



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS, SAÚDE E TECNOLOGIA**  
**CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**SILENE MARIA ALVES BARROS**

**BEBIDA À BASE DE ÁGUA DE KEFIR SABORIZADA COM ABACAXI E  
MARACUJÁ: ELABORAÇÃO, AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA,  
MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL**

**IMPERATRIZ-MA**

**2019**

**SILENE MARIA ALVES BARROS**

**BEBIDA À BASE DE ÁGUA DE KEFIR SABORIZADA COM ABACAXI E  
MARACUJÁ: ELABORAÇÃO, AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA,  
MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Maranhão, para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Virlane Kelly Lima Hunaldo.

**IMPERATRIZ-MA**

**2019**

BARROS, SILENE MARIA ALVES.

Bebida à base de água de kefir saborizada com abacaxi e maracujá: elaboração, avaliação físico-química, microbiológica e sensorial / SILENE MARIA ALVES BARROS. - 2019.

58 f.

Orientador(a): Virlane Kelly Lima Hunaldo.

Monografia (Graduação) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Maranhão, UFMA - Campus Avançado de Imperatriz - MA, 2019.

1. Aceitação Sensorial. 2. Contagem de células viáveis. 3. Frutas tropicais. 4. Microrganismos simbióticos. I. Hunaldo, Virlane Kelly Lima. II. Título.

**SILENE MARIA ALVES BARROS**

**BEBIDA À BASE DE ÁGUA DE KEFIR SABORIZADA COM ABACAXI E  
MARACUJÁ: ELABORAÇÃO, AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA,  
MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Maranhão, para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Virlane Kelly Lima Hunaldo.

Aprovado em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Virlane Kelly Lima Hunaldo (Orientadora)**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO (UFMA)

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Lúcia Fernandes Pereira (Membro)**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO (UFMA)

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana Crispim de Freitas (Membro)**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO (UFMA)

A Deus, pela graça de me conceder esta vitória.

A meus pais, irmãs, irmãos, sobrinhos e amigos pela força que têm me dado até aqui.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, que sempre foi a força maior em minha vida.

Agradeço em especial a minha orientadora, a Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Virlane Kelly Lima Hunaldo, pela dedicação, incentivo e paciência em me auxiliar na elaboração deste trabalho.

Agradeço a meus pais, meu pai Raimundo Nonato da Silva Barros que mesmo do céu está sempre me apoiando e minha mãe Maria do Espírito Santo Alves Barros que se dedicou para que eu pudesse realizar meu curso, permanecendo ao meu lado em todos os momentos, apoiando meus passos e decisões, às minhas irmãs Maria do Socorro Alves Barros e Maria Leonarda Alves Barros, aos meus irmãos Jons Alves Barros, James Alves Barros e Jorge Alves Barros pela ajuda nessa trajetória, obrigada pelo enorme incentivo de todos em todos os momentos, nada disso seria possível sem vocês.

Aos meus colegas de curso que tanto me ajudaram e fazem parte da minha história e tanto me ensinaram, especialmente Alana Câmara Guimarães e Rômicy Dermondes Souza que foram fundamentais para a elaboração deste trabalho e que tiveram grandiosa participação na elaboração desta monografia.

E por fim, aos professores que passaram por minha vida até aqui, deixando inúmeros ensinamentos.

DEUS marcou o tempo certo para cada coisa

Eclesiastes 3:11

## RESUMO

Os grãos de kefir de água são uma associação simbiótica composta por múltiplas espécies de bactérias e leveduras. Com a presença de espécies de *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* e *Streptococcus*, *Acetobacter* e gênero de *Lactobacillus* e *Saccharomyces*. Após fermentação tem-se uma bebida pobre em açúcar, levemente gaseificada, ácida, contendo baixo teor de álcool, podendo ser consumida *in natura* ou aromatizada ou adicionada de suco ou frutada fermentada. O presente trabalho teve como objetivo a elaboração de uma bebida à base de água de kefir e saborizada com frutas, bem como, sua avaliação microbiológica, físico-química e sensorial. Para isso, foram inoculados grãos de kefir em água com sacarose e realizada a fermentação a 25 °C/24 horas, a água de kefir obtida foi adicionada a polpa de abacaxi e a polpa de maracujá, as bebidas obtidas foram padronizadas com teor de sólidos solúveis em 11 °Brix, sendo em seguida refrigerada. Os resultados para análises microbiológicas demonstraram boa qualidade do produto, estando dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira na contagem de coliformes a 45 °C menor que 3 NMP/mL e ausência de *Salmonella spp.* em ambas as bebidas. Bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras e células viáveis, revelaram valores dentro do esperado para uma comunidade simbiótica de bactérias e leveduras. Os valores médios apresentados para os parâmetros físico-químicos para a água de kefir, bebida à base de kefir saborizada com abacaxi e sabor maracujá, como pH, °Brix, acidez total titulável, densidade à 20 °C, cinzas, e extrato seco foram considerados satisfatórios e estavam em conformidade com a legislação vigente. Na avaliação sensorial as bebidas desenvolvidas apresentaram boa aceitação global, com 94% de aceitação para a bebida sabor abacaxi e 96% para a bebida sabor maracujá. Com esses resultados, pode-se verificar a viabilidade de produção das bebidas à base de água de kefir como uma alternativa aos produtos lácteos fermentados.

**Palavra-chave:** Microrganismos simbióticos. Frutas tropicais. Contagem de células viáveis  
Aceitação Sensorial.

## ABSTRACT

Water kefir grains are a symbiotic association composed of multiple species of bacteria and yeast. With the presence of *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* and *Streptococcus*, *Acetobacter* species and genus of *Lactobacillus* and *Saccharomyces*. After fermentation, a low sugar, slightly carbonated, acidic, low alcohol drink may be consumed fresh or flavored or added with fermented juice or fruit. The objective of this work was the elaboration of a kefir water-based drink and flavored with fruits, as well as its microbiological, physicochemical and sensorial evaluation. For this, kefir grains were inoculated in sucrose water and fermented at 25 ° C / 24 hours, the obtained kefir water was added to pineapple pulp and passion fruit pulp, the drinks obtained were standardized with solids content. soluble in 11 ° Brix and then refrigerated. The results for microbiological analysis showed good product quality, being within the standards required by the Brazilian legislation in the coliform count at 45 ° C below 3 MPN / mL and absence of *Salmonella* spp. in both drinks. Mesophilic aerobic bacteria, mold and yeast, and viable cells revealed values within expectations for a symbiotic community of bacteria and yeast. The mean values presented for the physicochemical parameters for kefir water, pineapple-flavored kefir-based beverage and passion fruit flavor, such as pH, ° Brix, total titratable acidity, density at 20 ° C, ashes, and dry extract were considered. satisfactory and were in compliance with current legislation. In the sensory evaluation, the developed beverages presented good overall acceptance, with 94% acceptance for the pineapple flavor drink and 96% for the passion fruit flavor drink. With these results, it is possible to verify the feasibility of producing kefir water-based beverages as an alternative to fermented dairy products.

**Keyword:** Symbiotic microorganisms. Tropical fruits. Viable cell count Sensory Acceptance.

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	12
2.	REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1.	Kefir de água.....	14
2.2.	Frutas tropicais .....	18
2.2.1.	Abacaxi .....	19
2.2.2.	Maracujá .....	21
2.3.	Alimentos Funcionais.....	23
2.4.	Processo Fermentativo.....	25
3.	METODOLOGIA.....	28
3.1.	Matéria prima.....	28
3.2.	Procedimento de obtenção da água de kefir .....	28
3.3.	Elaboração das bebidas à base de água de kefir saborizada com abacaxi e maracujá..	29
3.4.	Análise microbiológicas da água de kefir e bebida à base de água de kefir saborizada com abacaxi e maracujá.....	30
3.4.1.	Coliformes totais e termotolerantes.....	30
3.4.2.	<i>Salmonella</i> sp. ....	30
3.4.3.	Bolores e leveduras.....	31
3.4.4.	Bactérias aeróbias mesófilas.....	31
3.4.5.	Contagem de células viáveis.....	31
3.5.	Físico-química da água de kefir e bebida à base de água de kefir saborizada com abacaxi e maracujá.....	32
3.5.1.	pH.....	32
3.5.2.	Sólidos Solúveis Totais (SST) .....	32
3.5.3.	Acidez Total Titulável (ATT) .....	32
3.5.4.	Densidade.....	32

3.5.5. Cinzas.....	33
3.5.6. Umidade.....	33
3.6. Análise sensorial.....	33
4. RESULTADO E DISCUSSÃO.....	35
4.1. Microbiológicas da água de kefir e bebida à base de água de kefir saborizada com abacaxi e maracujá.....	35
4.2. Físico-química da água de kefir e bebida à base de água de kefir saborizada com abacaxi e maracujá.....	39
4.3. Resultado da análise sensorial da bebida à base de água de kefir saborizada com abacaxi e maracujá.....	43
CONCLUSÃO.....	50
REFERÊNCIAS.....	51
ANEXO.....	58

## 1. INTRODUÇÃO

Os alimentos têm a função mais que fornecer nutrientes básicos necessários ao desempenho das funções do organismo. O desenvolvimento de produtos que promovem benefícios a saúde do consumidor pela presença de microrganismos benéficos tem se tornado promissor e seu consumo mais frequente. Os produtos probióticos surge como alternativa que comprove efeitos na composição microbiota intestinal, atua na imunidade com ação em microrganismo patogênico, além de fermentar substitutos do leite, como leite de coco e soja sendo uma opção para os intolerantes a lactose como também fermentados de frutas reduzindo o teor de açúcares, proporcionando melhor qualidade de vida (CABRAL, 2015; GAO *et al*, 2016).

Para atender a demanda de parte dessa população com restrições alimentar, o desenvolvimento de produtos probióticos não lácteos e com baixo teor de açúcar tem sido o foco de pesquisas no desenvolvimento de novos produtos. Além disso, grande número de pessoas tem adotado estilo de alimentação alternativa, com eliminação de produtos de origem animal como vegetarianismo e veganismo. Como fonte de consumo de probiótico, as bebidas fermentadas são as mais consumidas (ROBERFROID, 2000; TRIPATHI, *et al.*, 2014).

Os principais produtos consumidos em todo o mundo são produtos de frutas, por sua facilidade no preparo, *in natura* ou processado, e por seu valor nutricional. Dessa forma, o maracujá e abacaxi, frutas tropicais bastante consumidas no Brasil e mundo, sendo o Brasil um dos principais produtores dessas frutas tem se destacado na produção de processados frente a outras frutas. Assim, a produção de bebidas probióticas utilizando essas frutas tem grande valor comercial, frentes a outros sabores (IBGE, 2018; SILVA *et al.*, 2011).

Visando atender esse público, o desenvolvimento de produtos à base de kefir, conhecidos também como Tibico, formados por culturas probióticas, tem grande acessibilidade pois o seu preparo ainda é de base doméstico e de baixo custo. Essa acessibilidade facilita o consumo desse próbiotico, pois de modo geral os produtos próbioticos tem alto custo dificultando a aquisição por pessoas de baixa renda (TRIPATHI, *et al.*, 2014).

O Brasil apresenta grande diversidade de frutos tropicais com boas perspectivas para exploração econômica. A maioria das frutas são comercializadas regionalmente na forma de polpa, segundo dados do IBGE, 2018. Uma alternativa para o seu uso é como bebida fermentada de fruta constituindo um produto promissor, e devido tendência de aceitação em pesquisas de

consumo (BELCHIOR, *et al.*, 2013). O uso de frutas como o abacaxi e maracujá apresentam grande aceitação pelos consumidores, devido a suas características físico-químicas e sensorial (BELCHIOR, *et al.*, 2013; ROCHA, 2018).

O objetivo deste trabalho foi elaborar e caracterizar bebidas mistas de água de kefir e sucos de frutas, sabor maracujá e abacaxi, quanto as características físico-químicas, microbiológicas e sensorial

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

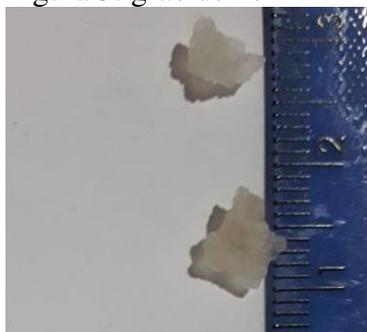
### 2.1 Kefir de água

O nome kefir é derivada palavra Turco keyif, que significa “bom sentimento” para os sentimentos vivenciados aos provadores da bebida (LEITE *et al.*, 2015). Culturalmente os grãos de kefir são obtidos por doação. Porém já podem ser encontrados para venda na forma desidratada, precisando ser ativado com o substrato para o seu desenvolvimento (GAWARE, 2011).

Os grãos de kefir são uma associação simbiótica de leveduras e bactérias envoltas por matriz polissacarídeos, composta por múltiplas espécies de bactérias ácidas, ácido-acético e leveduras. Entretanto, sua composição é variável em diferentes regiões do mundo, sendo encontrada em comum espécies de bactérias ácidas de *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* e *Streptococcus*, bactérias do ácido acético espécie de *Acetobacter*, e a predominância do gênero de *Lactobacillus* e leveduras *Saccharomyces* (GAO, 2016).

A aparência dos grãos apresentam consistência inelástica e frágil com aspecto gelatinoso, superfície irregulares. A coloração varia desde esbranquiçada, translúcido a amarelados em função do tipo de substrato utilizado para fermentação. O aumento de tamanho dos grãos ocorre durante a fermentação e se dividem para que se multipliquem em grandes quantidades. Os grãos são facilmente quebrados durante o manuseio e o crescimento insuficiente tornar-os gradualmente pequenos, aumentando a área de contato e podem abrigar células viáveis, pois os microrganismos estão ligados principalmente na superfície dos grãos (GULITZ, 2013).

