato, por consequência, gera a tendência de um consumidor disponível a experimentar diferentes sabores e novos produtos.

O Decreto nº. 2.314, de 1997 (BRASIL, 1997), define Suco como a bebida não fermentada, não concentrada e não diluída, destinada ao consumo, obtida da fruta madura e sã, ou parte do vegetal de origem, por processamento tecnológico adequado, submetida a tratamento que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo. Já sucos mistos são aqueles produzidos através da mistura de mais de uma fruta, cujo objetivo é de aperfeiçoar suas características sensoriais, além do aumento do teor de substâncias funcionais, como compostos fenólicos e vitaminas (BEZERRA et al., 2013). O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) ainda define sucos tropicais como aquele obtido pela dissolução da polpa da fruta de origem tropical em água, por meio de processo tecnológico adequado, não fermentado. Já o suco misto tropical seria, segundo o MAPA, obtido de duas ou mais frutas tropicais (abacate, abacaxi, acerola, abricó, açaí, abiu, banana, bacuri, cacau, caju, cajá, carambola, cupuaçu, goiaba, graviola, jenipapo, jabuticaba, jaca, jambo, mamão, mangaba, manga, maracujá, melão, murici, pinha, pitanga, pupunha, sapoti, seriguela, tamarindo, taperebá, tucumã e umbu) (BRASIL, 2003).

Tais produtos podem ou não ser gaseificados e possuem quantidade variável de polpa de fruta. Há diversas justificativas e vantagens em relação a produção de sucos mistos, que são as seguintes: correção de sólidos solúveis; equilíbrio de sabores suaves ou fortes, normalmente associados com acidez, adstringência, ou amargor de alguns frutos; melhora de cor e/ou textura; redução de custo através da adição de frutos de menor preço (SOUSA et al., 2006).

Os sucos de frutas podem ser um meio ideal para adição de probióticos pois são alimentos considerados saudáveis e de grande consumo por uma grande parte da população mundial, além da vantagem de não apresentarem alérgenos dos produtos lácteos (COELHO, 2009). Os sucos adicionados de probióticos possuem sabor diferente dos sucos convencionais, porém, apesar da mudança sensorial existe um grande interesse na produção de bebidas fortificadas com essas bactérias que podem agregar valor nesse tipo de produto (LUCKOW & DELAHUNTY, 2004).

Alguns estudos têm sido realizados utilizando-se sucos de frutas como substrato alternativo para fermentação de kefir. Randazzo et al. (2016) avaliaram a viabilidade de sucos de maçã, pêra, uva, kiwi, romã e marmelo como matrizes para fermentação de microrganismos do kefir. Resultados indicaram processo fermentativo e boas contagens de microrganismos para todas as frutas. Kazakos et al. (2016) verificaram que, ao associar polpas de romã e laranja, houve maior viabilidade de microrganismos probióticos do kefir, associado a maior diversidade nutritiva de sucos mistos de frutas.

### **5.1 *Spondias tuberosa* (UMBU)**

O umbuzeiro (*Spondias tuberosa*) faz parte da família *Anacardiaceae* e ao gênero *Spondias*, composto por aproximadamente 18 espécies típicas do Nordeste do Brasil, que se desenvolvem principalmente no semi-árido. (ARAÚJO & SANTOS, 2004). Os seus frutos, denominados de umbu, são componentes essenciais da alimentação humana da região, devido o aporte significativo das vitaminas, minerais e carboidratos. O fruto desta árvore, denominado de umbu, é rico em vitamina C, com conteúdo aproximado de 31mg/100g (LIMA; QUEIROZ & FIGUEIREDO, 2003). Apresenta acidez intensa, com pH podendo chegar a valores abaixo de 2,5 e é considerada como uma fruta exótica devido a seu sabor peculiar, apreciado na região nordeste. Além disso, possui substâncias biologicamente ativas que contribuem para uma alimentação mais saudável, a exemplo de: clorofila, carotenóides, flavonoides e demais compostos fenólicos. O umbu, portanto, é considerado um fruto com excelente potencial antioxidante (POLICARPO et al., 2007).

**Figura 4.** Folhas e frutos de *Spondias tuberosa* (Umbu).



Fonte: Siqueira, 2015.

O umbu é muito apreciado por seu sabor peculiar, com acidez intensa. Apresenta um baixo teor de sólidos solúveis em comparação a outros frutos, como a manga. pode ser consumido *in natura* ou sob forma de refrescos, sucos, sorvete, misturado a bebida (em batidas) ou misturado ao leite (em umbuzadas, polpa do umbu cozida com leite e açúcar). Industrialmente, apresenta uma série de usos, como sucos engarrafados, doces, geléias, fermentados, vinagre, acetona, concentrado para sorvete, polpa para sucos, ou seco (PAULA et al., 2012).

### **5.2 *Mangifera indica* L. (MANGA)**

A manga (*Mangifera indica* L.) é uma fruta apreciada por conta de seu sabor e aroma, além de ser de grande importância para a economia em países tropicais (SUGAI, 2007). É uma fruta carnosa, cujo tamanho, peso e cor são variáveis (ARAÚJO et al., 2017). Diversos produtos podem ser obtidos da manga, onde podem ser destacados: doces em calda, doces em pasta e sucos. No Brasil, a manga é a terceira fruta mais exportada com aproximadamente 3,5 mil toneladas no ano de 2013, ficando atrás apenas do melão (28,2 mil toneladas) e limão (8,6 mil toneladas) (SEBRAE, 2014).

**Figura 5.** Fruto da *Mangifera indica* L.



Fonte: Dantas, 2010.

Sua produção e comercialização são voltadas tanto para o mercado interno como para o externo por conta de seu valor nutricional e sensorial, que são valorizados mundialmente (MUCHIRI; MAHUNGU & GITUANJA, 2012). A manga pode ser considerada como uma fruta pouco ácida (pH de 4,3), com alto teor de sólidos solúveis (16 °Brix em sua polpa) e rica em fibras, vitamina C (50mg/100g ou mais, a depender da variedade) e carotenoides, o que confirma sua apreciação do ponto de vista nutricional (CARVALHO et al., 2004).

## REFERÊNCIAS

AHMED, B.; HOSSAIN, M.; ISLAM, R.; SAHA, A.K.; MANDAL, A. A review on natural sweetener plant stevia having medicinal and commercial importance. **Agro**, v. 73, p. 75-91, 2011.

ALMEIDA, F.A.; ANGELO, F.F.; da SILVA, S.L.; da SILVA, S.L. Análise sensorial e microbiológica de kefir artesanal produzido a partir de leite de cabra e leite de vaca. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 66, n. 378, p 51-56, jan/fev. 2011.

ARAÚJO, D. O.; MORAES, J. A. A.; CARVALHO, J; L. M. Fatores determinantes na mudança do padrão de produção e consumo da manga no mercado nacional. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v.10, p.51-73, 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. **Análise sensorial de alimentos e bebidas -Terminologia – NBR 12806**. São Paulo: ABNT, 1993.

BALDISSERA, A. C.; BETTA, F. D.; PENNA, A. L. B.; LINDNER, J. D. D. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas proteicas a base de soro de leite. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1497-1512, out./dez, 2011.

BEZERRA, C. V. et al. Comportamento reológico de suco misto elaborado com frutas tropicais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 2, p. 155-162, abr./jun, 2013.

BHUTIA, P.H.; SHARANGI, A.B. Stevia: Medicinal Miracles and Therapeutic Magic. **International Journal of Crop Science and Technology**, v. 2, n. 2, p. 45-59, 2016.

BINDELS, L.B.; DELZENNE, N.M.; CANI, P.D.; WALTER, J. Towards a more comprehensive concept for prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 12 n. 5, p. 303-310, 2015.

BORGES, M.C.; LOUZADA, M.L.; DE SÁ, T.H.; LAVERTY, A.A.; PARRAN D.C.; GARZILLO, J.M.F.; MONTEIRO, C.A.; MILLETT, C. Artificially sweetened beverages and the response to the global obesity crisis. **PLOS Medicine**, p. 1-9, 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alegações de propriedade funcional aprovadas**. 2014. Disponível em: [www.ufrgs.br/alimentus/disciplinas/tecnologia-de-alimentos-especiais/alimentos-funcionais/Anvisa\\_Alegacoesdepropriedadefuncionalaprovadas.pdf](http://www.ufrgs.br/alimentus/disciplinas/tecnologia-de-alimentos-especiais/alimentos-funcionais/Anvisa_Alegacoesdepropriedadefuncionalaprovadas.pdf). Acesso em: 25/mai/2019.

BRASIL. 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.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 18, de 24 de março de 2008**. Dispõe sobre o "Regulamento Técnico que autoriza o uso de aditivos edulcorantes em alimentos, com seus respectivos limites máximos". Diário Oficial [da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 25 mar. 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº. 12, de 4 de setembro de 2003. Regulamento técnico geral para fixação de identificação e qualidade gerais para suco tropical. **Diário Oficial da União**. 05 de setembro de 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. . **Resolução RDC nº 389 de 05 de agosto de 1999**. Aprova REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE O Uso de Aditivos Alimentares, Estabelecendo suas Funções e seus Limites Máximos para a Categoria de Alimentos 16: bebidas - subcategoria 16.2.2 - bebidas não alcoólicas gaseificadas e não gaseificadas.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº. 2.314, de 04 de setembro de 1997**. Regulamenta a Lei nº. 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da União**. 05 de setembro de 1997.

CARDELLO, H.M.A.B.; SILVA, M.A.A.P.; DAMASIO, M.H. Análise descritiva quantitativa de edulcorantes em diferentes concentrações. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 3, p. 18-328, 2000.