Figura 3: grão de kefir



Fonte: Autora (2019)

A estabilidade dos grãos de kefir de água deve-se ao polissacarídeo dextrano, produto da absorção e metabolização ou conversão da sacarose por uma glicosiltransferase

(glucanosucrase) em um glucano e frutose, sendo a frutose utilizada como fonte adicional de carbono. Estudos demonstram que bactérias ácido lácticas *Lactobacillus hordei* produz uma rede específica composta por glucano identificados como dextrano, que promovem a agregação das leveduras *Saccharomyce cerevisiae*, reagindo diferentemente dos dextranos produzidos por outras bactérias ácido lácticas. Dessa forma, os grãos aumentam em tamanho durante a fermentação e se dividem. Assim eles se multiplicam em grandes quantidades, sendo os dextranos produzidos por *Lactobacillus hordei* os responsáveis pela iniciação do crescimento e formação da associação dos microrganismos dos grãos de kefir de água. O dextrano é um açúcar constituído de quantidades diferente de subunidade de glicose (GULITZ, 2013; LAUREYS *et al.*, 2017; XU *et al.*, 2018),

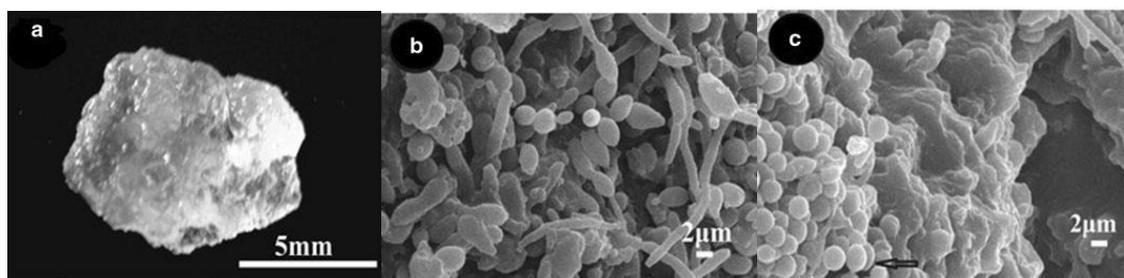


Figura 4: Grãos de kefir observada por microscópio eletrônico de varredura (MEV). a) superfície dos grãos de kefir. b) As células microbianas na porção interna. c) a presença de levedura na porção interna do kefir. Fonte: Magalhaes, *et al.*, (2010).

A composição microbiológica na porção externa do grão de kefir (Figura 4a) dominada por levedura que crescem em associação com bactérias (longas e curvas) (Figura 4b), as células microbianas na porção interna eram menores do que a parte externa (Figura 4 b, c). A seta na Figura c mostra a presença de levedura na porção interna do kefir grãos.

A ocorrência de ligações  $\alpha$ -1,3 realizados por unidades de glicose em dextranos solúveis ou não produzidas por *L. hilgardii* e outros *bacillus*, são responsáveis pela insolubilidade e estrutura. Cepas diferentes de *Lb. nairii* (TMW 1.1823, 1.1826, 1.1827) e *Lb. hordei* (TMW 1.1958) poderiam ser identificados como produtores de exopolissacarídeos enfatizando a importância dessas espécies. A formação desse biofilmes é responsável por proteger os grãos de kefir de água de estresse ambientais, formado não somente de exopolissacarídeos como também de ácidos nucléicos, lipídeos e/ou substâncias úmidas e proteínas (FELS *et al.*, 2018; VU *et al.*, 2009).

Culturalmente, a produção da bebida de kefir é realizado de modo artesanal tradicional, por meio da doação dos grãos. Também pode ser obtido por meio comercial em alguns países

da América do Norte e Europa, mas ainda em pequena escala, embora obtenha uma bebida que não apresente características sensoriais típicas da bebida pela omissão da fase de maturação (LEITE, 2013).

Segundo BRASIL (2007), através do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados define kefir como leite fermentado, adicionado ou não de outras substâncias alimentícias. Devido à presença de bactérias ácido-láticas e ácido acéticas e leveduras, os produtos de kefir podem ser obtidos através de dupla fermentação: láctica e alcoólica. Esses microrganismos realizam a fermentação da sacarose, produzindo assim exopolissacarídeos, que são necessários para o crescimento de grãos de kefir.

A elaboração da bebida que utiliza o kefir de água (conhecido com Tibico) utiliza apenas água e sacarose, produz uma bebida pobre em açúcar, sendo levemente gaseificada, ácida, contendo baixa quantidade de álcool, podendo ser consumida *in natura* ou aromatizada ou adicionada de suco ou frutada fermentada cuja fermentação é iniciada com grãos de kefir de água, ainda que o substrato preferencial seja a glicose pelo rápido consumo em relação a frutose. Semelhante ao kefir de leite, o kefir de água também é uma associação de diferentes microrganismos utilizados para preparação da bebida. As diferenças em suas composições devem-se a diferentes substratos e as condições utilizadas na fermentação, especialmente a temperatura. Por isso, o kefir de água apresenta maior concentração de leveduras *Saccharomyces* pela conversão dos açúcares (TAVARES *et al.*, 2018; LAUREYS *et al.*, 2014; STADIE *et al.*, 2013).

Estudo realizado por Gulitz, *et al.* (2011) mostra a diversidade na composição da microbiota do kefir de água encontradas em três amostras em que 453 isolados bacterianos foram obtidos, identificados como as *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus hordei*, *Lactobacillus nagelii*, *Lactobacillus hilgardii*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc citreum*, *Acetobacter fabarum* and *Acetobacter orientalis*.

Algumas funções importantes são atribuídas ao kefir por apresentarem microrganismos que produzem metabólitos que garantem a qualidade sensorial e microbiológica ao produto. Dessa forma, o kefir e bactérias ácido-láticas presentes na composição dos grãos produzem substâncias bacteriocinas, substâncias que apresentam propriedades antimicrobianas contra organismos patogênicos, saprófitas (RODRIGUES, *et al.*, 2005; GARROTE *et al.*, 2000). Seja por mecanismo de ação de competição por nutriente, produção de metabólitos ou inibidores

como peróxido de hidrogênio, ácidos orgânicos, diacetil e bacteriocinas, ou por combinação destes.

Os produtos fermentados à base de kefir, tendo como substrato o leite e açúcar, são responsáveis por efeitos positivos a saúde do consumidor (Tabela 4), como benefícios aos intolerantes a lactose, pois promovem trânsito mais lento, melhorando a digestão da lactose e ação na  $\beta$ -galactosidase que continua ativa após o consumo, hidrolisando a lactose produzindo a galactose que é absorvida. Testes laboratoriais realizados em ratos, utilizando grãos de kefir de leite, demonstraram a ação antitumorais e antimutagênica a partir de isolados de *Streptococcus*, *Lactobacillus* e *Leuconostoc*. Outros estudos também demonstraram atividades cicatrizantes e agentes anti-inflamatórios utilizando biofilmes de kefir (FARNWORTH, 2005; RODRIGUES *et al.*, 2005). Aos grãos de kefir de água foi atribuída atividade antimicrobiana com ação das bactérias *Candida albicans*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *salmonella typhi* e *Shigella sonnei*, com a capacidade de interagir em locais específicos na *Salmonella* envolvidos no processo de infecção da mucosa intestinal mascarando as estruturas durante a invasão (MOZZI, *et al.*, 2016).

Tabela 4: Benefícios atribuídas ao kefir

Benefícios	<p>Antimutagênico</p> <p>Anticarcionogênico</p> <p>Atividade antibacteriano</p> <p>Atividade Fungo</p> <p>Sistema imunológico</p> <p>Antioxidante</p> <p>Antiinflamatório</p> <p>Efeito colesterol alto</p> <p>Modulação gastrointestinal, tratamento e prevenção de infecção gastrointestinal</p> <p>Intolerância a lactose</p> <p>Osteoporose</p> <p>Antidiabético</p>
------------	--

Fonte: (KESENKAŞ *et al.*, 2016).

Apesar de ser uma bebida tipicamente obtida da fermentação do leite, com a produção de derivados lácteos estão sendo desenvolvidos como iogurte, queijo. O emprego de outros substratos, em alternativa aos produtos lácteos, tendo como base a sacarose e frutose, o próprio suco de frutas *in natura* na produção de bebidas carbonatadas, como a produção de vinhos e bebidas destiladas. A mais recente aplicação da água de kefir é na área da panificação, usada na produção de fermento natural, conhecido como levain, devido ao seu valor microbiológico (DORNELLES, *et al.*, 2006).

As bebidas de kefir não lácteo atualmente desenvolvidas não são fontes de proteína. Devido a esse déficit nutricional COSTA (2018) propôs um bebida vegetal com um blend de extrato de inhame, feijão e gergelim a base de kefir, visando a suplementação com o inhame fonte de carboidratos, feijão de proteína e e gergelim rico em lipídeos para melhora nutricional do produto.

## **2.2 Frutas Tropicais: abacaxi e maracujá**

Os sucos de frutas são os principais produtos consumidos em todo o mundo, não só pelo seu sabor, mas, também, por serem fontes naturais de carboidratos, carotenóides, vitaminas, minerais e outros componentes importantes. A inclusão de componentes encontrados em frutas e suco de frutas pode ser importante na prevenção de doenças e para uma vida mais saudável. (PINHEIRO, *et al.*, 2006)

A Instrução Normativa nº 01/00 dispõe sobre os Padrões de Identidade e Qualidade para Polpa de Fruta (e Suco de Fruta), a polpa de fruta é o produto não fermentado, não concentrado, não diluído, obtida de frutos polposos, através de processo tecnológico adequado, com um teor mínimo de sólidos totais, proveniente da parte comestível do fruto. Ainda segundo instrução normativa o suco das frutas, abacaxi (*Ananas comosus*, L.) e maracujá (*Passiflora*, *spp.*), é uma bebida obtida da parte comestível do fruto, através de processo tecnológico adequado. Deverão apresentar características de odor e sabor próprios de cada fruta. Para o suco de abacaxi, a coloração varia desde o branco ao marfim enquanto para o suco de maracujá a variação amarela à alaranjada. Deverão apresentar características de odor e sabor próprios de cada fruta (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

### **2.2.1. Abacaxi (*Ananas comosus*, L.)**

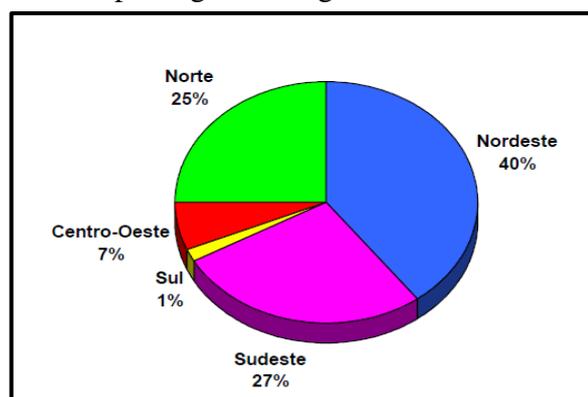
É popularmente conhecido como abacaxi (ananás), com nome científico *Ananas comosus* (L.) Merrill, apresenta cerca de 46 gêneros e 1700 espécies, ocorrendo principalmente em zonas tropicais. Produzida pelo abacaxizeiro, uma planta herbácea de porte baixo, entre 1-2m de altura, e perene em seu ciclo natural, a inflorescência terminal que originará o fruto (ASIM, *et al.*, 2015, UFRGS).

O abacaxi é uma fruta tipicamente tropical encontrada na América do Sul, em países no Brasil, Peru, México Colômbia, Equador, Paraguai, México e Costa Rica. Mas, encontra-se disseminada pela América do Norte, Europa, África. É a terceira fruta tropical mais importante, com produção mundial aproximadamente de 25 milhões de toneladas, sendo o Brasil o maior produtor de abacaxi da América do Sul (SANEWSKI, 2018).

O abacaxi é um fruto não composto constituído por 100 a 200 frutinhos do tipo baga, é caracterizado por um aglomerado de uma ou duas centenas de pequenos frutos (gomos) em torno de um mesmo eixo central, popularmente chamados de “olhos” ou “escamas” em que cada um dele é o fruto verdadeiro que cresceu a partir de uma flor, e estes se fundem em um grande corpo, chamado infrutescência, no topo do qual se forma a coroa, normalmente com formato cilíndrico ou ligeiramente cônico. A polpa apresenta coloração branca, amarela ou laranja-avermelhada, com o peso depende da variedade geralmente de um e 2,5 quilos (SILVA, 2001; SANEWSKI, 2018).

O Brasil ocupa terceira posição na produção mundial de abacaxi com participação de cerca de 8,2%. O abacaxizeiro ocupa a terceiro lugar dentre as principais fruteiras produzidas no Brasil (IBGE, 2018). O abacaxi é um fruto cultivado em todo o território nacional, com predomínio na produção de pequenos produtores, com áreas inferiores a um hectare e segundo o IBGE (2018), em 2017 a área colhida com o abacaxi foi de 62.116 hectares com a produção de 1,5 bilhões de frutos. Os dados demonstram a participação por regiões no ano de 2017 com o nordeste possuindo maior participação (40%), seguido do Sudeste (27%) e do Norte (25,0%), que contribuem com 92% da produção nacional.

Figura 1: Produção brasileira de abacaxi por região Fisiográfica 2017



Fonte: IBGE Produção Agrícola Municipal, 2017.  
Consultado em 10/11/2019

Os frutos do abacaxizeiro destinam-se ao consumo *in natura* ou industrializado. Bastante apreciado seu consumo fresco pelas suas características sensoriais, com equilíbrio entre acidez e açúcar. Os principais produtos da industrialização do abacaxi, tanto no Brasil quanto no exterior são a compota da fruta em calda (fatias ou pedaços) e suco pasteurizado (concentrado ou não), seguido pela produção de geleias, enlatado, congelado, em calda, cristalizado, em forma de passa e pickles e utilizado na confecção de doces, sorvetes, cremes, balas e bolos (GRANADA, 2004; DE OLIVEIRA, 2017).

Devido a disponibilidade de abacaxi, a sua aplicação tem se tornado bastante frequente para diferentes finalidades, tais como na indústria alimentícia, cosméticos, medicamentos, em função da presença da enzima bromelina e outras proteases de cisteína presentes em diferentes partes do abacaxi (ARSHAD, 2014).

Segundo FRANCO (2001), o abacaxi apresenta composição química de 89,9% de água, 3,2% de celulose e 0,3% de sais, rico em sais minerais e vitaminas A, C, B1 e B2, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1: Composição química média do abacaxi

Componentes	Quantidades (por 100 gramas)
Glicídios	13,70
Proteínas	0,40g
Lipídeos	0,20g
Cálcio	18,00m
Ferros	0,5mg
Fósforo	8,00mg
Fibras	0,95g
Niacinas	0,82mg
Ácido ascórbico	27,20mg

Tiamina	80,00mcg
Riboflavina	128,00mc
Retinol	5,00mcg
Calorias	52,00Kcal

Fonte: FRANCO (1989).

Para o suco integral de abacaxi, a legislação brasileira determina a composição da fruta com a presença de sólidos solúveis (°Brix a 20 °C), mínimo 11, a acidez total em ácido cítrico, mínimo 0,3 g/100 g, os açúcares totais, naturais do abacaxi, máximo 15 g/100 g (BRASIL, 2018). Já para os padrões microbiológicos, a legislação determina para sucos de frutas, ausência de coliformes totais (a 35 °C) em 50mL e ausência de *Salmonella sp.* em 25 mL do produto (BRASIL, 2001).

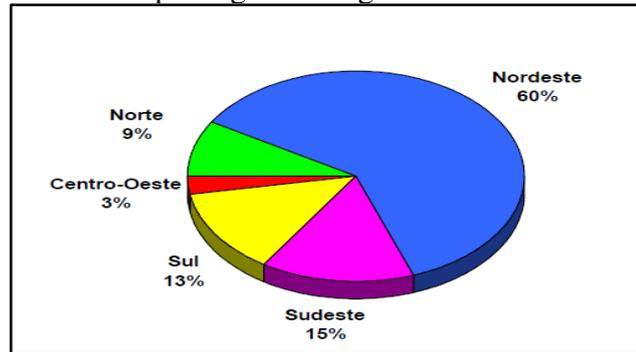
### 2.2.2. Maracujá (*Passiflora, spp.*)

O fruto do maracujazeiro, o maracujá, normalmente apresenta-se arredondado, dependendo da espécie apresenta coloração que pode variar desde o verde ao alaranjado, suas sementes achatadas e pretas, envolvidas por um arilo de textura gelatinosa de coloração amarelada e translúcida. (ZERAİK, *et al.*, 2010)

O termo maracujá é uma denominação indígena, de origem Tupi, que significa "alimento em forma de cuia". Da família *Passifloraceae* e gênero *Passiflora*, o maracujá possui aproximadamente 400 espécies sendo as mais conhecidas no Brasil, as espécies *Passiflora edulis Sims.* (maracujá-roxo), *Passiflora edulis f. flavicarpa Deg.* (maracujá-amarelo) e o *Passiflora alata Dryand* (doce) (ZERAİK, *et al.*, 2010).

O país com maior produção mundial de maracujá atualmente é o Brasil, produzindo um milhão de toneladas/ano da fruta, possui produtividade é considerada baixa, com média de 14 t/ha/ano. No Brasil, as espécies com maior expressão comercial são a *Passiflora edulis* (maracujá-azedo) e a *Passiflora alata* (maracujá-doce), sendo exportado para a países da Europa e América Latina, sendo os estados do nordeste os responsáveis por mais da metade da produção nacional. Apesar do Brasil ser o maior produtor, o Equador é o maior exportador de suco concentrado (50° Brix) do maracujazeiro-azedo. Outra importância comercial é o uso da *Passiflora* como plantas ornamentais em paisagismo e utilizada como planta medicinal. (EMBRAPA, 2016; IBGE, 2017)

Figura 2: Produção brasileira de maracujá por região Fisiográfica 2017



Fonte: IBGE Produção Agrícola Municipal, 2017.  
Consultado em 10/11/2019.

Para o suco de maracujá, os limites estabelecidos para a composição segundo a legislação de teores sólidos solúveis ( $^{\circ}$ Brix a 20°C), mínimo 11, acidez total em ácido cítrico, mínimo 2,5 g/100 g e açúcares totais, naturais do maracujá, máximo 18 g/100 g (BRASIL, 2018).

De acordo com SEAGRI, (2010), o suco de maracujá apresenta a seguinte composição: calorias (51 a 53 Kcal), proteínas (0,39 a 0,67 g), carboidratos (13,6 a 13,7 g), gordura (0,05 g), cálcio (3,6-3,8 mg), fósforo (12,4-24,6 mg), vitamina A (717 a 2.410 mg). Enquanto que a composição química da polpa de maracujá Tabela 2, formada por sementes pretas cobertas de uma substância amarela e translúcida, ligeiramente ácida e de aroma acentuado.

Tabela 2: Composição química da polpa do maracujá.

Componentes	Quantidades (por 100 gramas)
Glicídios	21,2g
Proteínas	2,2g
Lipídeos	0,7g
Cálcio	13,00mg
Ferro	1,6mg
Fósforo	17mg
Potássio	360mg
Vitamina A	70mcg
Vitamina B1	150mg
Vitamina B2	100mcg
Vitamina C	128,00mc
Calorias	15,6Kcal

Fonte: FRANCO (2001).

Além da comercialização do fruto, polpa e seus derivados industrializados, como os sucos, néctares. O fruto possui potencial efeito a saúde sobre a utilização no tratamento da ansiedade como relatado por VARGAS *et al.* (2007), redução glicêmica devido ao consumo da farinha da casca do fruto como verificado em QUEIROZ *et al.* (2012) e tratamento da

hipertensão utilizando extrato de maracujá por ZIBADI *et al.* (2007). O desenvolvimento de bebida mistas prebióticas realizada por OLIVEIRA, *et al.*, (2015) com aplicação de inulina e os frutooligossacarídeos, apresentou-se promissora com aceitação global acima de 70%.

### **2.3. Alimentos Funcionais**

Nos últimos anos, os consumidores demonstraram grande interesse em consumir alimentos que podem prevenir doenças, que mantenham características naturais ou por alimentos minimamente processados ou por técnicas de biopreservação. Conseqüentemente, a investigação alimentar funcional atraiu o interesse de vários pesquisadores para aumentar a diversidade desses produtos no mercado. Em geral, o leite fermentado é a principal matriz proteica para ligação de microrganismos probióticos consumidos (COSTA, 2018; TRIPATHI, *et al.*, 2014).

Definido pela Organização Mundial de Saúde, os probióticos são organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2001). Dessa forma, os probióticos devem sobreviver às condições do trato digestório humano, seja promovido por uma linhagem ou associação de microrganismos que promova o benefício a saúde do consumo (BRASIL, 2018).

A maioria dos alimentos probióticos produzidos são produtos fermentados. Os benefícios atribuídos aos alimentos funcionais fermentados são devidos ao efeito probiótico ou devido ao efeito biogênico. A maioria dos produtos probióticos fermentados tem como base o leite, mas em função do crescimento de intolerantes à lactose e as novas tendências de estilo de alimentar, veganos e vegetarianos, tem-se buscado como alternativa o desenvolvimento de produtos à base de vegetais, cereais, sucos de frutas, soja, aveia visando atender esses consumidores. Algumas espécies de microrganismos são consideradas viáveis levando em consideração a ação probiótica no organismo humano, aspectos tecnológicos para a produção e preservação dos microrganismos etapas de processamento e armazenamento. O Food and Dry Administration recomenda que o alimento probiótico dever apresentar no mínimo a contagem de célula vivas em  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup> (TRIPATHI, *et al.*, 2014).

A legislação brasileira lista os microrganismos considerados probióticos ANVISA, Tabela 3, (SANTOS, 2011).

Tabela 3: Lista dos microrganismos probióticos aprovadas pela ANVISA (BRASIL, 2008)

<b>Grupo</b>	
<b>Funcional</b>	<b>Tipos de microrganismos</b>
Probióticos	Probióticos <i>Lactobacillus acidophilu</i> <i>Lactobacillus casei shirota</i> <i>Lactobacillus casei variedade rhamnosus</i> <i>Lactobacillus casei variedade defensis</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium animalis (incluindo a subespécie B. lactis)</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Enterococcus faecium</i>

Segundo ROBERFROID (2000), em uma revisão na literatura científica sobre a ação dos probióticos no sistema fisiológico obteve informações científicas que demonstram uma diversidade de benefícios a saúde atribuídas ao consumo dos probióticos. Dentre eles destacam-se manutenção da microflora intestinal normal, proteção contra patógenos, melhora do sistema imunológico sistema, redução do nível sérico de colesterol e pressão arterial, atividade anti-carcinogênica, melhor utilização de nutrientes e melhor nutrição valor internacional dos alimentos. O uso como intervenção terapêutica dos probióticos incluem a prevenção de diarreia infantil, doenças urinogenitais, osteoporose, alergia e doenças atópicas; redução das diferenças induzidas por anticorpos arréia; alívio da constipação e hipercolesterolemia; controle de doenças inflamatórias intestinais; e proteção contra câncer de cólon e bexiga.

Em vista à comunidade microbiológica presente no kefir, este pode ser considerado um alimento funcional capaz de promover benefícios à saúde dos consumidores. Diversos estudos realizados por Gultiz *et al.*, (2013), Laureys *et al.*, (2014) a ação do kefir pela presença de microrganismos promotores da saúde. O mais recente é a presença da bactéria da espécie *Bifidobacterium* naturalmente presente no trato gastrointestinal, encontrada na flora fecal. Sua presença tem sido associada a benefícios a saúde. Dentre os efeitos ao organismo, estão a prevenção de diarreia, melhoria de intolerância à lactose ou imunomodulação, determinando a sua presença como um componente de alimentar importante (SCHELL *et al.*, 2002; LAUREYS, 2016).

## 2.4. Processo Fermentativo do kefir

Tradicionalmente o kefir é bebida obtida da fermentação do leite, os grãos são adicionados ao leite, passa por fermentação a temperatura ambiente 25 °C por aproximadamente 24h. Logo depois são coados e removidos os grãos que serão reutilizados para uma nova fermentação e líquido obtido é a bebida fermentada. Com o kefir de água que utiliza o substrato a água açucarada ou diretamente em suco de frutas segue o mesmo padrão de processo (GULITZ, 2013).

O resultado da fermentação pelos grãos de kefir é a uma bebida auto-gaseificada e refrescante com a produção de dióxido de carbono, ácidos lácticos e acéticos, acetaldeído, acetoína, baixa concentração de álcool, além de compostos aromáticos, com a produção de uma bebida decorrente da atividade simbiótica de bactérias e leveduras conferindo sabor típico da bebida. (GAO, 2016; SAY, *et al.*, 2019). A comunidade microbológica que formam os grãos de kefir e presentes na água de kefir, embora nesta em menor quantidade, confere a ambos valor probiótico e funcional (LAUREYS *et al*, 2014). Isso se deve ao processo fermentativo na produção da bebida de kefir de água. Tal procedimento pode ser realizado em duas etapas, a primeira a partir da fermentação pelos grãos de kefir em água com sacarose ou suco de frutas, ou ainda com a utilização do leite como substrato, podendo ser consumida *in natura*. Na segunda etapa acontece a fermentação da mistura do fermentado adicionada de fruta ou suco natural. E o adequado desenvolvimento das culturas estão vinculados ao substrato, disponibilidade de nutriente e condições fermentativa (LAUREYS *et al*, 2014, 2017)

Nos kefirs de água que passam por segunda fermentação que ocorre em condição de anaerobiose, em função do consumo do oxigênio e consumido e de dióxido de carbono produzido pelas leveduras presentes na bebida açucarada. Em condições aeróbicas as concentrações de ácido acético e acetato de etila são maiores quando comparada em condição de anaerobiose, enquanto o etanol, ácido láctico e glicerol apresentam menores concentração em condição aeróbica. Além disso, durante a fermentação aeróbica as concentrações de acetato de etila são maiores e as de ésteres mais altos apresentaram menores concentração quando em fermentação anaeróbica (LAUREYS, 2018).

Estudo realizado LAUREYS (2017) descrevendo o comportamento fermentativo do kefir de água em diferentes tempos de fermentação, demonstrou que crescimento dos grãos de kefir aumenta até o esgotamento da sacarose. Os principais metabólitos produzidos durante o

processo fermentativo são CO<sub>2</sub>, o etanol com produção paralela do glicerol, seguido da produção paralela dos ácido acético e ácido lático e manitol. Enquanto, os componentes responsáveis pelo aroma foram o álcool isoamílico, 2-metil-1-propanol, hexanoato de etila, octanoato de etila e acetato de isoamil. Outros compostos também foram encontrados kefir de água como o acetato de isoamila, o hexanoato de etila, o octanoato de etila e o decanoato de etila responsáveis aromas frutados e florais e podem exercer uma influência importante no aroma dos licores de kefir de água.

Em estudo por YAMAN, *et al.*, (2010) foi constatado a variação do pH durante a fermentação, em kefir de leite, sendo que no início do processo ocorreu uma rápida diminuição do pH em função da produção do ácido lático e ácido acético e tornou-se mais lento nas últimas horas do processo. Esse resultado é semelhante ao encontrado por LAUREYS *et al.*, (2017) para ao kefir de água, durante a fermentação aeróbica do kefir de água ocorreu a proliferação de bactérias ácido acéticas, resultando em altas concentrações de ácido acético e, portanto, baixos valores de pH. Provavelmente, isso causou uma lenta mas gradual diminuição no crescimento dos grãos provocado pelo estresse ácido excessivo acelerando o processo fermentativo.