- CARVALHO, C. R. L.; ROSSETTO, C.J.; MANTOVANI, D. M.B.; MORGANO, M.A.; DE CASTRO, J.V.; BORTOLETTO, N. Avaliação de cultivares de mangueira selecionadas pelo Instituto Agrônomo de Campinas comparadas a outras de importância comercial. **Revista Brasileira de Fruticultura**, n.2, v. 26, p. 264-271, 2004.
- CHATTOPADHYAY, S.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. Artificial sweeteners – a review. *Journal of Food Science and Technology*, v. 51, n. 4, p. 611-621, 2014.
- CHEIRSILP, B.; SHIMIZU, H.; SHIOYA, S. Enhanced kefir production by mixed culture of *Lactobacillus kefirifaciens* and *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Biotechnology**, v. 100, n. 1, p 43-53, 2003.
- COELHO, A.N.; OLIVEIRA, V.R. Os benefícios dos probióticos, prebióticos e simbióticos na nutrição preventiva. **Revista Higiene Alimentar**, v. 23, n. 172/173, p.24-29, 2009.
- DANTAS, S.C.M. **Desidratação de polpas de frutas pelo método foam-mat**. 2014. 100p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2010.
- DAVID, L.A.; MAURICE, C.F.; CARMODY, R.N. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. **Nature**, v. 505, p. 559-563, 2014.
- DELZENNE, N. M. Impact of inulin and oligofructose on gastrointestinal peptides. **British Journal of Nutrition**, v.93. p. S157-S161, 2005.
- DENINA, I.; SEMJONOV, P.; FOMINA, A.; TREIMANE, R.; LINDE, R. The influence of stevia glycosides on the growth of *Lactobacillus reuteri* strains. **Letters in Applied Microbiology**, v. 58, n. 3, 2014.
- DONKOR, O.N. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 6, p. 657-665, 2007.
- ESMERINO, E.A.; CRUZ, A.G.; PEREIRA, E.P.R.; RODRIGUES, J.B.; FARIA, J.A.F.; BOLINI, H.M.A. The influence of sweeteners in probiotic Petit Suisse cheese in concentrations equivalent to that of sucrose. **Journal of Dairy Sciences**, v. 96, p. 5512-5521, 2013.
- FARNWORTH, E. R. Kefir: a complex probiotic. **Food Science and Technology**, v. 2, n.1, p.1-17, 2005.
- FERREIRA, C. L.L.; TESHIMA, E. Prebióticos, estratégia dietética para a manutenção da microbiota colônica desejável. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 16, p. 22-25, 2000.
- FILHO, A.L.S.; FREITAS, H.V.; RODRIGUES, S.; ABREU, V.K.G.; LEMOS, T.O.; GOMES, W.F.; NARAIN, N.; PEREIRA, A.L.F. Production and stability of probiotic

cocoa juice with sucralose as sugar substitute during refrigerated storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 99, p. 371-378, 2019.

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

FREIRE, A.L.; RAMOS, C.L.; SCHWAN, R.F. Effect of symbiotic interaction between a fructooligosaccharide and probiotic on the kinetic fermentation and chemical profile of maize blended rice beverages. **Food Research International**, v. 100, p. 698-707, 2017.

FU, B.; LABUZA, T. P. Growth kinetics for shelf-life prediction: theory and practice. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 12, p. 209-323, 1993.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, B.M. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v.125, n.6, p.1401-1412, 1995.

GOTO, A.; CLEMENTE, E. Influência do rebaudiosídeo a na solubilidade e no sabor do esteviosídeo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 1, p. 3-6, 1998.

GOYAL, S.K. Stevia (*Stevia rebaudiana*) a biosweetener: A review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 61, n. 1, p. 1-10, 2010.

GRANATO, D.; BRANCO, G. F.; NAZARRO, F.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. Functional foods and nondairy probiotic food development: Trends, concepts and products. **Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 3, p. 292 – 302, 2010.

HARTEMINK, R.; VANLAERE, K.M.J.; ROMBOUTS, F.M. Growth of enterobacteria on fructo-oligosaccharides. **Journal of Applied Microbiology**, Wageningnen, v.383, p.367-374, 1997.

HOU, J.W.; YUR, C.; CHOU, C.C. Changes in some componentes of soymilk during fermentation with bifidobacteria. **Food Research Internacional**, v.33. p. 393-397. 2000.

IMAMURA, F.; CONNOR, L.; YE, Z.; MURSU, J. Consumption of sugar sweetened beverages, artificially sweetened beverages, and fruit juice and incidence of type 2 diabetes: systematic review, meta-analysis, and estimation of population attributable fraction. **British Journal of Sports Medicine**, v. 50, n. 8, p. 496-504, 2016.

IRIGOYEN, A.; ARANA, I.; CASTIELLA, M.; TORRE, P.; IBÁÑEZ, F.C. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 613-620, 2005.

KAZAKOS, S.; MANTZOURANI, I.; NOUSKA, C.; ALEXOPOULOS, A.; BEZIRTZOGLU, E.; BEKATOROU, A.; PLESSAS, S.; VARZAKAS, T. Production of low-alcohol fruit beverages through fermentation of pomegranate and orange juices with kefir grains. **Current Research in Nutrition and Food Science**, 2016.

LAJOLO, F. M. Functional foods: Latin American Perspectives. **British Journal of Nutrition**, v.88, S145 – S150, 2002.

LIM, J. Hedonic scaling: A review of methods and theory. **Food Quality and Preference**, v. 22, p. 733-747, 2011.

LAWLESS, H.T.; HEYMANN, H. **Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices**. New York: Springer, 2010, 596p.

LEWIS, M.; DALE, R.H. **Chilled yogurt and other dairy desserts**. In: MAN, D.; JONES, A. (Ed.) Shelf life evaluation of foods, Aspen Publishers, Maryland, 2000, p. 89–109.

LIMA FILHO, O.F.; VALOIS, A.C.; LUCAS, Z.M. **Sistemas de Produção 5: Estévia**. 1. ed. Dourados. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), 2004. 55 p.

LIMA, I.J.E.; QUEIROZ, A.J.M.; FIGUEIREDO, R.M.F. Propriedades termofísicas da polpa de umbu. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Especial, n.1, p.31-42, 2003.

LUCKOW, T.; DELAHUNTY, C. Consumer acceptance of orange juice containing functional ingredients. **Food Research International**, v. 37, p. 805–814, 2004.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F.C.A.; SAAD, S.M.I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, p. 329-347, 2008.

MAGALHÃES, K.T.; PEREIRA, G.V.M.; CAMPOS, C.R.; DRAGONE, G.; SCHWAN, R.F. Brazilian kefir: structure microbial communities and chemical composition. **Brazilian Journal of Microbiology**, 2010.

MARQUINA, D.; SANTOS, A.; CORPAS, I.; MUÑOZ, J.; ZAZO, J.; PEINADO, J.M. Dietary influence of kefir on microbial activities in the mouse bowel. **Letters in Applied Microbiology**, v. 35, n. 2, p. 136-140, 2002.

MARTINS, G.A.S. **Determinação da vida-de-prateleira por testes acelerados de doce em massa de banana cv. prata**. 2009. 103f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

MARTINS, F. S. et al. Screening of yeasts as probiotic based on capacities to colonize the gastrointestinal tract and to protect against enteropathogen challenge in mice. **Journal of General and Applied Microbiology**, v. 51, p. 83-92, 2005.

MIGUEL, M.G.C.P. **Identificação de microrganismos isolados de grãos de kefir de leite e de água de diferentes localidades**. 2009. 84f. Dissertação (Mestre em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2009.

MUCHIRI, D. R.; MAHUNGU, S. M.; GITUANJA, S. N. Studies on mango (*Mangifera indica*, L.) kernel fat of some Kenyan varieties in Meru. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 89, n. 9, p. 1567-1575, 2012.

OLIVEIRA, A. A. **Isolamento e quantificação de componentes do esteviosídeo comercial**. 2007. 112 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

PAULA, B.; FILHO, C.D.C.; da MATTA, V.M.; MENEZES, J.S.; LIMA, P.C.; PINTO, C.O.; CONCEIÇÃO, L.E.M.G. Produção e Caracterização Físico-Química de Fermentado de Umbu. **Ciência Rural**. v. 42, n. 9. 2012.

PASSOS, L.M.L.; PARK, Y.K. Frutooligossacarídeos: Implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciência Rural**, v. 33, n. 2, p. 385-390, 2003.

PINEIRO, M. FAO technical meeting on prebiotics. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 42, p. 156S-159S, 2008.

PINTO, L.P.S.; ALMEIDA, P.C.; BARACHO, M.; SIMIONI, P.U. O uso de probióticos para o tratamento do quadro de Intolerância à Lactose. **Revista Ciência e Inovação**, v. 2, n. 1, 2015.

POLICARPO, V.M.N.; BORGES, S. V.; ENDO, E.; CASTRO, F. T. de; DAMICO, A. A.; CAVALCANTI, N. B. Estabilidade da cor de doces em massa de polpa de umbu (*Spondias tuberosa* arr. cam.) no estágio de maturação verde. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 31, n. 4, 2007.

POWELL, J.E. **Bacteriocins and bacteriocin producers present in kefir and kefir grains**. 115p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos). Stellenbosch University. 2006.

PUERARI, C., MAGALHÃES, K.T., SCHWAN, R.F. New cocoa pulp-based kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 634-640, 2012.

RANDAZZO, W.; CORONA, O.; GUARCELLO, R.; FRANCESCA, N.; GERMANA, M.A.; ERTEN, H.; MOSCHETTI, G.; SETTANNI, L. Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. **Food Microbiology**, v. 54, p. 40-51, 2016.

RAUD, C. Os alimentos funcionais: a nova fronteira da indústria alimentar análise das estratégias do Danone e da Nestlé no mercado brasileiro de iogurtes. **Revista de Sociologia e Política**, v. 16, n. 31, p. 85-100, 2008.

ROBERFROID, M.B.; VAN LOO, J.A.E.; GIBSON, G.R. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. **Journal of Nutrition**, v. 128, p. 11–19, 1998.

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

SANTOS, C.R.A. A comida como lugar de história: as dimensões do gosto. **História: Questões e Debates**, v. 54, n. 1, 2011.