Durante o processo fermentativo são sintetizadas substâncias responsáveis pela formação do aroma, como os compostos de acetaldeído, acetona, acetato de etila, 2-butanona, diacetil do kefir de leite. A produção de acetaldeído na formação de sabor e aroma deve-se a presença de *Libra. bulgaricus* do que na produção de ácido lático em bactérias iniciadora de kefir. Outros compostos responsáveis pelo aroma nos licores de kefir de água como o acetato de isoamila, o hexanoato de etila, o octanoato de etila e o decanoato de etila exercem aroma frutados e florais importantes. Na segunda hora após o início da fermentação foi verificada a produção do diacetil, sendo o produto provável do catabolismo da glicose estando sua produção ligada à formação de piruvato. O piruvato é preferencialmente convertido em lactato e piruvato residual é convertido em acetaldeído e diacetil, o que justificar a formação de sabor e aroma no também no kefir de água (BESHKOVA, *et al.*, 2003)

Comparando filtrados de fermentado de água de kefir, leite de vaca e leite de cabra, HSIEH, *et al.*, (2012) observou a presença isolado *Leu. mesenteroides* e *S. cerevisiae* representando 98% e 86% do total de isolados na água de kefir, respectivamente, que os tornaram as espécies bactérias ácido-láticas e leveduras mais dominantes no amostras de açúcar mascavo, enquanto que para o filtrado de leite de vaca, foi encontrado *Lc. lactis* e *S. Cerevisiae* foram os LAB e leveduras mais dominantes, respectivamente. No entanto, *Lc. Lactis* e *P.*

*fermentans* foram as principais linhagens do kefir de leite de cabra, demonstrando que o substrato utilizado interfere na distribuição do microorganismos.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1. Matéria prima

A produção das bebidas à base de água de kefir saborizada com abacaxi e maracujá ocorreu nos Laboratórios da Universidade Federal do Maranhão, Campus Imperatriz, onde foram realizados o processo de fermentação, análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais. Para tanto, foram adquiridos no comércio local maracujá e abacaxi, em condições ideais de consumo (sem murchamentos ou machucados) e no estágio ideal de maturação.

#### 3.2. Procedimento de obtenção da água de kefir

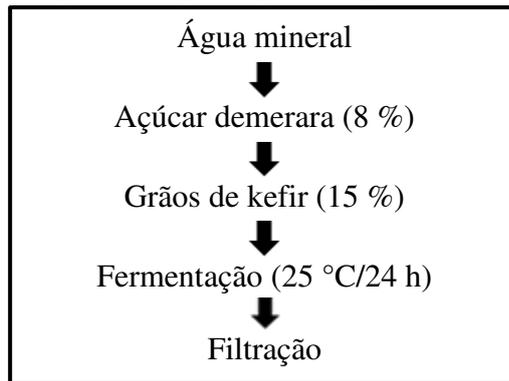
Os grãos de kefir utilizados foram obtidos por doação. Para a obtenção da água kefirada foi adicionado 15g de açúcar demerara, 40g de grãos de kefir em 1000 mL de água mineral. Imediatamente após a inoculação, a mistura foi mantida em estufa incubadora tipo BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio) a temperatura 25 °C por um período de 24 h (MAGALHÃES *et al.*, 2010), em frascos cobertos com gaze permitindo a liberação dos gases produzidas durante a fermentação. Os grãos de kefir foram separados por peneiramento, obtida a água kefirada e coada em filtro e recuperado os grãos de kefir.

Figura 5: Fermentação dos grãos de kefir



Fonte: autora.

Figura 6- Fluxograma de produção da água fermentada de kefir.

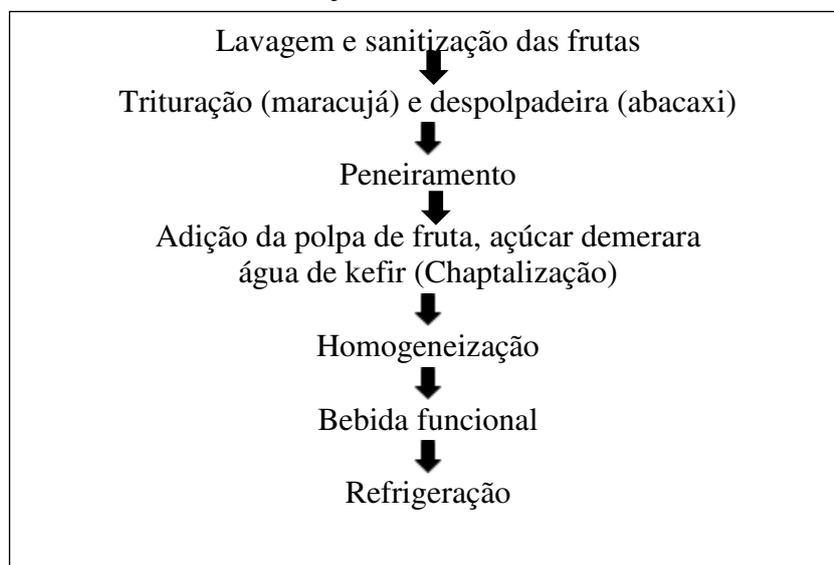


Fonte: Autora (2019)

### 3.3. Elaboração das bebidas à base de água de kefir saborizada com abacaxi e maracujá

Inicialmente, os utensílios e os frutos selecionados foram lavados com solução de detergente seguido de sanitização em solução clorada com concentração de 150mg/L, cortados, e despolpados em despolpadeira para obtenção da polpa de maracujá e abacaxi. Em seguida as polpas foram pesadas de acordo com a formulação, diluídas em água de kefir e depois misturadas com açúcar. Em seguida foram homogeneizadas em liquidificador doméstico por um minuto, seguidos de filtração em peneira de plástico.

Figura 7 – Fluxograma de produção da bebida funcional sabor abacaxi e sabor maracujá



Fonte: Autora (2019).

A formulação da bebida sabor maracujá foi padronizada com 10% (p/v) da polpa de maracujá de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2000), seguida de um balanço de massa com sacarose comercial e água kefirada até 11 °Brix. A bebida sabor abacaxi, foi padronizada em 40% (p/v) da polpa de abacaxi, seguida de balanço de massa com sacarose comercial e água kefirada até 11°Brix. Após a pesagem da polpa de acordo com a formulação, estes foram diluídos em água kefirada e depois misturados com açúcar, e então, homogeneizados em liquidificador doméstico por um minuto, seguidos de filtração em peneira de plástico. As bebidas foram envasadas a  $\pm 8$  °C, em garrafas de vidro transparentes, pré-esterilizadas em autoclave. Foram formuladas três repetições de cada formulação.

### **3.4. Análise microbiológicas da água de kefir e bebidas à base de água de kefir saborizada com abacaxi e maracujá**

#### **3.4.1. Coliformes totais e termotolerantes**

Para a avaliação dos coliformes totais e termotolerantes utilizou-se a técnica do número mais provável (NMP), segundo a metodologia de Siqueira, (1995).

Foram retirados 25 mL de amostra e adicionado a 225mL de água peptonada. Depois, foi retirada da mistura uma alíquota de 1mL e adicionado em tubos contendo 10 mL de Caldo Lauril Sulfato de Sódio (LST) com tubos de Durhan invertidos, para cada amostra em triplicata, os quais foram posteriormente incubados a 35 °C e realizada leitura 24 e 48hrs. Seguindo a metodologia descrita pela APHA (American Public Health Association), (2001).

#### **3.4.2. *Salmonella sp.***

Para determinação de *Salmonella sp.* foram adicionados de 25 mL das amostras em 225 mL de água peptonada, obtendo a diluição  $10^{-1}$ . Depois, transferido 1,0mL da mistura para enriquecimento seletivo em tubos, com 10mL de caldo Selenito Cistina e Tetracionato de Kauffmann, realizadas em triplicada para cada amostra e incubadas a 45 °C por 24 horas. Em seguida, foi retirado da diluição uma alíquota de cada tubo com auxílio de uma alça de estéril

e semeada em placas contendo: Ágar Sulfito de Bismuto e o Ágar Entérico de Hektoen, a qual foi incubada a 45 °C por 48 horas e realizada a leitura, seguindo a metodologia descrita pela APHA (American Public Health Association, 2001).

### **3.4.3. Bolores e leveduras**

Para contagem de bolores e leveduras (UFC g<sup>-1</sup>), foram retirados 25 mL de amostra e adicionado a 225mL de água peptonada e preparadas três diluições sucessivas (0,1; 0,01 e 0,001). Depois, foi retirada da diluição 10<sup>-3</sup> uma alíquota de 1mL e inoculada em Placas Petri contendo meio de cultura Ágar Batata Dextrose (PDA), posteriormente colocados em estufa incubadora a 25 °C com as placas invertidas, realizar leitura e contagem em 24 e 48hrs. Para cada amostra foram realizadas em triplicata seguindo a metodologia descrita pela APHA (2001).

### **3.4.4. Bactérias aeróbias mesófilas**

Contagem de bactérias aeróbicas mesófilas (UFC/g), foram retirados 25 mL de amostra e adicionado a 225 mL de água peptonada e preparadas três diluições sucessivas (0,1; 0,01 e 0,001). Depois, foi retirada da diluição 10<sup>-3</sup> uma alíquota de 1mL e inoculada em Placas Petri contendo meio de cultura Ágar Padrão para Contagem (PCA), posteriormente colocados em estufa incubadora a 35 °C e realizada leitura e contagem em 24 e 48hrs. Para cada amostra foram realizadas em triplicata, seguindo a metodologia descrita pela APHA (2001).

### **3.4.5. Células Viáveis**

Foi determinado segundo Vargas (2011), para a estimativa de células por mL através da Equação 1:

$$N = \frac{N_t}{Q} \times D \times 1000, \quad (1)$$

onde:

N - número de células por mL;

Nt - número total de células contadas;

Q - número de quadrantes contados;

D -fator de diluição utilizado.

### **3.5. Análise Físico-Químicas da água de kefir e bebida à base de água de kefir saborizada com abacaxi e maracujá**

#### **3.5.1.pH**

A determinação do pH foi realizada por meio de leitura direta, segundo Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008).

#### **3.5.2.Sólidos Solúveis Totais (SST)**

Os sólidos solúveis totais foram determinados por meio de refratômetro manual, conforme as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008).

#### **3.5.3.Acidez Total Titulável (ATT)**

A determinação da acidez titulável foi realizada por meio de titulação volumétrica com solução de NaOH 0,1 N e solução alcoólica de fenolftaleína 1% como indicador, utilizando 10 mL da amostra e 100 mL de água destilada, seguindo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL) (2008).

#### **3.5.4.Densidade**

A determinação da densidade foi realizada por picnometria a 20 °C conforme as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008).

### 3.5.5. Cinzas

Para essa determinação foi feita a pesagem de aproximadamente 7 g da amostra que foi incinerada em mufla a 550°C, resfriada em dessecador a temperatura ambiente e pesada. (IAL, 2008).

#### Cálculo

$$\frac{100 \times N}{P} = \text{cinzas por cento m/m}$$

N = nº de gramas de cinzas

P = nº de gramas da amostra

### 3.5.6. Umidade

A determinação de umidade foi feita por secagem em estufa a 105 °C, Para isso, foi pesado aproximadamente 7 g da amostra em capsula de porcelana, previamente tarada. Resfriada em dessecador até a temperatura ambiente (IAL, 2008).

#### Cálculo

$$\frac{100 \times N}{P} = \text{umidade ou substâncias voláteis a 105°C por cento m/m}$$

N = nº gramas de umidade (perda de massa em g)

P = nº de gramas da amostra

### 3.6. Avaliação Sensorial

O projeto de pesquisa foi previamente aprovado (Parecer nº. 3.469.461) pelo Comitê de Ética na Pesquisa em Seres Humanos segundo Conselho Nacional de Saúde – CEP/CONEP com CAAE (17665319.0.0000.5087).

A análise sensorial foi realizada na Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz - MA, com a participação de 100 provadores não treinados de ambos os sexos, com idade a partir 18 anos. As amostras (aproximadamente 15 mL) foram servidas em taças de vidro, à temperatura

de 20 °C ± 2 °C, codificados com três dígitos aleatórios, balanceados com relação à ordem de apresentação em cabines individuais.

Para a análise sensorial, os julgadores preencheram a ficha sensorial e assinaram um termo de consentimento (ANEXO). A aceitação das bebidas à base de kefir sabor abacaxi e sabor maracujá foram avaliada através de teste de preferência utilizando escala hedônica de 9 pontos, variando de 1 (desgostei muitíssimo) a 9 (gostei muitíssimo) para os atributos sabor, corpo, aroma, cor, aparência e impressão global (MEILGAARD *et al.*, 1987).

Utilizou-se também o teste de escala do ideal, a qual foi estruturada de 9 pontos com os termos extremos desde “extremamente mais forte que o ideal” a “extremamente menos forte que o ideal” com variação de valores +4 a – 4 sendo o valor 0 considerado como “região ideal”, para avaliação sensorial de doçura, acidez e corpo (STONE; SIDEL, 2004).

A intenção de compra da bebida foi avaliada mediante escala de estruturada de cinco pontos, (DUTCOSKY, 2013).

Todos os dados foram obtidos com a análise sensorial, avaliados por meio dos gráficos de percentuais de frequência e histograma, das análises físico-química foram obtidos com a média e desvio padrão de triplicatas dos valores encontrados nas análises, após tabulação em programa Excel versão 2013. Para avaliação dos dados da escala hedônica, os dados obtidos foram agrupados em regiões denominadas de aceitação (referentes aos percentuais de frequência das categorias representadas por 6 a 9), indiferença (percentuais de frequência da categoria 5) e rejeição (percentuais de frequência das categorias de 1 a 4). Quanto aos dados relacionados à intenção de compra, o percentual referente a categoria “certamente compraria” e “provavelmente compraria” foram somados e denominados de região de compra, os percentuais da categoria “tenho dúvidas se compraria” denominado região de dúvida e os percentuais das categorias “certamente não compraria” e “provavelmente não compraria” serão somados e denominados de região de não compra.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análises microbiológicas da água de kefir e bebida à base de água de kefir saborizada com abacaxi e maracujá

Nas Tabelas 5, 6 e 7 são apresentados os resultados microbiológicos das amostras de água de kefir, bebida à base de água de kefir saborizada com abacaxi e bebida à base de água de kefir saborizada com maracujá, respectivamente.

Em todas as amostras observou-se que a contagem de coliformes a 45 °C foi menor que 3 NMP/mL e ausência de *Salmonella* sp em 25 mL de amostra. Assim, estão dentro dos padrões microbiológicos, conforme previsto em legislação (BRASIL, 2000). Portanto, a produção das bebidas foi realizada dentro dos padrões higiênicos sanitários para a produção de alimentos.