- SANTOS, F.L.; SILVA, E.O.; BARBOSA, A.D.; SILVA, J.O. Kefir: uma nova fonte alimentar funcional? **Diálogos & Ciência**, v.10, p.1-14, 2012. Disponível em: <<http://www.dialogos.ftc.br/>>. Acesso em: 23 abr. 2019.
- SANTOS, F. L. (Org.). **Kefir – Propriedades Funcionais e Gastronômicas**. Cruz das Almas/Bahia: Editora UFRB, 2015.123p.
- SEBRAE, 2014. **Processamento de frutas dá nova perspectiva para agricultores**. Disponível em: <<http://www.rn.sebrae.com.br/noticia/processamento-de-frutas-da-novas-perspectivas-para-agricultores/>>. Acesso em: 25 abr. 2019.
- SHAH, N. P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 11, p. 1262-1277, 2007.
- SIQUEIRA, E.M.S. **Spondias tuberosa Arr. (UMBU): Estudo fitoquímico e avaliação do potencial anti-inflamatório**. 2015. 45f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio grande do Norte, Natal, 2015.
- SOUSA, M. A. C.; YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. P. L.; PANTOJA, L. Suco de açai (*Euterpe oleracea* Mart.): avaliação microbiológica, tratamento térmico e vida de prateleira. **Acta Amazonica**, v.36, n.4, p. 483-496, 2006.
- SOUZA, U.S.; DA SILVA, M.R. Avaliação de pH, acidez titulável e crescimento de massa colônica de grãos de kefir de água inoculados em extrato hidrossolúvel de arroz (*Oryza sativa*). **Higiene Alimentar**, v. 31, n. 264/265, p. 1-6, 2017.
- STADIE, J.; GULITZ, A.; EHRMANN, M.A.; VOGEL, R.F. Metabolic activity and symbiotic interactions of lactic acid bacteria and yeasts isolated from water kefir. **Food Microbiology**, v.35, p. 92-98, 2013.
- SUGAI, A.Y. **Processamento contínuo de purê de manga (*Mangifera indica* Linn.), variedade Palmer**. 2007. 99 f. Dissertação (Doutor em Engenharia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.
- TEIXEIRA, L.V. Análise Sensorial na Indústria de Alimentos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. v. 64, n. 366, p. 12-21, 2009.
- TERRA, F. M. **Teor de lactose em leites fermentados por grãos de kefir**. 2007. 62f. Monografia (Especialização em Tecnologia de Alimentos) - Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2007.
- VALCHEVA, R.; DIELEMAN, L.A. Probiotics: Definition and protective mechanisms. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 30, n. 1, p. 27-37, 2016.
- VERMUNT, S. H. F.; PASMANN, W. J.; SCHAAFSMA, G.; KARDINAAL, A. F. M. Effects of sugar intake on body weight: a review. **Obesity Reviews**, v. 2, n. 4, p. 91-99, 2003.

VILLANUEVA, N.D.M.; PETENATE, A.J.; SILVA, M.A.A.P. Performance of the hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. **Food Quality and Preference**, v. 16, n. 8, p. 691-703, 2005.

WEBER, A.; HEKMAT, S. The effect of *Stevia rebaudiana* on the growth and survival of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and sensory properties of probiotic yogurt. **Journal of Food Research**, 2013.

WEIHRAUCH, M.R.; DIEHL, V. Artificial sweeteners – do they bear a carcinogenic risk? **Annals of Oncology**, v. 15, p. 1460-1465, 2004.

WESCHENFELDER, S.; PEREIRA, G.M.; CARVALHO, H.H.C.; WIEST, J.M. Caracterização físico-química e sensorial de kefir tradicional e derivados. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n.2, p.473-480, 2011.  
WSZOLEK, M.; TAMIME, A.Y.; MUIR, D.D.; BARCLAY, M.N.I. Properties of kefir made in Scotland and Poland using bovine, Caprine and ovine milk with different starter cultures. **LWT - Food Science and Technology**, v.34, p.251-261, 2001.

YAMASHITA, K.; KAWAI, K.; ITAKAMURA, M. Effects of fructooligosaccharids on blood-glucose and serum lipids in diabetic subjects. **Nutrition Research**, v.4, p.961-966, 1984.

ZANINI, R.V. **Prevalência de utilização de adoçantes dietéticos: um estudo de base populacional**. 2010. 124p. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia). Pelotas, Universidade Federal de Pelotas, 2010.

**CAPÍTULO II - Viabilidade de bebidas simbióticas kefir não-lácteas de baixo  
valor calórico a partir de sucos mistos de frutas tropicais**

---

**Viabilidade de bebidas simbióticas kefir não-lácteas de baixo valor calórico a partir de sucos mistos de frutas tropicais**

Pedro Paulo Lordelo Guimarães Tavares<sup>1</sup>, Emanuele Araújo dos Anjos<sup>2</sup>, Renata Quartieri Nascimento<sup>3</sup>, Larissa Farias da Silva Cruz<sup>1</sup>, Paulo Vitor França Lemos<sup>3</sup>, Janice Izabel Druzian<sup>1</sup>, Thâmilla Thalline Batista de Oliveira<sup>1</sup>, Karina Teixeira Magalhães-Guedes<sup>1</sup>, Maria Eugênia de Oliveira Mamede<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Rua Barão de Jeremoabo, s / n, Campus Ondina, Salvador, BA, Brasil, CEP: 40170-115. E-mail: pp.lordelo@gmail.com; laarissa\_martins18@hotmail.com; janicedruzian@hotmail.com; thamillabatista@gmail.com; karynamagat@gmail.com; mmamede2003@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Laboratório de Análise Sensorial, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Rua Barão de Jeremoabo, s / n, Campus Ondina, Salvador, BA, Brasil, CEP: 40170-115. E-mail: maanuaaraujo@hotmail.com

<sup>3</sup> Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (Renorbio), Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Avenida Reitor Miguel Calmon, s / n, Campus de Canela, Salvador, BA, Brasil, CEP: 40231-300. E-mail: rqnutri@gmail.com; oluap\_somel@hotmail.com



## RESUMO

Esta pesquisa avaliou o uso de grãos de kefir como cultura inicial para preparar uma bebida simbiótica de baixa caloria de kefir à base de frutas tropicais e adoçada com estévia. A fermentação foi realizada inoculando grãos de kefir em uma mistura de polpas de manga e umbu. Doze formulações foram avaliadas por uma análise de aceitação sensorial. As duas amostras mais pontuadas foram caracterizadas quanto ao teor de cinzas, umidade, proteínas, gorduras, carboidratos e calorias e submetidas a um estudo de estabilidade por 30 dias sob refrigeração (5 ° C), avaliando as bactérias do ácido láctico, leveduras, pH, acidez, cor (L \*, a \*, b \*, ΔE), sólidos solúveis, ácido ascórbico, aceitação sensorial e intenção de compra a cada 10 dias. Os ácidos láctico e acético foram analisados no início e no final do período. As duas amostras com maior teor de sacarose / estévia e polpa de frutas foram as mais aceitas pelos provadores. A bebida adoçada com estévia obteve um teor calórico estatisticamente mais baixo. Os resultados mostraram decréscimos nos parâmetros pH, vitamina C e aumento na acidez e ΔE. Ambas as bebidas apresentaram boa aceitação e podem ser consideradas como probióticos em potencial. A bebida adoçada com estévia mostrou resultados promissores em relação à bebida adoçada com sacarose no que diz respeito à elaboração de novas bebidas simbióticas de baixa caloria.

**Palavras-chave:** Kefir brasileiro, Teste de aceitação, Cores, Estudo de validade, Estévia.

## ABSTRACT

The objective of the research was to evaluate the use of kefir grains as the initial culture for symbiotic kefir beverage based on low calorie tropical fruits sweetened with stevia. The fermentation was carried out by the inoculation of kefir grains in mixed mango and umbu pulps. Twelve formulations were evaluated through a sensory acceptance analysis. The two highest-scoring samples were characterized by ash, moisture, protein, fat, carbohydrate, caloric content and went through a 30-day refrigeration period (5 ° C) in which lactic acid bacteria, yeast, pH, acidity, color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $\Delta E$ ), soluble solids, ascorbic acid, sensory acceptance and purchase intention evaluated every 10 days. The two samples with higher content of sweetener were the most accepted by the tasters. The stevia-sweetened beverage had statistically lower calorie content. The results showed decrease in pH, vitamin C, color parameters and increase of acidity and  $\Delta E$ . Both beverages presented good acceptance and there was no statistical difference for the sensorial analyzes until the 20th day, and they could be considered potentially probiotic during the storage period. The drink sweetened with stevia presented promising results in relation to sucrose sweetened drink for the elaboration of new low-calorie symbiotic beverage.

**Keywords:** Brazilian kefir, Acceptance test, Shelf-life study.

## 1. Introdução

O Kefir é uma bebida probiótica fermentada da Europa Oriental. Os grãos de kefir são uma agregação de leveduras, ácido láctico e bactérias do ácido acético que coexistem em simbiose e são envolvidas por uma matriz de polissacarídeos (Alsayadi, Azizi-Lalabadi & Kheirouri, 2014). Os substratos mais comuns utilizados para o kefir são água com açúcar mascavo e leite de vaca. Por outro lado, alguns estudos avaliaram a possibilidade de fermentar substratos alternativos, como sucos de frutas, para aqueles que sofrem de intolerância a laticínios (Laureys & De Vuyst, 2017). Umbu (*Spondias tuberosa*) e manga (*Mangifera indica* L.) são frutos comuns na região nordeste do Brasil, são ricos em nutrientes como carotenóides e ácido ascórbico e são usados para produzir sucos por suas características sensoriais muito apreciadas (Jahurul et al., 2015; Teixeira et al., 2019). O uso de frutas tropicais como substratos de fermentação tem o potencial de inserir novas bebidas de kefir no mercado de alimentos.

A elaboração de novas bebidas, combinando carboidratos prebióticos com microorganismos probióticos, mostra potencial no mercado de alimentos. Os frutooligosacarídeos (FOS) são considerados carboidratos prebióticos por seu potencial de servir como substratos para bactérias intestinais e para os microorganismos probióticos presentes em produtos alimentícios, quando utilizados em combinação (Freire, Ramos & Schwan, 2017). A elaboração de uma bebida simbiótica combinando FOS com kefir mostra a promessa de fornecer ao mercado de alimentos um produto rico em efeitos benéficos.

O alto consumo de bebidas açucaradas é resultado do uso abundante de sacarose na dieta brasileira e está associado ao risco de desenvolver obesidade. Estudos descobriram que o uso de bebidas adoçadas artificialmente pode reduzir o peso e

promover a saúde geral (Borges et al., 2017), pois os adoçantes artificiais geralmente têm um teor calórico zero.

*Stevia rebaudiana* é uma planta encontrada na América do Sul que contém glicosídeos, com potencial de adoçante até 300 vezes superior ao da sacarose e com teor calórico zero (Nayaranan, Chinnasamy, Jin & Clark, 2014). A maioria dos estudos sobre o uso de estévia e probióticos está associada a produtos lácteos, portanto, há uma falta de informações sobre a viabilidade do uso de estévia em bebidas probióticas não lácteas (Esmerino et al., 2013).

A aplicação de culturas probióticas em diferentes bebidas, especialmente frutas, é um desafio, porque deve haver um número suficiente de células microbianas até o final do prazo de validade, e as espécies probióticas mostram comportamentos diferentes com matrizes diferentes, portanto, o estudo da estabilidade na vida útil de novas bebidas probióticas é de grande importância (Shori, 2016). Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a viabilidade da produção de bebidas de kefir com sabor a frutas, simbióticas e de baixa caloria, com umbu e manga.

## **2. Material e métodos**

Polpas pasteurizadas de umbu e manga (Doce Mel), frutooligossacarídeo (New Nutrition), sacarose (União) obtidas no mercado local; grãos de kefir de água; extrato de pó de estévia (96,50% de esteviosídeo total, 60% de rebaudiosídeo A) doados pela Sweetmix; goma xantana e ácido ascórbico, doados por Sigma-Aldrich e Granolab, respectivamente.

## **2.1 *Preparo dos substratos para fermentação***

Cada formulação de bebida foi preparada de acordo com as proporções de polpa de frutas mostradas na Tabela 1. As polpas de frutas pasteurizadas foram descongeladas e homogeneizadas. Após a preparação, os substratos foram acondicionados em frascos de vidro estéreis, selados com tampas de rosca e refrigerados para posterior fermentação.

## **2.2 *Cultivo dos grãos de kefir***

O cultivo dos grãos de kefir foi realizado de acordo com Tavares, Silva, Santos, Nunes e Magalhães-Guedes (2018). Durante o período de sete dias, os grãos de kefir foram ativados à temperatura ambiente em uma solução contendo água e açúcar mascavo a 12 ° Bx. Após esse período, os grãos foram inoculados em proporção equivalente a 10% do volume das polpas de frutas mistas e deixados fermentar a 25 ° C em uma incubadora de BOD (CIENLAB CE-300/350) por um período de 24 horas.

## **2.3 *Adição dos demais ingredientes***

Após o processo de fermentação, os ingredientes restantes foram adicionados às bebidas da seguinte forma: água, sacarose / estévia, goma xantana, frutooligossacarídeo e ácido ascórbico (Tabela 1). A goma xantana foi adicionada a fim de evitar a separação de fases, frutooligossacarídeo, a fim de dar às bebidas o potencial simbiótico e o ácido ascórbico para compensar sua perda na compra de polpas de frutas pasteurizadas.

## **2.4 *Teste de aceitação***

A análise sensorial das bebidas de kefir foi realizada por 65 provadores não treinados, homens e mulheres. Os provadores foram solicitados a indicar o quanto eles gostaram ou não de cada bebida em uma escala hedônica híbrida de 10 cm (Villanueva, Petenate & Silva, 2005). As amostras foram servidas em copos transparentes de 50 mL em forma de tulipa. As duas bebidas com as maiores pontuações de aceitação foram

escolhidas para realizar as seguintes análises, como mostrado abaixo (uma amostra de cada grupo).

## **2.5** *Composição centesimal*

As duas amostras de kefir mais aceitas foram caracterizadas pelo teor de umidade, cinzas, carboidratos, proteínas, gorduras e calorias totais, de acordo com as técnicas estabelecidas por AOAC (2019). O teor de umidade foi determinado usando um analisador de umidade por infravermelho (GEHAKA, IV3100). Para o teor de cinzas, as amostras foram incineradas e pesadas. O teor de proteína foi determinado pelo método de Kjeldahl e o teor de gordura foi determinado pelo método de Bligh & Dyer (1959). Os carboidratos foram medidos como a diferença de 100% da soma das outras macromoléculas e as calorias foram calculadas considerando 4 kcal por 1g de carboidratos e proteínas e 9 kcal por 1g de gordura.

## **2.6** *Vida-de-prateleira*

As duas bebidas de kefir mais aceitas foram avaliadas quanto à estabilidade físico-química, microbiana e sensorial durante um período de 30 dias. Cada bebida foi produzida, embalada em frascos de vidro estéreis e mantida sob refrigeração a 5 ° C em uma incubadora de DBO (CIENLAB CE-300/350). As amostras foram coletadas a cada 10 dias para realizar as seguintes análises: pH, acidez titulável, vitamina C, sólidos solúveis totais, cor (AOAC, 2019), contagem de bactérias do ácido lático, contagem de leveduras (APHA, 2015), aceitação sensorial e intenção de compra (Meilgaard, Civille e Carr, 2007).

A acidez titulável foi determinada por titulação com uma solução de NaOH 0,01N. O pH foi determinado por leitura direta usando um potenciômetro (KASVI, K39-1014B). O conteúdo de vitamina C foi determinado por uma titulação redox usando uma solução

de iodo (AOAC, 2019). Os sólidos solúveis totais foram determinados usando um refratômetro analógico (Kruss Modelo DR 201-95). A cor foi analisada utilizando um colorímetro de bancada Konica Minolta CR 5 (Tóquio, Japão) no modo de transmitância, obtendo valores para L \*, a \* e b \*. A diferença total de cores ( $\Delta E$  ou dE) também foi calculada, usando a seguinte equação:  $\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$ .

Para a contagem de bactérias do ácido láctico (LAB), foram preparadas diluições 10-1, 10-2, 10-3, 10-4, 10-5 e 10-6 em solução salina, inoculadas em placas de ágar MRS (marca KASVI) suplementadas com ciclo-heximida (100 mg / L), incubados por 72 horas a 30 ° C e as Unidades de Formação de Colônias contadas. Para leveduras, as mesmas diluições acima foram preparadas, inoculadas em Saboraud Agar (marca KASVI) contendo cloranfenicol (500 mg / L) e incubadas por 120 horas a 30 ° C.

Os ácidos láctico e acético foram identificados e quantificados por Cromatografia Líquida de Alto Desempenho (Perkin Elmer Série 200) usando uma coluna polypore H (Perkin Elmer, 220 mm x 4,6 mm x 10 um), volume de injeção: 10 uL, detector Uv-Vis a 220 nm, vazão: 0,8 mL / min e fase móvel: água ultra-pura acidificada com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> até pH 2,0. Os picos correspondentes a cada ácido foram identificados a partir dos tempos de retenção de acordo com os padrões.

Um teste de aceitação sensorial foi realizado a cada 10 dias pelos mesmos provadores que participaram da análise preliminar, novamente utilizando uma escala hedônica híbrida de 10 cm (Villanueva, Petenate & Silva, 2005), determinando também

a intenção de compra dos produtos usando um escala que varia de 1 (definitivamente não compraria) a 5 (definitivamente compraria).

### **2.7** *Análise estatística*

Foi realizada uma ANOVA unidirecional para comparar as médias das 12 amostras no teste de aceitação preliminar e comparar os resultados médios de cada bebida individualmente durante o prazo de validade. O teste T foi utilizado para comparar os valores médios obtidos para as amostras na caracterização físico-química e para comparar as médias obtidas para as duas bebidas no mesmo período de validade. O teste de correlação de Pearson também foi aplicado entre todas as análises de prazo de validade. O software STATISTICA 7.0 foi utilizado considerando um nível de significância de 95%.

## **3. Resultados e discussão**

A Figura 1 abaixo mostra as pontuações médias de aceitação atribuídas a cada amostra na análise sensorial preliminar. As bebidas com menor concentração de polpa de frutas e adoçante apresentaram os piores resultados. As bebidas A6 e B6 apresentaram as maiores concentrações de polpa e adoçante de frutas e os maiores escores entre as amostras, ambos com escores acima de 6,50 pontos e, portanto, foram escolhidos para as análises de caracterização e prazo de validade.

As bebidas adoçadas com estévia obtiveram pontuações mais baixas quando comparadas às bebidas adoçadas com açúcar. Esse achado sugere que a capacidade adoçante da estévia pode incorrer em efeitos indesejáveis, como um leve sabor amargo, que podem diminuir a pontuação geral da bebida (Singla & Jaitak, 2016).



A Tabela 2 mostra os resultados da composição próxima para as duas bebidas com maior aceitação. Os resultados de umidade e carboidrato mostraram diferenças estatísticas entre as duas amostras, provavelmente devido à adição de sacarose à amostra A6, que impactou na contagem total de calorias.

O baixo número de calorias na amostra B6 é de interesse comercial, pois a demanda por bebidas açucaradas e produtos de baixa caloria vem aumentando no mercado internacional. Estudos também mostraram que um alto consumo de bebidas adoçadas com sacarose pode estar associado a uma maior chance de adquirir diabetes mellitus tipo 2 e outras doenças crônicas (Singh et al., 2015). Além disso, as evidências sugerem um efeito benéfico no índice de massa corporal quando as bebidas adoçadas com sacarose são substituídas por bebidas com baixas calorias, o que pode contribuir para uma redução no risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (Zheng, Allman-Farinelli, Heitmann e Rangan, 2015).

O uso da estévia mostra a promessa de contribuir para uma menor ingestão de energia e a promoção de um consumo equilibrado de calorias, além de ser um adoçante relativamente seguro considerado como GRAS (geralmente reconhecido como seguro) (Borges et al., 2017). Ambas as amostras apresentaram baixo teor de gordura e proteína, uma vez que os frutos geralmente não são ricos nesses nutrientes (O'Shea et al., 2015). Sabe-se que a fermentação do kefir produz peptídeos, que foram associados a alguns efeitos benéficos no organismo, como a inibição da lipogênese e a modulação do dano oxidativo (Tung et al., 2017). Em relação ao teor de cinzas, os resultados encontrados foram semelhantes aos descritos por Natal et al. (2017), enquanto trabalhava com sucos de manga.