Tabela 5: Resultado da análise microbiológica da água de kefir

Parâmetros	Valores
Coliformes totais e fecais	< 3NMP/25mL
<i>Salmonella</i> sp.	Ausência
Bolores e leveduras	3x10 <sup>3</sup> UFC/mL
Bactérias aeróbias mesófilas	5x10 <sup>3</sup> UFC/mL
Células viáveis	2,65x10 <sup>6</sup> UFC/mL

Observou-se que a contagem de bolores e leveduras na água de kefir foi de 3x10<sup>3</sup> UFC/mL (Tabela 5). A quantificação de bolores e leveduras, deve-se ao consórcio de microrganismos existente entre bactérias e leveduras nos grãos de kefir que migram para água açucarada. Diversos estudos realizados, identificaram a maior presença da levedura *Saccharomyces cerevisiae* nesse consórcio de microrganismos na água de kefir em relação a presença de outras leveduras *Hanseniaspora valbyensis*, *Lachancea fermentati* e *Zygorulasporea florentina* (GLUTZ, 2011; LAUREYS 2017; STADIE 2013).

A Tabela 5, apresenta a quantidade de bactérias aeróbias mesófilas encontradas na água de kefir, 5x10<sup>3</sup> UFC/mL. Essa alta contagem de bactérias influencia positivamente no processo fermentativo na produção de metabólitos, contribuindo para as características sensoriais da bebida, favorecida pela ação das leveduras. A composição de bactérias tanto nos grãos de kefir como na água fermentada apresentam variações de espécies conforme a origem dos grãos. Entretanto as bactérias mais comumente encontradas são do gênero *Lactobacillaceae*, *Bifidobacteriaceae*, *Leuconostocaceae*, *Clostridiaceae* e *Acetobacteráceas* (GARROTE *et al.*,

2001; GULITZ *et al.*, 2011; CHEN *et al.*, 2009; LAUREYS *et al.*, 2014). Estudos realizado por Gulitz e Stadie mostraram que a maioria de bactérias ácido lácticas correspondem a 81% pertencem as espécies de *Lactobacillos hordei*, *Lactobacillo nagelii*, *Lactobacillo hilgardii*, *Lactobacillo mesenteroides / citreum* do fermentado do kefir de água.

Portanto, o crescimento, sobrevivência e atividade de microrganismos deteriorantes ou patogênicos, está limitado ao controle de fatores ótimos do ecossistema do simbióticos, que possibilitem reações fisiológica e bioquímicas da população simbiótica do kefir que impedem o desenvolvimento desses microrganismos indesejáveis (MAGALHÃES *et al.*, 2010; GLUTZ, 2013; GIRAFFA,2004). A presença das bactérias era esperada, por se tratar de ecossistema simbiótico de leveduras e bactérias, pois esses microrganismos na água de kefir contribuem para as características sensoriais da bebida, aumento do valor nutricional além de evitar deterioração de produtos por outros microrganismos.

Com relação as células viáveis, o fermentado de água de kefir apresentou  $2,65 \times 10^6$  UFC/mL, apresentando quantidade necessária para promoverem efeitos benéficos à saúde. A definição de alimentos funcionais são alimentos ou componentes que além de nutrir, promovam benefícios à saúde, pois previnem ou revertem condições que comprometem a saúde ((ILSI, 1999). Com base nesse resultado, a bebida de kefir pode ser considerada uma bebida funcional, com alegação de benefício à saúde. Além da presença de compostos naturalmente presentes que previnem ou diminuem riscos à saúde.

Na produção de bebida fermentada de água de kefir em condições próximas a descritas neste trabalho, Laureys *et al.* (2014) reportaram a contagem viáveis para leveduras e bactérias ácido lácticas médias  $6,3 \pm 0,2$  e  $6,9 \pm 0,1$  log UFC/mL. Em outro estudo o mesmo autor, Laureys *et al.* (2017) encontraram o valor de contagens viáveis de bactérias ácido láctico e leveduras com  $7,1 \pm 0,3$  e  $6,1 \pm 0,3$  log UFC/mL, respectivamente.

Tabela 6: Resultado das análises microbiológicas da bebida à base de kefir de água sabor abacaxi

Parâmetros	Valores
Coliformes totais e fecais	< 3NMP/25mL
<i>Salmonella sp.</i>	Ausência
Bolores e leveduras	$3 \times 10^3$ UFC/mL
Bactérias aeróbias mesófilas	$1,5 \times 10^4$ UFC/mL
Células viáveis	$1,85 \times 10^6$ UFC/mL

Verifica-se que por meio do resultado da Tabela 6 que a bebida à base de kefir de água saborizada com abacaxi apresentou mesmo número de colônias apresentada para a bebida fermentada de água de kefir para bolores e leveduras,  $3 \times 10^3$  UFC. A estagnação no crescimento das leveduras pode ter ocorrido devido a tolerância a concentração de álcool produzido no processo fermentativo anteriormente realizado. Assim, pode ter levado a inibição o crescimento da levedura pela sua desnaturação na presença do etanol acima de 8 °GL (SOUZA *et al.*, 2018).

O número de colônias de bactérias aeróbias mesófilas na bebida à base de kefir de água saborizada com abacaxi sofreu aumento 1 ciclo logaritmo em relação a bebida fermentada de água de kefir. Assim, o aumento de bactérias apresentado no fermentado de kefir é promovida pela ação de leveduras que fornecem fatores de crescimento, como vitaminas compostos nitrogenados solúveis, que por sua vez são beneficiadas com o aumento da acidez promovida pela produção de compostos ácidos pelas bactérias, propiciando ambiente favorável ao crescimento desses microrganismos (GIRAFFA G., 2004; CHEN, *et al.*, 2008). Esse aumento, demonstrou que o abacaxi é um meio eficiente para o desenvolvimento de bactérias, visto que a estabilidade em pH mais ácido da bebida possa ser o fator que favorece as leveduras e essa contribui para o crescimento das bactérias.

O aumento de bactérias apresentado na Tabela 6 está relacionado a um aumento do processo fermentativo, representando presença de bactérias ácido lácticas que são responsáveis pelo aumento dos grãos de kefir e diminuição do valor do pH na conversão do álcool, produzido pelas leveduras, em ácido acético, acelerando o processo e diminuindo o tempo de fermentação (STADIE, 2013).

Como observado na Tabela 6, manteve constante as células viáveis da bebida à base de água de kefir saborizada com abacaxi em relação ao fermentado de kefir. Esse resultado é decorrente da adição de polpa ao fermentado de kefir durante a formulação da bebida.

Tabela 7: Resultado da análise microbiológica da bebida à base de kefir de água saborizada com maracujá

Parâmetros	Valores
Coliformes totais e fecais	< 3NMP/25mL
<i>Salmonella sp.</i>	Ausência
Bolores e leveduras	$4 \times 10^3$ UFC/mL
Bactérias	$7 \times 10^3$ UFC/mL
Células viáveis	$3,5 \times 10^5$ UFC/mL

A bebida à base de kefir de água sabor saborizada com maracujá apresentou para bolores e leveduras  $4 \times 10^3$  UFC/mL (Tabela 7 ) representando aumento de  $1 \times 10^3$  UFC/mL em relação a água de kefir, esse valor está próximo ao declarado nas normas internacionais para leveduras em kefir,  $10^4$  UFC (FAO/WHO, 2011), mostrando bons resultados para a produção da bebida, atribuindo-lhe maior valor agregado com possíveis resultados de benefício a saúde. XU *et al.* (2018) demonstraram que a presença de *L. hordei* é responsável pela agregação das leveduras *S. cerevisiae* a superfície hidrofílica dos grânulos de kefir. Portanto, a presença desses microrganismos na bebida é promovida pela afinidade das leveduras a composição da polpa de maracujá.

O resultado de colônias de bactérias na bebida à base de kefir de água saborizada com maracujá,  $7 \times 10^3$  UFC/mL, mostrado na Tabela 7, demonstra que o número de colônias de bactérias sofreu aumento de  $2 \times 10^3$  UFC/mL em relação a bebida de água de kefir. Esse aumento foi promovido pela presença dos nutrientes na água de kefir e no suco de maracujá na formulação da bebida.

A presença de bactérias e leveduras nas bebidas produzidas deve-se a composição dos grãos de kefir que apresentam uma comunidade microbiológica relativamente estável que interage e influenciam entre si. Dessa forma, o aumento crescimento de bactérias apresentado no fermentado de kefir ao final da fermentação é promovida pela ação leveduras que fornecem fatores de crescimento, como vitaminas compostos nitrogenados solúveis, por sua vez as leveduras são beneficiadas com o aumento da acidez promovida pela produção de compostos ácidos, propiciando ambiente favorável ao crescimento desses microrganismos (GIRAFFA, 2004; CHEN, *et al.*, 2008). Isso, explica o aumento das bactérias apresentadas na Tabela 5.

O resultado apresentado nas Tabelas 5, 6 e 7 para a análise de bactérias e leveduras é justificada pela composição da comunidade microbiológica formadoras dos grãos de kefir, devido a coexistência de uma associação simbiótica entre bactérias do ácido láctico e leveduras, principalmente a *Saccharomyces cerevisiae* pois é a espécie mais comum recuperada na fermentação (GIRAFFA, G., 2004; MAGALHÃES *et al.*, 2010). Isso sugere a permanência dos mesmos grupos de microrganismos na água de kefir e nas diferentes bebidas produzidas, permitem a realização de segunda fermentação aumentando o teor alcoólico e acentuando suas características sensoriais.

Estudos realizados Magalhães, *et al.*, (2010), a presença de bactérias e leveduras na superfície dos grãos são facilmente liberados, resultando em aumento de contagem de células

viáveis. Estudos realizados por IRIGOYEN *et al.*, (2005) após fermentação por 24 horas após a inoculação, lactobacilos e lactococos estavam presentes nos níveis de  $10^8$  UFC/ mL e leveduras e bactérias do ácido acético estavam presentes nos níveis de  $10^5$  e  $10^6$  UFC/mL, respectivamente. Assim, os resultados do presente trabalho, Tabela 7, a quantidade de células viáveis de  $3,5 \times 10^5$  UFC/mL demonstram a presença de células viáveis nas bebidas em decorrência da liberação desses microrganismos e menor adaptação ao substrato pelas leveduras por apresentar maior pH.

A contagem de células viáveis  $1,85 \times 10^6$  UFC/mL e  $3,5 \times 10^5$  UFC/mL, para as bebidas à base de água de kefir sabor abacaxi e sabor maracujá (Tabela 6 e Tabela 7) apresentam valores de bactérias abaixo do mínimo estipulado pela legislação brasileira para o produto ser considerado probiótico. A presença de algumas espécies de bactérias na bebida consta na Lista de Alegações de Propriedades Funcionais Aprovadas pela ANVISA que define quantidade mínima viável para um produto probiótico apresentar a alegação de promoção de saúde, deve estar entre  $10^8$  a  $10^9$  (UFC), por porção diária do produto, o que equivale ao consumo de 100g de produto contendo  $10^6$  a  $10^7$  UFC/g (BRASIL, 2008). No entanto, devido a diversidade microbiológica pela presença de lactobacilos, lactococos e leveduras, bactérias ácido acético e bifidobactérias, constituintes de bebida probiótica lácticas, e pela composição química, a bebida fermentada à base de kefir demonstra seu potencial efeito probiótico e funcional (LAUREYS *et al*, 2014).

#### 4.2 Análises físico-químicas da água de kefir e bebida à base de água de kefir saborizada com abacaxi e maracujá

Os resultados obtidos da caracterização da água de kefir estão apresentados na Tabela 8:

Tabela 8: Resultado da análise físico-químicas da água de kefir

Parâmetros	Valores
pH	$3,68 \pm 0,07$
Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	-
Acidez Total Titulável (g/100g de ácido acético)	$0,022 \pm 0,07$
Densidade	$1,0781 \pm 0,05$
Cinzas (%)	$0,0331 \pm 0,001$
Umidade (extrato seco)	$98,9100 \pm 0,03$

Valores médios de três repetições  $\pm$  o desvio padrão

A acidez da água de kefir foi de 0,022g/100g de ácido acético. Esta baixa acidez é decorrente do processo fermentativo que libera ácidos orgânicos. Resultados próximos a este trabalho foi encontrado por Magalhães, *et al.* (2010) que encontraram para a água de kefir o valor 0,07g/100g. Portanto, a bebida está em conformidade para a elaboração da bebida, embora os demais valores não constem como limite mínimo ou máximo previsto na legislação de bebida fermentadas alcoólicas.

O pH da água de kefir apresentado foi 3,68, isso deve-se a produção de ácidos produzidos durante a fermentação. O baixo pH é importante pois favorecem o crescimento das leveduras, durante a fermentação, uma vez que apresentam crescimento ótimos em pHs ácidos, com conversão do álcool produzido em ácidos orgânicos. Esse resultado é semelhante ao encontrado para a fermentado de cana de açúcar com grãos de kefir, onde o pH utilizando grãos de kefir é semelhante comparando com o de bebidas fermentadas apenas com leveduras, devido a presença de leveduras e bactérias ácido-láticas (DORNELLES, *et al.*, 2006).

Na Tabela 8, encontra-se o valor de cinzas (0,03%) como ela representa a matéria inorgânica, demonstrando baixo valor em elementos minerais no fermentado, Ribeiro (2014) em seu estudo na produção de bebida fermentada de caldo de cana e abacaxi reportou que não apresentou valor para cinzas. O valor de cinzas na legislação para bebidas fermentadas (BRASIL, 2012) estabelece valor de 1,5 em g/L de cinzas para o fermentado de cana de açúcar. Assim encontra-se baixo comparando-os.

Resultados próximos a este trabalho foi encontrado por Magalhães *et al.*, (2010), que encontrou para a água de kefir os valores de pH  $4,1 \pm 0,01$ , acidez  $0,07 \pm 0,01$  g/ 100 mL, cinzas  $0,2 \pm 0,1$ (%), umidade (%)  $95,3 \pm 0,1$ .