A Figura 2 mostra o comportamento físico-químico das bebidas durante o período de validade de 30 dias. Em relação ao pH e acidez, como esperado, esses parâmetros

apresentaram comportamentos opostos durante o período, com forte correlação negativa entre eles para o kefir adoçado com sacarose (-0,97,  $p < 0,05$ ) e o kefir adoçado com estévia (-0,81,  $p < 0,05$ ). Os microrganismos presentes nos grãos de kefir são responsáveis pela produção de ácidos acético e láctico. Tavares et al. (2018) relataram que a produção de ácido láctico durante a fermentação do kefir é de grande importância, devido ao seu efeito inibitório sobre os microrganismos deteriorantes e patogênicos.

Em relação aos sólidos solúveis totais (SST), houve uma diferença significativa entre as amostras, o que pode ser explicado pelo fato de a estévia ser considerada um adoçante não calórico. Por outro lado, não foi observada diferença estatística entre os diferentes períodos de validade para a mesma amostra. Resultados diferentes foram identificados por Khatoon & Gupta (2015), que encontraram uma contagem mais baixa de TSS após 7 dias de armazenamento. Uma forte correlação positiva com a contagem de bactérias do ácido láctico (0,89,  $p < 0,05$ ) foi observada apenas para o kefir adoçado com estévia, o que pode estar associado ao fato de que os sólidos solúveis servem como substrato importante para a sobrevivência desses microrganismos.

Em relação ao ácido ascórbico, Oliveira, Ramos, Chaves & Valente (2013) sugeriram que uma perda de mais de 50% do conteúdo inicial de ácido ascórbico ao final do prazo de validade de um produto é determinante para o armazenamento de baixa qualidade. No presente trabalho, a perda de ácido ascórbico foi menor para ambas as bebidas (23,63% para a bebida adoçada com sacarose e 15,57% para a bebida adoçada com estévia), o que é um bom preditor.

Correlações negativas foram observadas entre ácido ascórbico,  $\Delta E$  (-0,94 para ambas as amostras,  $p < 0,05$ ) e acidez total (-0,92 para sacarose e -0,95 para kefirs adoçados com estévia,  $p < 0,05$ ). Foi encontrada uma correlação positiva com o pH (0,95 para sacarose e 0,90 para kefirs adoçados com estévia,  $p < 0,05$ ). Essas correlações são

justificadas, pois o ácido ascórbico pode se degradar em compostos de escurecimento devido a reações aeróbicas e anaeróbicas em soluções ácidas aquosas (Oliveira, Ramos, Chaves e Valente, 2013).

A Figura 3 mostra as contagens microbianas durante o período de validade de 30 dias e as concentrações de ácido láctico / acético. Em relação à contagem de bactérias do ácido láctico, em ambas as amostras, a contagem de T30 foi estatisticamente inferior à dos demais períodos analisados. O aumento do nível de acidez (correlação de -0,97 para a sacarose e -0,82 para as bebidas adoçadas com estévia,  $p < 0,05$ ) e a diminuição do pH (correlação de 0,99 para as duas amostras,  $p < 0,05$ ) poderiam justificar os níveis redutores de microorganismos. As contagens para todos os períodos analisados mostraram mais de 7,00 log<sub>10</sub>CFU por porção recomendada do produto (250 mL) e, portanto, os produtos podem ser considerados probióticos até o final do período de validade, conforme Bertazzoni & Benini (2008) . Os principais benefícios associados ao consumo dos microrganismos probióticos no kefir são: digestão melhorada, efeito hipocolesterolêmico, controle glicêmico, efeito anti-hipertensivo, efeito anti-inflamatório, atividade antioxidante, atividade anti-carcinogênica e efeito antialérgico (Rosa et al. , 2017).

O período encontrado para a vida útil dos probióticos no presente trabalho pode ser considerado concordante com os dados encontrados na literatura, com resultados variando de 7 (Nualkaekul, Cook, Khutoryanskiy & Charalampopoulos, 2013) a 28 (Da Costa et al., 2017) ou mais dias em estudos semelhantes. O uso da estévia como adoçante aparentemente não afetou o prazo de validade geral da bebida estudada, embora tenha sido observada uma diferença estatística para as contagens de LAB no 20º e 30º dias de análise. Esmerino et al. (2013) obtiveram resultados semelhantes, o uso de estévia não mostrou impacto na viabilidade das bactérias probióticas.

Com relação ao comportamento das leveduras, os resultados obtidos nos diferentes momentos da análise foram semelhantes aos obtidos por outros autores (Corona et al., 2016; Randazzo et al., 2016). As contagens de leveduras T30 também foram estatisticamente menores do que nos outros momentos analisados para ambas as amostras.

*Saccharomyces cerevisiae* é a levedura mais comum encontrada nas bebidas de kefir e tem sido associada a alguns efeitos benéficos, como a inibição do crescimento de *Shigella* sp. e a citotoxicidade das toxinas de *Clostridium difficile* (Bolla, Carasi, Bolla, De Antoni e Serradell, 2013). Foram encontradas fortes correlações com pH (0,91,  $p < 0,05$ ) e acidez (-0,96,  $p < 0,05$ ), mas apenas para o kefir adoçado com sacarose, o que pode ser devido ao fato de que outras variáveis, como o teor de sólidos solúveis poderia ter uma correlação mais importante com a contagem de leveduras no kefir adoçado com estévia.

A Figura 3d mostra o comportamento dos ácidos láctico e acético no início e no final do período de validade. A concentração de ácido láctico foi maior no final do período de fermentação e diminuiu no final do prazo de validade e resultados semelhantes foram encontrados por Puerari, Magalhães & Schwan (2012). O ácido acético apresentou comportamento oposto, com sua concentração aumentando no final do prazo de validade das duas amostras. Os ácidos láctico e acético são responsáveis pelo sabor único do kefir e também protegem a bebida da deterioração por microorganismos (Puerari, Magalhães & Schwan, 2012; Viana, Magalhães-Guedes, Braga Junior, Dias & Schwan, 2017). A modificação na concentração desses ácidos pode ser justificada pelo fato de que algumas bactérias do ácido láctico são capazes não apenas de produzir ácido láctico, mas de usá-lo como substrato para fermentação, produzindo ácido acético (Elferink et al., 2001). Como esperado, a contagem de LAB apresentou forte correlação positiva com a concentração

de ácido láctico (0,99,  $p < 0,05$ ), pois são seus principais produtores (Magalhães, Pereira, Dias & Schwan, 2010), enquanto a concentração de ácido acético apresentou fortes correlações com o valor de pH (-0,99,  $p < 0,05$ ) e acidez total (0,98,  $p < 0,05$ ).

A Figura 4 mostra os resultados para os parâmetros de cor e a diferença total de cores para ambas as amostras durante o período de validade. A amostra adoçada com açúcar apresentou valores gerais de cor diferentes dos da bebida stevia, provavelmente devido às diferentes formulações, com a bebida stevia contendo mais água e sem adição de sacarose. As amostras apresentaram uma diminuição em todos os parâmetros de cor durante o período de validade e o mesmo resultado foi observado por Costa, De Jesus & Rodrigues (2013).

A tabela 3 mostra os resultados obtidos nas análises sensoriais realizadas durante o prazo de validade das bebidas. Houve diferença estatística entre as amostras, com a bebida sacarose apresentando maior aceitação e maiores escores de intenção de compra, o que sugere maior familiaridade com seu sabor em relação à estévia. Resultados semelhantes foram encontrados por Alizadeh, Azizi-Lalabadi & Kheirouri (2014).

Quanto maior a vida útil, menor a pontuação encontrada para as duas bebidas nas duas análises. Costa, Júnior, Rosa & Pimentel (2017) obtiveram resultados semelhantes ao estudar uma bebida probiótica, e alguns provadores descreveram um gosto ácido em ambas as amostras na última análise de vida útil.

As alterações observadas no décimo dia de validade nas análises instrumentais de cores não parecem influenciar a aceitação da bebida, uma vez que uma diferença estatística foi observada apenas para aceitação global no último dia de análise e uma diferença notável em  $\Delta E$  já estava presente no vigésimo dia. Dias et al. (2012) discutiram

o fato de que, embora a cor seja uma característica sensorial importante, o sabor do produto pode ter um impacto maior na sua aceitação.

A acidez e o pH podem ser os parâmetros responsáveis pela diminuição da aceitação da bebida, uma vez que fortes correlações entre aceitação e acidez (-0,98 para sacarose e -0,85 para estévia,  $p < 0,05$ ) e pH (0,99,  $p < 0,05$  para ambas as amostras) pode indicar que os provadores que participaram dos testes sensoriais preferiram bebidas menos ácidas. Salmerón, Thomas & Pandiella (2015) discutem que a produção de ácidos acético e láctico pelos microrganismos do kefir afeta potencialmente os parâmetros físico-químicos e as características sensoriais gerais das bebidas.

A bebida com kefir adoçado com estévia mostrou aceitação global acima de 5,00 durante todo o prazo de validade e intenção de compra acima de 2,50 nos três primeiros períodos analisados, o que poderia mostrar uma disposição em aceitar a estévia como substituto da sacarose. Escores semelhantes foram encontrados por Randazzo et al. (2016) ao testar diferentes sucos de frutas como substratos para fermentação de kefir. Pimentel, Madrona e Prudêncio (2015) também encontraram valores semelhantes ao trabalhar com probióticos adoçados com sucralose, no entanto a sucralose é derivada de substâncias consideradas tóxicas, portanto o uso da estévia pode se beneficiar por ser uma substância natural com menor risco de toxicidade (Tandel, 2011 )

Os alimentos funcionais fazem parte de uma nova concepção de alimento, uma vez que, além de suas composições nutricionais, afetam benéficamente uma ou mais funções do organismo. Nesse contexto, a relevância do presente estudo foi responder a uma demanda crescente por produtos funcionais no mercado de alimentos (Markowiak & Slizewska, 2017). A interação entre as funções probiótica e prebiótica in vivo de forma sinérgica é interessante, uma vez que se sabe que os prebióticos aumentam a viabilidade

de algumas cepas microbianas (Pandey, Naik & Vakil, 2015) e promovem efeitos benéficos ainda maiores, além dos intrínsecos. para eles separadamente.