O resultado das análises físico-químicas da bebida fermenta a base de kefir sabor abacaxi e maracujá encontram-se na Tabela 9.

Na elaboração final das bebidas os valores dos sólidos solúveis totais foram corrigidos a 11 °Brix para as frutas de abacaxi e maracujá, em conformidade previsto na legislação para as bebidas (BRASIL, 2008).

O baixo valor de pH apresentado nesse trabalho para as bebidas saborizada com maracujá e abacaxi podem ser decorrentes do processo fermentativo anterior realizado, obtido pela presença de bactéria ácido láticas e ácido acéticas como também a fatores intrínsecos das frutas como a variedade ou espécies da fruta, tempo de maturação, com efeitos ambientais e estação do de crescimento (BROWN, *et al.*, 1988).

Alguns autores obtiveram valores de pH semelhantes aos obtidos neste trabalho para fermentado de abacaxi e de caldo de cana de açúcar obtido, respectivamente,  $3,63 \pm 0,05$  e  $5,73 \pm 0,03$  (RIBEIRO, 2014); fermentada de abacaxi 5,40 (SANTOS *et al.*, 2007); para diferentes processos de fermentados de abacaxi obtido 3,96 e 3,93 (BELCHIOR, *et al.*, 2013); pH 3,35 e 4,45 (DA SILVA TRISTÃO, *et al.*, 2014), em que as leveduras utilizaram a sacarose como principal açúcar fermentável. A legislação não estabelece limite de valores de pH para fermentados de frutas. Entretanto, segundo Asquieri *et al.* (2004), um pH relativamente baixo, confere características de frescor.

Tabela 9: Resultado da análise físico-químicas da bebida à base de kefir de água saborizada com abacaxi e sabor maracujá

Parâmetros	Bebida de abacaxi	Bebida de maracujá
pH	$2,94 \pm 0,03$	$3,8 \pm 0,11$
Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	11	11
Acidez Total Titulável (g/100g de ácido cítrico)	$0,5716 \pm 0,05$	$1,0422 \pm 0,05$
Densidade	$1,0436 \pm 0,04$	$1,0436 \pm 0,03$
Cinzas (g L <sup>-1</sup> )	$0,1120 \pm 0,001$	$0,060 \pm 0,001$
Umidade (resíduo seco)	$84,9202 \pm 0,09$	$89,98 \pm 0,009$

Valores médios de três repetições  $\pm$  o desvio padrão

Para a bebida sabor abacaxi encontrou-se acidez de 0,5716 g/100g de ácido cítrico (29,75 meqL<sup>-1</sup>). A literatura reporta acidez próxima para fermentação alcoólica de melão (BESSA, 2018), 23,9 meqL<sup>-1</sup>, apresentando-se abaixo do valor especificado na legislação, mínimo 50 meqL<sup>-1</sup> (BRASIL, 2008). Resultados de acidez obtidos por outros autores de bebidas fermentadas, 87,09 meqL<sup>-1</sup> de acidez com a utilização de abacaxi na produção de vinhos (DA SILVA, *et al.*, 2010), estiveram em conformidade com a legislação. O valor encontrado em relação à água de kefir sugere não houve excesso de produção de ácido.

A acidez é promovida pela ação das bactérias ácido-láticas, decorrentes da produção de ácidos orgânicos, como ácido succínico, acético, láctico, entre outros. De acordo com FOYET e TCHANGO (1994), a acidez apresentada para produtos de maracujá é importante para inibir a proliferação de microrganismos patogênicos. Os valores para acidez na Tabela 9 sofreram aumento em relação ao valor obtido na Tabela 8. Isso deve-se aos compostos produzidos na fermentação realizada e aos compostos ácidos naturalmente presentes nas frutas que favoreceram ao aumento da acidez.

Para a produção da bebida sabor abacaxi, a legislação determina segundo seu Padrão de Identidade e Qualidade Gerais para Sucos Tropicais (BRASIL, 2003), que a bebida tenha 40% de polpa para a bebida néctar de abacaxi. O baixo valor encontrado para cinzas 0,1120 g L<sup>-1</sup>

para a bebida produzida neste trabalho (Tabela 8), deve-se a diluição pelo acréscimo de água de kefir a polpa da fruta. Alguns autores obtiverem para a bebida fermentada de abacaxi 0,36% (RIBEIRO, 2014), em fermentado de jaca obteve-se 3,48 (ASQUIERI, *et al.*, 2008). A variação nos teores de cinzas, segundo Neto *et al.* (2006), são decorrentes, provavelmente, de má fermentação ou da presença de minerais estranhos à fruta.

Na determinação da umidade a 105 °C, o valor obtido 84,9202 g.L<sup>-1</sup> foi inferior aos encontrado por outros fermentados reportados na literatura. Por exemplo, Asquiere, *et al.*, (2004) encontrou para ao fermentado de jabuticaba 96,26 g.L<sup>-1</sup>, DUARTE *et al.*, (2018) na produção de vinho de melancia o valor para extrato seco foi de 60,89 g.L<sup>-1</sup>, GURAK, *et al.*, (2010) para diferentes tratamento de fermentados de laranja obteve para a umidade (%) 93,1, 94,2, 96,0, 96,2 e resíduo seco (%) 6.85, 5.78, 3.95, 3,76. Segundo Ribéreau-Gayon (2003), o extrato seco é composto de açúcares, ácidos fixos, sais orgânicos, glicerina, matérias corante e nitrogenada, e outros, que em determinadas condições não sofrem alterações. A variação dos valores se deve ao não estabelecimento de limites pela legislação brasileira para fermentados de frutas (BRASIL, 2012).

A bebida à base de kefir saborizada com maracujá apresentou pH 3,8. O valor do pH determina a capacidade de crescimento de microrganismos e influencia no escurecimento enzimático. Para evitar alterações valor de pH abaixo de 4,5 é recomendável, (MACHADO, 2010). Valores próximos na literatura são encontrados para o fermentado de morango com pH 3,51 (ANDRADE, *et al.*, 2013), em fermentado de jaca obteve-se 3,91 (ASQUIERI, *et al.*, 2008), fermentado de melancia pH 4,08 ±0,32 (DUARTE *et al.*, 2018).

Acidez titulável apresentada pela bebida fermentada à base de água de kefir sabor maracujá 1,0422 (g/100g de ácido cítrico) equivalente a 54,25 meq/L foi aproximado do valor 54,56 g/L obtido para o fermentado de melancia (DUARTE *et al.*, 2018) e 53,10 g.L<sup>-1</sup> fermentados alcoólicos de melão variedade *cantaloupe* (BESSA, 2018). Apresenta-se em conformidade com a legislação para Fermentado de frutas, determina o mínimo de 50 meq/L (BRASIL, 2012). A produção de alta de acidez total confere um gosto desagradável de vinagre ao produto (NETO, 2006).

O valor encontrado para cinzas foi 0,060 g L<sup>-1</sup> para a bebida sabor maracujá conforme apresentado na Tabela 9 deste trabalho para a bebida, deve-se a diluição por água de kefir a polpa das frutas, conforme previsto em legislação (BRASIL, 2008). A bebida de maracujá deve apresentar no mínimo 10% de polpa, bebida menos concentrada têm menor quantidade de

cinzas, e fermentados com adição de água ou açúcar apresentam a mesma característica (DA PAZ *et al.*, 2007). Esse valor está dentro dos encontrados na literatura para fermentados de melancia com os teores de cinzas  $3,99 \text{ g L}^{-1}$  (DUARTE *et al.*, 2018), fermentado de umbu 2,36% (PAULA, *et al.*, 2012),  $0,13 \text{ g.100mL}$  para o fermentado de extrato de bagaço de maçã (NOGUEIRA, *et al.*, 2005).

O valor encontrado para resíduo seco da bebida sabor maracujá, foi de  $89,98 \text{ g.L}^{-1}$ , valor a aproximado foi encontrado para o fermentado de jaca  $96,80 \text{ g.L}^{-1}$  (ASQUIERI *et al.*, 2008), apresenta valor elevado, que pode ter ocorrido pela caramelização dos açúcares no processo de secagem. Isso sugere a presença de açúcares que não foram totalmente consumidos durante a fermentação. Também, segundo SILVA *et al.* (1999), teores elevados de cinzas estão relacionados a presença de parte sólidas da fruta.

A densidade a  $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  do fermentado de água de kefir, bebida fermenta à base de água de kefir saborizada com abacaxi e sabor maracujá encontram, respectivamente, na Tabela 8 e Tabela 9 foi de  $1,0781 \text{ g.cm}^{-3}$ ,  $1,0436 \text{ g.cm}^{-3}$ ,  $1,0429 \text{ g.cm}^{-3}$ . Apesar de ser valores de densidade altos, na literatura foi possível encontrar valores aproximados aos obtidos nesse trabalho, como o encontrado para os fermentados de jabuticaba seco e doce com 1 ano de armazenamento, de  $1,003$  e  $1,029 \text{ g.cm}^{-3}$ , respectivamente (ASQUIERI, 2004),  $1,03 \text{ g.cm}^{-3}$  fermentado de jaca (ASQUIERI, *et al.*, 2008),  $1,0026 \text{ g.cm}^{-3}$  fermentado de umbu (PAULA, *et al.*, 2012).

#### **4.3 Resultado da análise sensorial da bebida à base de kefir de água saborizada com abacaxi e maracujá**

A avaliação sensorial das bebidas à base de kefir saborizada com abacaxi e maracujá contaram com a participação de 100 avaliadores, sem treinamento prévio, com idades variando de 18 a 50 anos. Observa-se que a maior participação dos provadores era jovem, na faixa etária entre 18-25 de idade correspondendo a 89%, com participação de 42% homens e 58% mulheres e que apesar de 89% dos provadores terem o hábito de consumir bebidas fermentas 78% nunca provaram kefir (Tabela 10).

Tabela 10: Perfil dos provadores

	Perfil	Percentual (%)
Idade	mais de 50 anos	0
	36-50 anos	2
	26-35 anos	9
	18-25 anos	89
Sexo	Masculino	42
	Feminino	58
Hábito de consumo fermentados	Sim	89
	Não	11
Percentual de consumo de kefir	Sim	22
	Não	78

A frequência de consumo de bebida fermentada entre os provadores variou de 89% ao que possuir algum hábito de consumo de bebida fermentada a 11% não consumir, entretanto 78% nunca consumiram bebida de kefir, tais provadores apresentam um perfil ideal para avaliação dos atributos das bebidas elaboradas.

As Tabela 11 e Tabela 12 apresentam as médias de aceitação para os atributos sabor, aroma, corpo, cor, aparência, impressão global e intenção de compra. Os resultados obtidos mostram que os atributos avaliados para as bebidas à base de kefir se encontraram na zona de aceitação da escala hedônica, encontrando-se na região de aceitação do produto, portanto as bebidas são vantajosas uma vez que apresentam boa aceitabilidade.

Tabela 11: Médias atribuídas a bebida fermentada à base de kefir sabor abacaxi com

Atributos Avaliados				
Impressão Global	Cor	Aparência	Aroma	Sabor
7,56	7,39	7,46	7,51	7,48

Tabela 12: Médias atribuídas a bebida fermentada à base de kefir sabor maracujá com

Atributos Avaliados				
Impressão Global	Cor	Aparência	Aroma	Sabor
7,81	8,12	8,02	7,95	7,29

Para as duas bebidas formuladas e avaliadas sensorialmente os valores ficaram 7 e 9, correspondendo a “gostei moderadamente” e “gostei muitíssimo”. Observa-se que as notas de todos os atributos, encontraram-se na região de aceitação do produto. Portanto, as bebidas são vantajosas uma vez que apresentam boa aceitabilidade.

De acordo com a escala hedônica, cuja escala varia de 1 a 9 pontos, os atributos relacionados a impressão global, cor, aroma, aparência e sabor para a bebida à base de água de

kefir saborizada com abacaxi ficaram com valores médios entre 7 e 8, correspondendo na escala hedônica a “gostei moderadamente” e “gostei muito”. E bebida à base de água de kefir saborizada com maracujá as médias variaram, apresentando para os atributos impressão global, aroma e sabor para a na escala hedônica valores médios entre 7 e 8, correspondendo na escala hedônica a “gostei moderadamente” e “gostei muito”, enquanto para os atributos cor e aparência apresentaram valores médios entre 8 e 9, correspondente a “gostei muito” e “gostei muitíssimo”.

Nesse trabalho, as bebidas à base de água de kefir desenvolvidas apresentaram boa aceitação global entre os avaliadores, com 94% de aceitação para a bebida à base de água de kefir saborizada com abacaxi e 96% na faixa de aceitação para a bebida à base de água de kefir saborizada com maracujá Figura 8 e Figura 9, respectivamente.

Os atributos cor, aparência, aroma e sabor analisados obtiveram aceitação acima de 85% para as bebidas à base de água de kefir saborizada com abacaxi e sabor maracujá (Tabela 8 e Tabela 9). O percentual de aceitação global neste trabalho ficou acima dos 90% para a duas bebidas à base de água de kefir. Esses dados foram superiores aos encontrados literatura de 79,55% em fermentado de abacaxi, 78% em fermentado de jaca, entre 66% e 70% para diferentes formulações de fermentado de buriti, (SANTOS *et al.*,2007; ASQUIERI, *et al.*,2008; CARVALHO, 2017). Segundo TEIXEIRA, MEINERT E BARBETTA (1987), índice acima de 70% de aprovação revela uma boa aceitação.