#### **4. Conclusão**

As bebidas diferiram em suas calorias totais, devido à qualidade não calórica do extrato de estévia, conferindo-lhe potencial comercial. Ambas as bebidas poderiam ser consideradas potencialmente probióticas durante o período de armazenamento e tiveram boa aceitação sensorial. Embora as análises instrumentais de cores tenham mostrado diferenças significativas, essas diferenças foram percebidas apenas nas avaliações sensoriais após 20 dias de armazenamento. Os resultados mostraram que ambas as bebidas funcionavam como matrizes viáveis para o kefir e poderiam ser implementadas no mercado de alimentos como novos produtos simbióticos, com a bebida de estévia tendo a vantagem de seu baixo conteúdo calórico e é um adoçante natural com baixa toxicidade. As bebidas podem servir como promotoras de uma dieta mais saudável e de uma microbiota intestinal equilibrada, especialmente para aqueles que sofrem de intolerância a laticínios, uma vez que contêm microorganismos benéficos e carboidratos não digeríveis, funcionando de maneira sinérgica.

#### **Agradecimentos**

Os autores agradecem ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Federal da Bahia pelo apoio financeiro, à empresa Sweetmix por doar o extrato de estévia em pó, à empresa Sigma-Aldrich por doar a goma xantana, à empresa

Granolab por doação de ácido ascórbico e à CAPES pela concessão de uma bolsa de estudos.

## Referências

- Alizadeh, M., Azizi-Lalabadi, M., & Kheirouri, S. (2014). Impact of Using Stevia on Physicochemical, Sensory, Rheology and Glycemic Index of Soft Ice Cream. *Food and Nutrition Sciences*, 5, 390-396.
- AOAC. (2019). *Official methods of analysis of AOAC international*. (21st ed.). Gaithersburg: AOAC International.
- APHA. (2015). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. (5th ed.). Washington: APHA Press.
- Bertazzoni, E., & Benini, A. (2008). Relationship between number of bacteria and their probiotic effects. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 20, 180-183.
- Bligh, E.G., & Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8).
- Bolla, P. A., Carasi, P., Bolla, L., De Antoni, G. L., & Serradell, L. (2013). Protective effect of a mixture of kefir-isolated lactic acid bacteria and yeasts in a hamster model of *Clostridium difficile* infection. *Anaerobe*, 21, 28–33.
- Borges, M.C., Louzada, M.L., De Sá, T.H., Lavery, A.A., Parran D.C., Garzillo, J.M.F., Monteiro, C.A., & Millett, C. (2017). Artificially Sweetened Beverages and the Response to the Global Obesity Crisis. *PLOS Medicine*, 1-9.
- Corona, O., Randazzo, W., Miceli, A., Guarcello, R., Francesca, N., Erten, H., Moschetti, G., & Settanni, L. (2016). Characterization of kefir-like beverages produced from vegetable juices. *LWT - Food Science and Technology*, 66, 572-581.
- Costa, K.K.F.D., Júnior, M.S.S., Rosa, S.I.R., Caliar, M., & Pimentel, T.C. (2017). Changes of probiotic fermented drink obtained from soy and rice byproducts during cold storage. *LWT - Food Science and Technology*, 78, 23-30.
- Costa, M.G.M., Fonteles, T.V., De Jesus, A.L.T., & Rodrigues, S. (2013). Sonicated pineapple juice as substrate for *L. casei* cultivation for probiotic beverage development: Process optimisation and product stability. *Food Chemistry*, 139(1-4), 261-266.
- Da Costa, G.M., Silva, J.V.C., Mingotti, J.D., Barão, C.E., Klososki, S.J., & Pimentel, T.C. (2017). Effect of ascorbic acid or oligofructose supplementation on *L. paracasei*



- viability, physicochemical characteristics and acceptance of probiotic orange juice. *LWT - Food Science and Technology*, 75, 195-201.
- Dias, N.A.A., Lara, S.B., Miranda, L.S., Pires, I.S.C., Pires, C.V., & Halboth, N.V. (2012). Influence of color on acceptance and identification of flavor of foods by adults. *Food Science and Technology (Campinas)*, 32(2), 296-301.
- Elferink, S.J.W.H., Krooneman, J., Gottschal, J.C., Spoelstra, S.F., Faber, F., & Driehuis, F. (2001). Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Physiology and Biotechnology*, 67(1), 125-132.
- Esmerino, E.A., Cruz, A.G., Pereira, E.P.R., Rodrigues, J.B., Faria, J.A.F., & Bolini, H.M.A. (2013). The influence of sweeteners in probiotic Petit Suisse cheese in concentrations equivalent to that of sucrose. *Journal of Dairy Sciences*, 96, 5512-5521.
- Freire, A.L., Ramos, C.L., & Schwan, R.F. (2017). Effect of symbiotic interaction between a fructooligosaccharide and probiotic on the kinetic fermentation and chemical profile of maize blended rice beverages. *Food Research International*, 100, 698-707.
- Jahurul, M.H.A., Zaidul, I.S.M., Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F.Y., Nyam, K., Norulaini, N.A.N., Sahena, F., & Omar, A.K.M. (2015). Mango (*Mangifera indica* L.) by-products and their valuable components: A review. *Food Chemistry*, 183(15), 173-180.
- Khatoon, N., & Gupta, R.K. (2015). Probiotics beverages of sweet lime and sugarcane juices and its physiochemical, microbiological & shelflife studies. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 4(3), 25-34.
- Laureys, D., & De Vuyst, L. (2017). The water kefir grain inoculum determines the characteristics of the resulting water kefir fermentation process. *Journal of Applied Microbiology*, 122(3), 719-732.
- Magalhães, K.T., Pereira, G.V.M., Dias, D.R., & Schwan, R.F. (2010). Microbial communities and chemical changes during fermentation of sugary brazilian kefir. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 1-10.
- Markowiak, P., & Slizewska, K. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and symbiotics on human health. *Nutrients*, 9(9), 1-30.
- Meilgaard, G.K., Civille, G.V., & Carr, B.I. (2007). *Sensory evaluation techniques*. (4<sup>th</sup> ed.). Boca Raton: CRC Press.
- Natal, D.I.G., Rodrigues, K.C.C., Moreira, M.E.C., Queiróz, J.H., Benjamin, L.A., Santos, M.H., Sant'Ana, H.M.P., & Martino, H.S.D. (2017). Bioactive compounds of the *Ubá* mango juices decrease inflammation and hepatic steatosis in obese Wistar rats. *Journal of Funcional Foods*, 32, 409-418.

- Nualkaekul, S., Cook, M.T., Khutoryanskiy, V.V., & Charalampopoulos, D. (2013). Influence of encapsulation and coating materials on the survival of *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium longum* in fruit juices. *Food Research International*, 53(1), 304-311.
- Oliveira, A.N., Ramos, A.M., Chaves, J.B.P., & Valente, M.E.R. (2013). Cinética de degradação e vida-de-prateleira de suco integral de manga. *Ciência Rural*, 43(1), 172-177.
- O'Shea, N., Ktenioudaki, A., Smyth, T.P., McLoughlin, P., Doran, L., Auty, M.A.E., & Gallagher, E. (2015). Physicochemical assessment of two fruit by-products as functional ingredients: apple and orange pomace. *Journal of Food Engineering*, 153, 89-95.
- Pandey, K.R., Naik, S.R., & Vakil, B.V. (2015). Probiotics, prebiotics and symbiotics- a review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 7577-7587.
- Pimentel, T.C., Madrona, G.S., & Prudêncio, S.H. (2015). Probiotic clarified apple juice with oligofructose or sucralose as sugar substitutes: sensory profile and acceptability. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 838-846.
- Puerari, C., Magalhães, K.T., & Schwan, R.F. (2012). New cocoa pulp-based kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. *Food Research International*, 48(2), 634-640.
- Randazzo, W., Corona, O., Guarcello, R., Francesca, N., Germana, M.A., Erten, H., Moschetti, G., & Settanni, L. (2016). Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. *Food Microbiology*, 54, 40-51.
- Rosa, D.D., Dias, M.M.S., Grzeskowiak, L.M., Reis, S.A., Conceição, L.L., & Peluzio, M.C.G. (2017). Milk kefir: nutritional, microbiological and health benefits. *Nutrition Research Reviews*, 30(1), 82-96.
- Salmerón, I., Thomas, K., & Pandiella, S.S. (2015). Effect of potentially probiotic lactic acid bacteria on the physicochemical composition and acceptance of fermented cereal beverages. *Journal of Funcional Foods*, 15, 106-115.
- Shori, A.B. (2016). Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. *Food Bioscience*, 13, 1-8.
- Singh, G.G., Micha, R., Khatibzadeh, S., Lim, S., Ezzati, M., & Mozaffarian, D. (2015). Estimated global, regional, and national disease burdens related to sugar-sweetened beverage consumption in 2010. *Circulation*, 132, 639-666.
- Singla, R., & Jaitak, V. (2016). Synthesis of rebaudioside A from stevioside and their interaction model with hTAS2R4 bitter taste receptor. *Phytochemistry*, 125, 106-111.
- Tandel, K.R. (2011). Sugar substitutes: Health controversy over perceived benefits. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 2(4), 236-243.