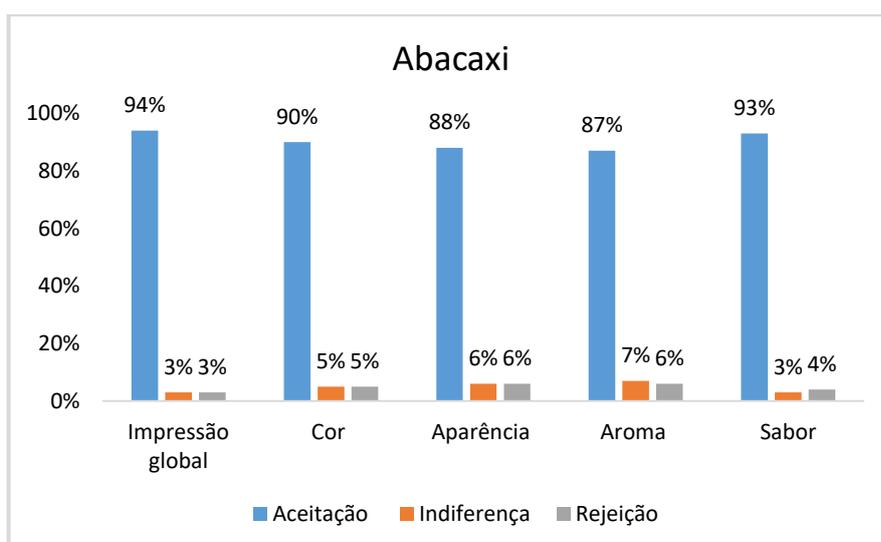


Figura 8: Aceitação indiferença e rejeição para o Abacaxi

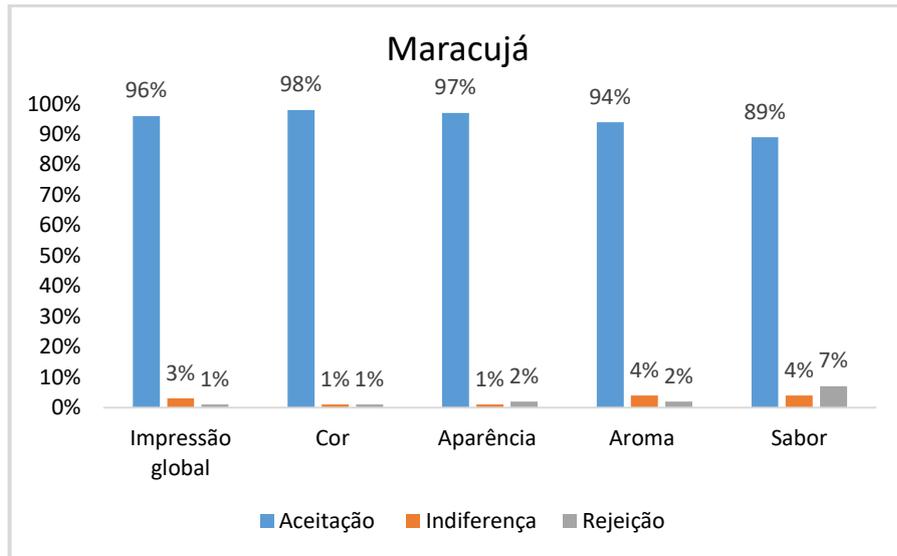


Figura 9: Aceitação indiferença e rejeição para o Maracujá

Com relação ao atributo aparência, a bebida à base de água de kefir saborizada com abacaxi (Figura 8), apresentou índice de aceitação acima dos 85%, enquanto a bebida à base de água de kefir saborizada com maracujá (Figura 9), apresentou percentual de aceitação acima dos 95%. Segundo MEILGRAARD *et al.* (1991) a aparência é o único atributo em que os consumidores decidem pela aceitação ou rejeitar do alimento. Pode-se concluir que o produto apresentado possui potencial de aceitação pelo consumidor.

O percentual de 7% de rejeição atribuído ao aroma e sabor pelos provadores a bebida à base de kefir saborizada com abacaxi e saborizada com maracujá, respectivamente, deve-se a perda de compostos responsáveis pelo buquê da bebida, em função da adição da água fermentada de kefir para a formulação da bebida, o que pode ter influenciado na concentração de compostos responsáveis pelo aroma e sabor da bebida. Devido a isso, esses atributos foram os que apresentaram menores valores em relação aos demais atribuídos avaliados.

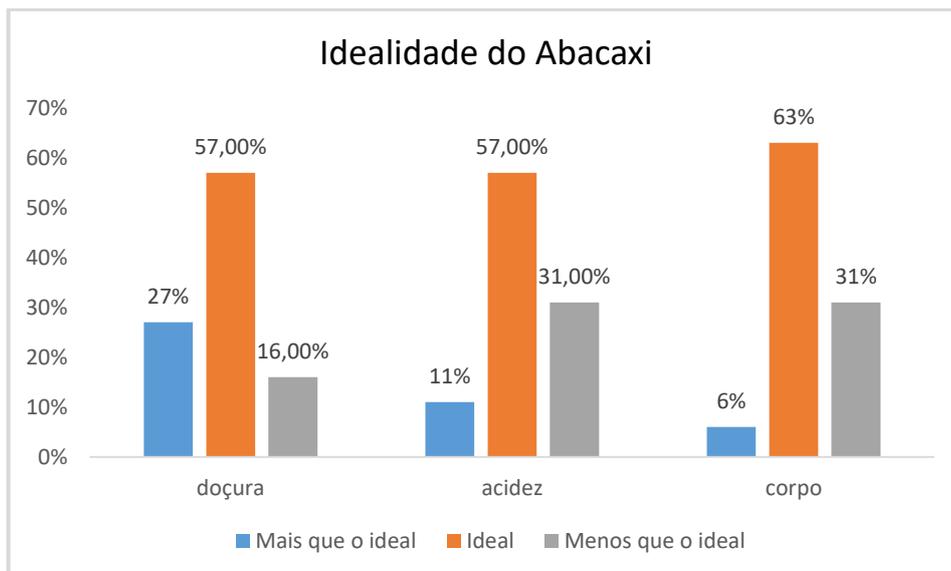


Figura 10: Idealidade para Abacaxi

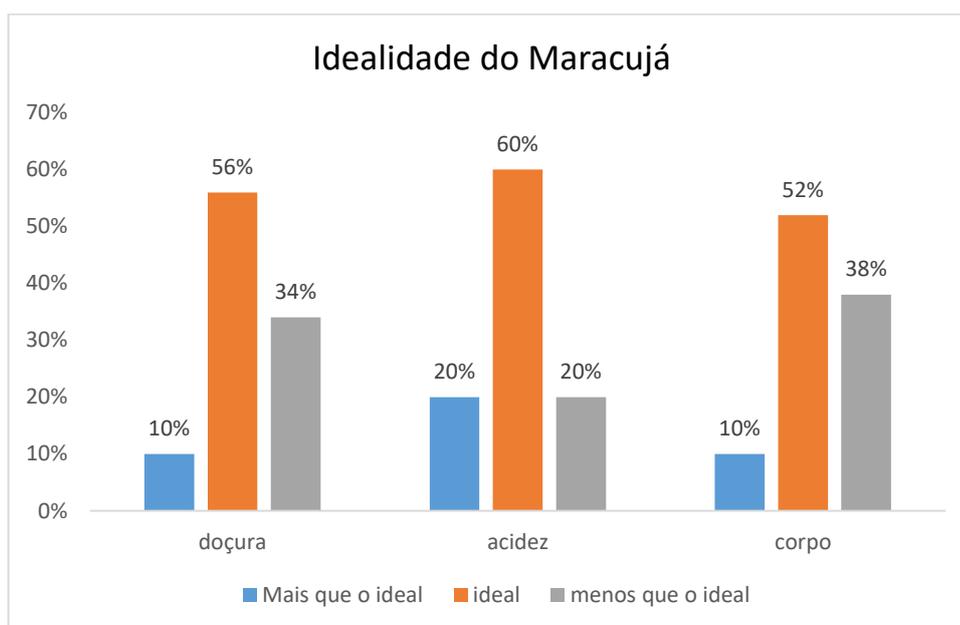


Figura 11: Idealidade para Maracujá

A Figura 10 e Figura 11 mostra a avaliação dos atributos doçura, acidez e corpo das bebidas em análise, ambas apresentaram percentual acima de 50%, dentro da região do ideal. Para a bebida à base de kefir saborizada com abacaxi (Figura 10), o atributo corpo obteve maior percentual de idealidade enquanto a acidez e a doçura apresentaram em equilíbrio, contribuindo para o bom índice de aceitabilidade entre os provadores. Para a bebida á base de kefir saborizada com maracujá (Figura 11), para a região do ideal a acidez apresentou maior percentual, seguida da doçura e corpo.

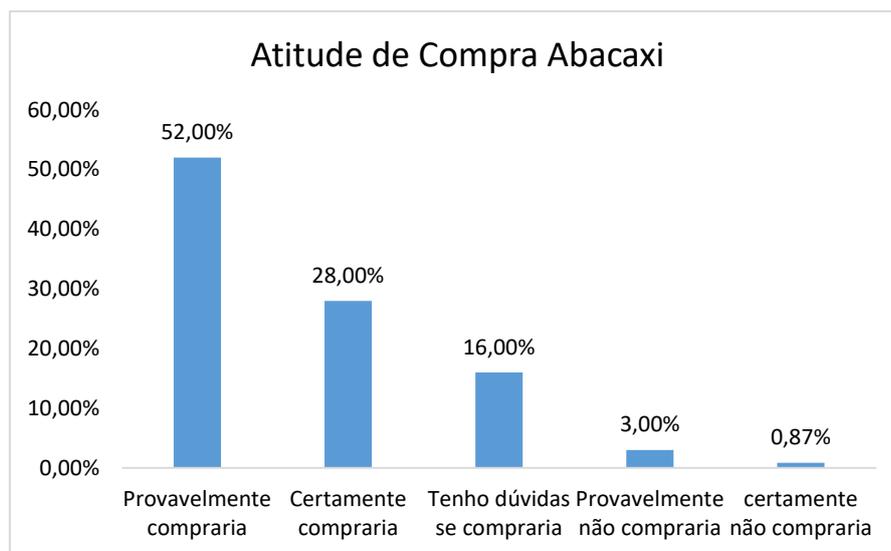


Figura 12: atitude compra Abacaxi

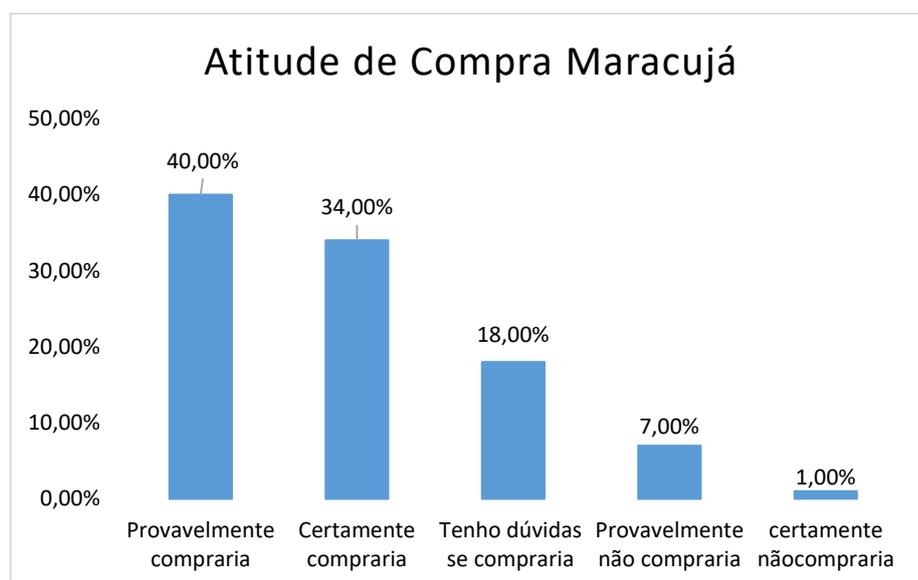


Figura 13: atitude de compra Maracujá

Os resultados da pesquisa de intenção de compra do produto foram coerentes com os resultados do índice de aceitação das bebidas. Os maiores percentuais responderam que “provavelmente comprariam” e “certamente comprariam” para as bebidas à base de água de kefir saborizada com abacaxi e saborizada com maracujá (Figura 12 e Figura 13). Os índices de intenção de compra foram superiores a 70%. As bebidas produzidas, apresentaram intenção de compra com valores aproximados a 76,66% para a bebida alcoólica fermentada de manga, 85% ao fermentado frísante de maçã com características semelhantes à sidra francês, 76,27% a bebida láctea simbiótica, 80% ao fermentado alcoólico misto de polpa de açaí e cupuaçu (SILVA *et al.*, 2011; DE CARVALHO, 2010; DIAS, 2012; DA SILVA PEREIRA *et al.*, 2014)

Mesmo se tratando de uma bebida que não apresentava um consumo frequente pelo público, os resultados demonstraram que o produto foi bem aceito. Onde todos os atributos foram muito bem avaliados, apresentando valores aproximados ou superiores, quando comparado com outros fermentados, demonstrando ser um produto com boa aceitação no mercado.

## CONCLUSÃO

Foi possível elaborar bebidas mistas sabor abacaxi e maracujá, utilizando água de kefir.

As análises microbiológicas revelaram que amostras estavam dentro dos padrões higiênicos sanitários quanto a presença de coliformes e *Salmonella*.

Observou-se também um elevado número de microrganismos envolvendo bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras na água de kefir e nas bebidas formuladas.

As análises físico-químicas demonstraram que as bebidas estavam dentro dos padrões esperados para bebidas fermentadas quando aos parâmetros avaliados.

A aceitação sensorial revelou produtos com boa aceitação para as duas bebidas avaliadas.

Tendo a crescente necessidade de diferentes consumidores, incluindo intolerante, alérgicos, vegetarianos e veganos, observou-se neste trabalho uma nova forma de se obter uma bebida fermentada de kefir não láctea utilizando como substrato a sacarose, como saborizante frutas tropicais *in natura*, abacaxi e maracujá, e microrganismo dos grãos de kefir de água.

Com base nas características microbiológicas, físico químicas químicas e aceitação na análise sensorial, esses resultados abrem perspectivas para o desenvolvimento de bebidas à base da água de kefir com polpa de frutas. Sugere sua produção em larga escala como alimento funcional, satisfazendo os consumidores e mostrando uma nova forma de produção de fermentado com baixo custo, podendo ser extensível a outras bebidas de kefir de frutas e a outros substratos devido à alta adaptabilidade a vários substratos pelo consórcio de bactérias e leveduras.