- Tavares, P.P.L.G., Silva, M.R., Santos, L.F.P., Nunes, I.L., & Magalhães-Guedes, K.T. (2018). Produção de bebida fermentada kefir de quinoa (*Chenopodium quinoa*) saborizada com cacau (*Theobroma cacao*) em pó. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 13(4), 1-7.
- Teixeira, N., Melo, J.C.S., Batista, L.F., Paula-Souca, J., Fronza, P., & Brandão, M.G.L. (2019). Edible fruits from Brazilian biodiversity: A review on their sensorial characteristics versus bioactivity as tool to select research. *Food Research International*, 119, 325-348.
- Tung, Y., Chen, H., Wu, H., Ho, M., Chong, K., & Chen, C. (2017). Kefir peptides prevent hyperlipidemia and obesity in high-fat-diet-induced obese rats via lipid metabolism modulation. *Molecular Nutrition and Food Research*, 62(3), 1-9.
- Viana, R.O., Magalhães-Guedes, K.T.; Braga Junior, R.A.; Dias, D.R., & Schwan, R.F. (2017). Fermentation process for production of apple-based kefir vinegar: Microbial, chemical and sensory analysis. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48, 592-601.
- Villanueva, N. D. M., Petenate, A. J., & Silva, M. A. A. P. (2005). Performance of the hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. *Food Quality and Preference*, 16(8), 691-703.
- Zheng, M., Allman-Farinelli, M., Heitmann, B.L., & Rangan, A. (2015). Substitution of Sugar-Sweetened Beverages with Other Beverage Alternatives: A Review of Long-Term Health Outcomes. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 115(5), 767-779.

**Tabela 1**

Formulações finais de bebida kefir

Sample	A1	A2	A3	A4	A5	A6	B1	B2	B3	B4	B5	B6
Mango (%)	15.00	20.00	25.00	30.00	35.00	40.00	15.00	20.00	25.00	30.00	35.00	40.00
Umbu (%)	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
Water (%)	65.87	60.87	52.87	47.87	38.87	33.87	68.86	63.86	58.85	53.85	48.84	43.84
Sugar (%)	3.00	3.00	6.00	6.00	10.00	10.00	-	-	-	-	-	-
Stevia (%)	-	-	-	-	-	-	0.01	0.01	0.02	0.02	0.03	0.03
Xanthan gum (%)	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
Fructooligosaccharide (%)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Ascorbic Acid (%)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Total (%)	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

Tratamento 1 - Grupo A (polpas de manga e umbu adoçadas com sacarose); Tratamento 2 - Grupo B (polpas de manga e umbu adoçadas com estévia).

**Tabela 2**

Resultados da composição centesimal para as duas amostras com a melhor aceitação.

Sample	Moisture (%)	Ashes (g / 100 mL)	Carbohydrates (g / 100 mL)	Fats (g / 100 mL)	Proteins (g / 100 mL)	Calories (kcal/ 100 mL)
Sugar-sweetened kefir beverage	84.37 ± 0.14 <sup>b</sup>	0.19 ± 0.01 <sup>a</sup>	14.70 ± 0.18 <sup>a</sup>	0.12 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.62 ± 0.02 <sup>a</sup>	62.61 ± 0.67 <sup>a</sup>
Stevia-sweetened kefir beverage	93.01 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.13 ± 0.02 <sup>a</sup>	6.18 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.11 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.63 ± 0.02 <sup>a</sup>	28.17 ± 0.19 <sup>b</sup>

Os resultados são mostrados como média ± desvio padrão. Letras minúsculas iguais indicam que não houve diferença significativa entre os resultados nas colunas em  $p \leq 0,05$ . Bebidas mistas de frutas: A6 (40% de polpa de manga, 15% de polpa de umbu, 10% de sacarose), B6 (40% de polpa de manga, 15% de polpa de

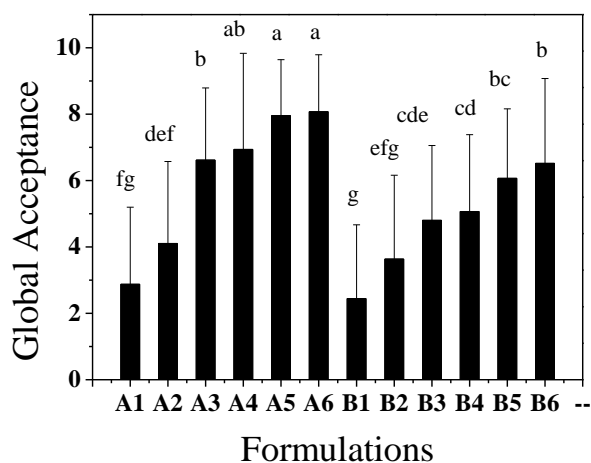
umbu, 0,03% de estévia). Em todas as formulações foram adicionados ácido ascórbico, FOS e goma xantana na proporção de 0,05g / mL, 1,00g / mL e 0,08g / mL, respectivamente.

### Tabela 3

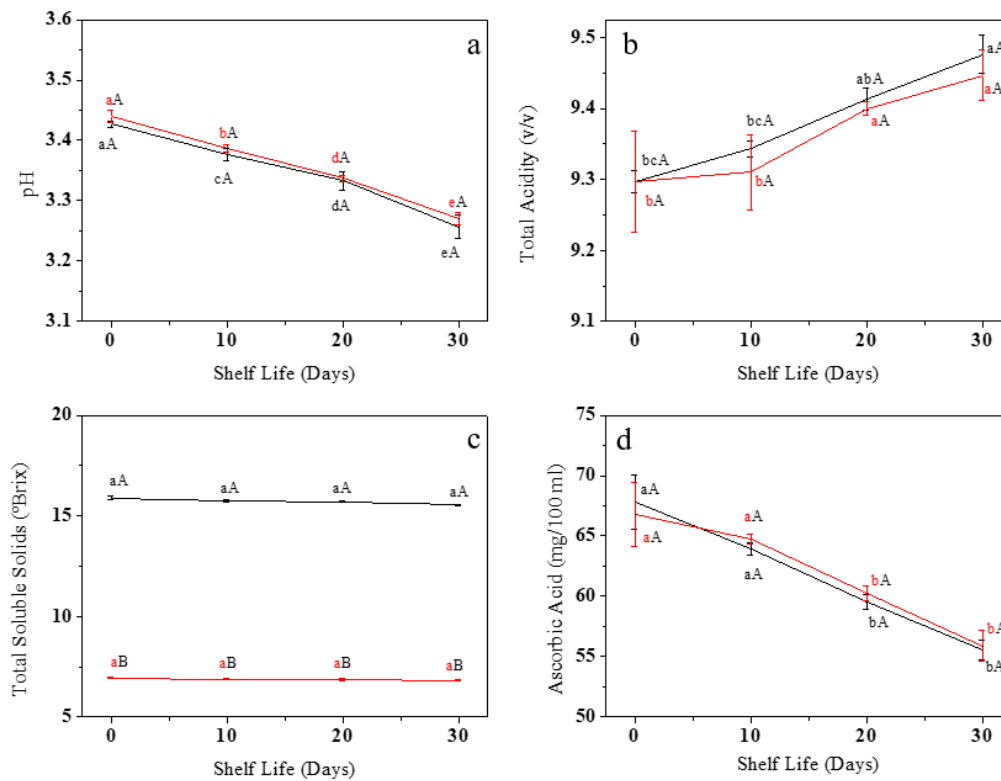
Resultados do teste de aceitação e intenção de compra para as bebidas mistas de kefir de frutas.

Shelf life (days)	Treatments			
	Sugar Sweetened Kefir Beverage		Stevia Sweetened Kefir Beverage	
	Global Acceptance	Purchasing Intention	Global Acceptance	Purchasing Intention
<b>0</b>	8.07 <sup>aA</sup> (1.71)	4.34 <sup>aA</sup> (0.78)	6.52 <sup>aB</sup> (2.56)	3.58 <sup>aB</sup> (1.30)
<b>10</b>	7.80 <sup>aA</sup> (1.24)	4.45 <sup>aA</sup> (0.71)	5,92 <sup>abB</sup> (1.41)	2.94 <sup>abB</sup> (1.04)
<b>20</b>	7.35 <sup>abA</sup> (1.17)	3.91 <sup>bA</sup> (0.70)	5,82 <sup>abB</sup> (1.25)	2.57 <sup>bB</sup> (1.05)
<b>30</b>	7,12 <sup>bA</sup> (1.08)	3.48 <sup>bA</sup> (0.89)	5,70 <sup>bB</sup> (1.21)	2.12 <sup>bB</sup> (0.93)

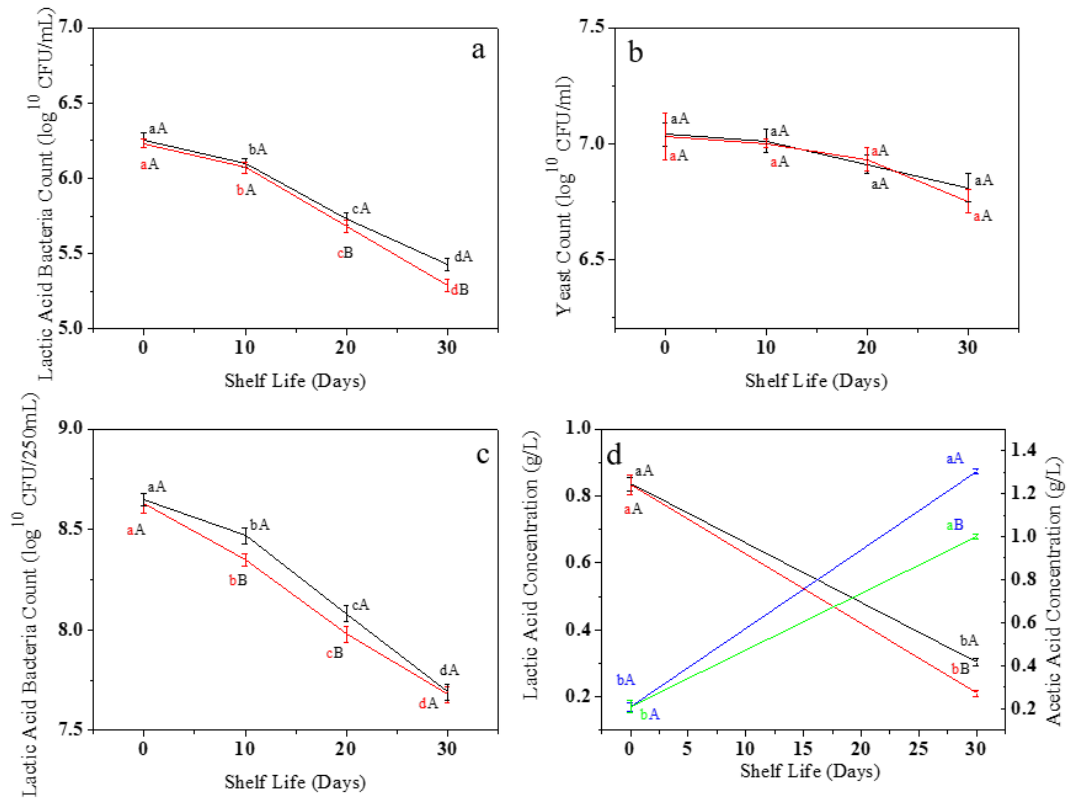
Resultados mostrados como média (desvio padrão). As mesmas letras minúsculas não indicam diferença significativa para a mesma amostra em diferentes períodos de validade em  $p \pm 0,05$ . A mesma letra maiúscula indica que não há diferença significativa para as diferentes bebidas para o mesmo período de validade analisado em  $p \pm 0,05$ .



**Fig. 1** - Escores médios para cada bebida no Teste de aceitação sensorial preliminar. As barras de erro mostram os desvios-padrão. Formulações: A1 (15% polpa de manga, 15% polpa de umbu, 3% de sacarose), A2 (20% polpa de manga, 15% de polpa de umbu, 3% de sacarose), A3 (25% de polpa de manga, 15% de polpa de umbu, 6% sacarose), A4 (30% polpa de manga, 15% polpa de umbu, 6% de sacarose), A5 (35% polpa de manga, 15% polpa de umbu, 10% sacarose), A6 (40% polpa de manga, 15% polpa de umbu, 10% de sacarose), B1 (15% de polpa de manga, 15% de polpa de umbu, 0,01% de estévia), B2 (20% de polpa de manga, 15% de polpa de umbu, 0,01% de estévia), B3 (25% de polpa de manga, 15% de polpa de umbu, 0,02% de estévia), B4 (30% de polpa de manga, 15% de polpa de umbu, 0,02% de estévia), B5 (35% de polpa de manga, 15% de polpa de umbu, 0,03% de estévia), B6 (40% de polpa de manga, 15% de polpa de manga) 0,03% de estévia). Em todas as formulações foram adicionados ácido ascórbico, FOS e goma xantana na proporção de 0,05g / mL, 1,00g / mL e 0,08g / mL, respectivamente. Letras minúsculas iguais indicam que não houve diferença significativa entre os resultados em  $p \leq 0,05$ .

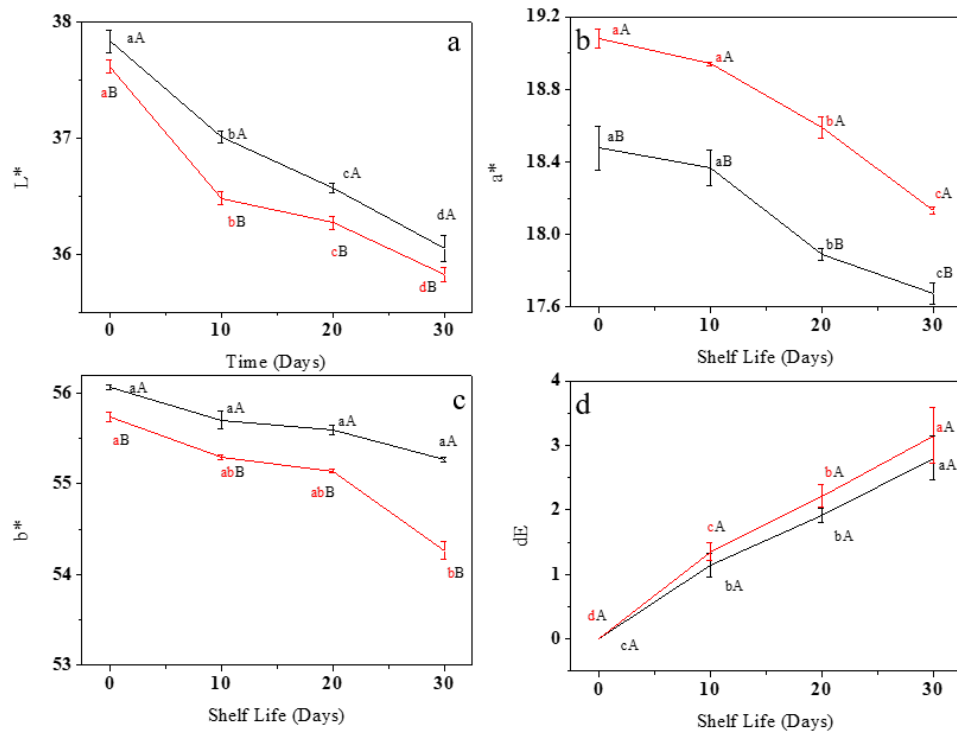


**Fig. 2** - Concentrações de pH (a), Acidez (b), Sólidos Solúveis Totais (TSS) (c) e Ácido Ascórbico (d) durante os 30 dias de validade. As barras de erro mostram os desvios-padrão. As mesmas letras minúsculas não indicam diferença significativa para a mesma amostra em diferentes períodos de validade em  $p \leq 0,05$ . A mesma letra maiúscula indica que não há diferença significativa para as diferentes bebidas para o mesmo período de validade analisado em  $p \leq 0,05$ . — Representa a bebida com stévia — representa a bebida com sacarose.



**Fig. 3** - Contagem de bactérias do ácido láctico (a) e leveduras (b) por mL e contagem de bactérias do ácido láctico (c) por 250 mL durante os 30 dias de validade e concentrações de ácido láctico / acético (g / L) no início e no final da prateleira período de vida. As barras de erro mostram os desvios-padrão. As mesmas letras minúsculas não indicam diferença significativa para a mesma amostra em diferentes períodos de validade em  $p \leq 0,05$ . A mesma letra maiúscula indica que não há diferença significativa para as diferentes bebidas para o mesmo período de validade analisado em  $p \leq 0,05$ . — e — Representam a bebida stevia. — e — representam a bebida com sacarose.





**Fig. 4** – Análises L\* (a), a\* (b), b\* (c) e  $\Delta E$  (d) durante os 30 dias de validade. As barras de erro mostram os desvios-padrão. As mesmas letras minúsculas não indicam diferença significativa para a mesma amostra em diferentes períodos de validade em  $p \leq 0,05$ . A mesma letra maiúscula indica que não há diferença significativa para as diferentes bebidas para o mesmo período de validade analisado em  $p \leq 0,05$ . — Representa a bebida com stévia — representa a bebida com sacarose.

## APÊNDICES

### APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Esclarecimento sobre a Participação na pesquisa: **“ELABORAÇÃO DE NOVAS BEBIDAS KEFIR COM REDUZIDO VALOR CALÓRICO A PARTIR DE SUCOS MISTOS DE FRUTAS TROPICAIS”**.

O (a) Sr. (a) está sendo convidado (a) a participar de forma voluntária do teste sensorial desta pesquisa. Após ler as informações que seguem abaixo, caso deseje participar, você deverá assinar as duas vias deste documento, cuja 1ª via ficará com o (a) Sr(a), e a 2ª via ficará com o responsável pela pesquisa.

**Pesquisadores Responsáveis:** Pedro Paulo Tavares (Discente PGAlI), Maria Eugênia de Oliveira Mamede (Professora PGAlI/Orientadora).

**Procedimentos:** O teste sensorial será realizado no Laboratório de Análise Sensorial da Faculdade de Farmácia da UFBA. Os julgadores receberão doze amostras das bebidas de manga e umbu fermentada e as provarão, uma a uma. Além disso, os participantes receberão fichas de teste de aceitação e intenção de compra para preencher.

**Benefícios com a sua participação:** O (a) Sr. (a) estará auxiliando na definição da aceitabilidade deste produto através do teste sensorial e no aumento da diversidade de produtos com potencial probiótico no mercado.

**Garantia do controle de riscos:** O kefir trata-se de um agregado de microrganismos benéficos ao organismo que não conferem riscos à saúde. No entanto, a bebida é elaborada com manga e umbu, recomenda-se que não participem aqueles que possuam algum tipo de alergia a esses frutos.

**Privacidade:** Os resultados da pesquisa serão publicados, porém seus dados coletados serão tratados com total sigilo e utilizados apenas para a realização desta pesquisa, de acordo com a Resolução Nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

#### CONSENTIMENTO

Eu, \_\_\_\_\_ declaro estar ciente e devidamente esclarecido (a) sobre a pesquisa que irei participar, bem como sobre seus objetivos, procedimentos, riscos e benefícios. Fui informado (a) sobre o meu direito de deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem que haja qualquer prejuízo para mim. Autorizo a utilização das informações por mim prestadas no teste sensorial e sua divulgação em eventos e revistas científicas.

Salvador, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante

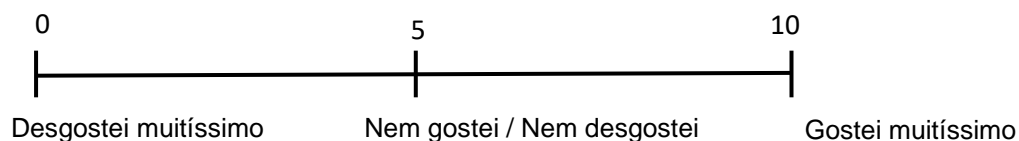
\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador

**APÊNDICE B – Ficha do Teste de Aceitação Sensorial e Intenção de Compra**

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

Amostra: \_\_\_\_\_

1. Por favor, avalie a amostra de bebida kefir de suco misto de frutas tropicais (umbu e manga) e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou da amostra em relação à impressão global.

**Impressão Global**

2. Agora avalie a amostra segundo sua intenção de compra, marcando com um X um dos termos da escala abaixo:

- ( ) 5 – Certamente compraria
- ( ) 4 – Possivelmente compraria
- ( ) 3 – Talvez compraria / talvez não compraria
- ( ) 2 – Possivelmente não compraria
- ( ) 1 – Certamente não compraria

Fonte: Villanueva, Petenate, & Silva, 2005; Meilgaard, Civille, & Carr, 2007.