As bebidas produzidas neste trabalho podem ajudar a estabelecer uma ligação entre o consumo real e o ideal, necessário na dieta humana pelo estabelecimento de equilíbrio funcional do organismo. Os novos produtos representam alimentos importantes, fornecendo microrganismos vivos para o consumidor vista a limitada disponibilidade e ao alto custo de produtos fermentados, apresentando boa alternativa ao produto lácteo fermentado.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, M. B., PERIM, G. A., SANTOS, T. R. T., & MARQUES, R. G. (2013). Fermentação alcoólica e caracterização de Fermentado de Morango. *BBR-Biochemistry and Biotechnology Reports*, 2(3esp), 265-268.
- ARSHAD, Z. I. M., AMID, A., YUSOF, F., JASWIR, I., AHMAD, K., & LOKE, S. P. Bromelain: an overview of industrial application and purification strategies. *Applied microbiology and biotechnology*, 98(17), 7283-7297, 2014.
- ASIM, M., ABDAN, K., JAWAID, M., NASIR, M., DASHTIZADEH, Z., ISHAK, M. R., & HOQUE, M. E. A review on pineapple leaves fibre and its composites. *International Journal of Polymer Science*, 2015.
- ASQUIERI, E. R., DA SILVA RABÊLO, A. M.S., & DE MOURA, A. G. (2008). Fermentado de jaca: estudo das características físico-químicas e sensoriais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28(4), 881-887
- ASQUIERI, E. R. et al. Vino de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg): Estudio de las características físico-químicas y sensoriales de los vinos tinto seco y dulce, fabricados com la fruta integral. *Alimentaria*, n. 355, p. 111-122, 2004.
- BELCHIOR, D. C. V., TEIXEIRA, W. P. A., DE JESUS MONTEIRO, W., DE SOUZA SARAIVA, A., & DO AMARAL SANTOS, C. C. A. (2013, October). PRODUÇÃO DE FERMENTADO ALCOÓLICO A PARTIR DE ABACAXI (*Ananas Comosus* L.). In *9º Seminário de Iniciação Científica da UFT*, v. 5, 2013.
- BESHKOVA, D. M., SIMOVA, E. D., FRENGOVA, G. I., SIMOV, Z. I., & DIMITROV, Z. P. Production of volatile aroma compounds by kefir starter cultures. *International Dairy Journal*, 13(7), 529-535. 2003.
- BRASIL. Leis, Decretos, etc. Instrução Normativa nº 1, de 7 Janeiro 2000, do Ministério da Agricultura. *Diário Oficial da União*, Brasília, n. 6, 10 Janeiro 2000. Seção I, p. 54-58. [Aprova os Regulamentos Técnicos para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpas e sucos de frutas].
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 12, de 4 de setembro de 2003. Regulamento Técnico para fixação dos padrões de Identidade e Qualidade Gerais para o Suco Tropical e dá outras providências. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília-DF, Ed. nº 174, de 9 de setembro de 2003.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução RDC, n. 12, de 2 Janeiro 2001. Dispõe sobre os princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <<http://www.vigilanciasanitaria.gov.br/anvisa.html>>. Acesso em 04 ago. 2019.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução normativa nº46, 23 de Outubro de 2007. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 24 out. 2007. Seção 1, p. 5.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Portaria nº 64, de 23 de Abril de 2008. Aprova os regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para as bebidas alcoólicas fermentadas. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, v. 1, p. 9, 23 abr. 2008.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência nacional de vigilância sanitária - ANVISA. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos: lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. Atualizado em julho, 2008.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 34, de 29 de Novembro de 2012. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade das bebidas fermentadas: fermentado de fruta; fermentado de fruta licoroso; fermentado de fruta composto; sidra; hidromel; fermentado de cana; saquê ou sake. Diário Oficial da União, Brasília, DF, Seção 1, p. 3, 23 nov. 2012.

BRASIL. Leis, Decretos, etc. Instrução Normativa nº 37, de 1 Outubro de 2018, do Ministério da Agricultura. Diário Oficial da União, Brasília, n. 194, 8 de Outubro de 2018. Seção I, p. 23-33. [Aprova os Regulamentos Técnicos para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpas e sucos de frutas].

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução RDC, n. 241, de 26 de julho de 2018. Diário Oficial da União, Brasília, n. 187, 27 de Setembro de 2018. Seção I, p. 23-33. Dispõe sobre os requisitos para comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 49, de 26 de Setembro de 2018. Diário Oficial da União, Brasília, nº 187, 27 de setembro de 2018. Seção I, p.4. Aprova o Regulamento Técnico complementar dos Padrões de Identidade e Qualidade de Suco e Polpa de Fruta.

BESSA, M. A. D., DE OLIVEIRA, E. N. A., FEITOSA, B. F., FEITOSA, R. M., ALMEIDA, F. L. C., & DE OLIVEIRA NETO, J. O. (2018). Bebida alcoólica fermentada de melão (*Cucumis melo* L.): processamento e caracterização. *Braz. J. Food Technol*, 21, e2017217.

BROWN, M.B., KATZ, B. P. e COHEN, E. Statistical procedures for the identification of adulteration in fruit juices. In: S. Nagy, J.A. Attaway, & M E. Rhodes (Eds.), *Adulteration of fruit juice beverages*. New York, Marcel Dekker, 1988.

CABRAL, N. S. M. Kefir sabor chocolate: caracterização microbiológica e físico-química. 2015.

CARVALHO, M.L. C.; PINEDO, A. A. Análises microbiológicas de bebida fermentada probiótica de suco de buriti (*mauritia flexuosa*) com *lactobacillus casei* durante o armazenamento. 2016.

CHEN, H. C., WANG, S. Y., & CHEN, M. J. (2008). Microbiological study of lactic acid bacteria in kefir grains by culture-dependent and culture-independent methods. *Food microbiology*, 25(3), 492-501.

DA SILVA, J. L. A., DANTAS, D. L. L., GASPARETO, O. C. P., & DOS SANTOS FALCÃO FILHO, R. (2010). Utilização de abacaxi para elaboração de vinhos: avaliação físico química e aceitabilidade. *Holos*, 3, 108-118.

DA PAZ, M. F.; SCARTAZZINI, L. S.; OGLIARI, T. C.; BURLIN, C. Produção e Caracterização do Fermentado Alcoólico de Actinidia deliciosa Variedade Bruno Produzido em Santa Catarina. In: Simpósio Nacional de Bioprocessos, XVI. SINAFERM 2007, Curitiba-RS.

DA SILVA PEREIRA, A., DA SILVA COSTA, R. A., LANDIM, L. B., & CHAVES, N. M. (2014). Produção de fermentado alcoólico misto de polpa de açaí e cupuaçu: aspectos cinéticos, físico-químicos e sensoriais. *Revista Brasileira de Tecnologia*, 8(01), 1216-1226.

- DA SILVA TRISTÃO, D.; DA SILVA TRISTÃO, M.; BEGNINI, M. L. Avaliação de Propriedades Inerentes à Produção de Bebida Fermentada de Abacaxi Pérola. *Blucher Engineering Proceedings*, 2014, 1.3: 47-48.
- DE CARVALHO, J. R. F. Elaboração de fermentado frisante de maçã com características semelhantes à sidra francesa. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 28(1), 2010.
- DE OLIVEIRA FRAGOSO, A., REZENDE, F., COSTA, L. A. B. T., LICAS, M. L. O., PATRIANI, M. P., & COLUCCI, A. C. A. O Brasil em compotas: um estudo sobre a utilização de alimentos regionais em compotas. *Revista de Comportamento, Cultura e Sociedade* Vol. 5 nº 2, julho de 2017.
- DIAS, M. L. L. Bebida Fermentada Simbiótica: Características Físico-químicas, Sensoriais e Viabilidade de *Lactobacillus Acidophilus*. Universidade Federal de Pernambuco. 2012
- DORNELLES, A. S.; RODRIGUES, S. Fermentação alcoólica de caldo de cana utilizando grãos de kefir. *Revista Ciência Agronômica*, 37.3: 386-390, 2006.
- DUARTE, W. F., DIAS, D. R., DE MELO PEREIRA, G. V., GERVÁSIO, I. M., & SCHWAN, R. F. Indigenous and inoculated yeast fermentation of gabioba (*Campomanesia pubescens*) pulp for fruit wine production. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 36(4), 557-569, 2009.
- DUARTE, L. G. O.; DINIZ, M.; TOMÉ, P. H. F.; FRAGIORGE, E. J. Fermentado alcoólico: melancia [*Citrullus lanatus* (thunb.) Matsum & nakai]. *Revista Científica Semana Acadêmica*. Fortaleza, ano MMXVIII, Nº. 000132, 18 de Setembro de 2018.
- DUTCOSKY, S. D. Análise sensorial de alimentos. Curitiba: Champagnat, 2013.
- FAO/WHO (2001). Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba, Argentina.
- FAO/WHO. 2011. Milk and Milk Products. CODEX Standard for Fermented Milks (CODEX STAN 243-2003). Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/015/i2085e/i2085e00.pdf>>. Acessado em 03 de Dez 2019.
- FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T.V. Maracujá: o produtor pergunta, a Embrapa responde. Brasília, DF: Embrapa, 2016. 341 p.
- FARNWORTH, E. R. Kefir-a complex probiotic. *Food Sci Technol Bull: Funcional Foods* 2 1-17. 2005.
- FELS, L., JAKOB, F., VOGEL, R. F., & WEFERS, D. Structural characterization of the exopolysaccharides from water kefir. *Carbohydrate polymers*, 189, 296-303, 2018.
- FOYET, M. e TCHANGO TCHANGO, J. Transformation de la goyave et de la grenadille extraction de pulpe, formulation et conservation de nectars. *Fruits*, v. 49, n. 1, p. 61-70, 1994.
- FRANCO, G. Tabela de composição química dos alimentos. 9.ed. São Paulo: Atheneu, 2001.
- FRANCO, G. Tabela de composição química dos alimentos. 8.ed. Rio de Janeiro: Livraria Atheneu, 1989. 230 p.
- GAO, X., & LI, B. (2016). Chemical and microbiological characteristics of kefir grains and their fermented dairy products: A review. *Cogent food & agriculture*, 2(1), 1272152.

- GARROTE, G. L.; ABRAHAM, A. G.; DE ANTONI, GRACIELA L. Inhibitory power of kefir: the role of organic acids. *Journal of Food Protection*. Vol 63 n.3, 2000.
- GAWARE, V., KOTADE, K., DOLAS, R., DHAMAK, K., SOMWNSHIS, S., NIKAM, V., ... KASHID, V. (2011). The magic of kefir: A review. *Pharmacology Online*, 1, 376–386.
- GIRAFFA, G. (2004) Studying the dynamics of microbial populations during food fermentation. *FEMS Microbiol Rev* 28:251–260.
- GULITZ, A., STADIE, J., WENNING, M., EHRMANN, M. A., & VOGEL, R. F. The microbial diversity of water kefir. *International journal of food microbiology*, 151(3), 284-288, 2011.
- GULITZ, A. J. (2013). Analysis of the diversity of water kefir microbiota by culture-dependent and-independent approaches. Doctoral dissertation, Technische Universität München.
- GURAK, P.D., BORTOLINI, F. Produção e aceitabilidade de fermentado de laranja no Alto Uruguai Catarinense. *Revista Brasileira de Tecnologia*, 2010, 4.02: 132-140.
- GRANADA, G. G.; ZAMBIAZI, R. C.; MENDONÇA, C. R. B. Abacaxi: produção, mercado e subprodutos. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, v. 22, n. 2, p. 405-422, 2004.
- KESENKAŞ, H.; GÜRSOY, O.; ÖZBAŞ, H. Kefir. In: FRÍAS, J; VILLALUENGA, C. M; PEÑAS, E. *Fermented Foods in Health and Disease Prevention*. Academic Press, 762 págs. 2016. E-book. Disponível em: <https://books.google.com.br> Acesso em: 21 Nov. 2019.
- HSIEH, H. H., WANG, S. Y., CHEN, T. L., HUANG, Y. L., & CHEN, M. J. . Effects of cow's and goat's milk as fermentation media on the microbial ecology of sugary kefir grains. *International journal of food microbiology*, 157(1), 73-81, 2012.
- IRIGOYEN, A., ARANA, I., CASTIELLA, M., TORRE, P., & IBANEZ, F. C. (2005). Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chemistry*, 90(4), 613-620.
- ILSI. Scientific concepts of functional foods in Europe. Consensus document. *The British Journal of Nutrition*, 81 Suppl 1, S1–S27.1999.
- YAMAN, H., ELMALI, M., & KAMBER, U. (2010). Observation of lactic acid bacteria and yeast populations during fermentation and cold storage in cow's, ewe's and goat's milk kefir. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16, S113-S118.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal-2017.2018.
- LAUREYS, DAVID; DE VUYST, LUC. Microbial species diversity, community dynamics, and metabolite kinetics of water kefir fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* 80.8: 2564-2572.2014
- LAUREYS, D., Cnockaert, M., De Vuyst, L., & Vandamme, P. *Bifidobacterium aquikefiri* sp. nov., isolated from water kefir. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(3), 1281-1286, 2016.
- LAUREYS, D.; DE VUYST, L. The water kefir grain inoculum determines the characteristics of the resulting water kefir fermentation process. *Journal of applied microbiology*, v. 122, n. 3, p. 719-732, 2017.
- LEITE, A. M. D. O., MIGUEL, M. A. L., PEIXOTO, R. S., ROSADO, A. S., SILVA, J. T., & PASCHOALIN, V. M. F. Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a

natural probiotic beverage. *Braz. J. Microbiol*, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 341-349, 2013. Disponível em: <<http://www.scielo.br/>>. Acessado em: 07 Maio 2019.

LEITE, A. M. O., MIGUEL, M. A. L., PEIXOTO, R. S., RUAS-MADIEDO, P., PASCHOALIN, V. M. F., MAYO, B., & DELGADO, S.. Probiotic potential of selected lactic acid bacteria strains isolated from Brazilian kefir grains. *Journal of Dairy Science*, 98,3622–3632.2015.

MACHADO, C. M. M. Processamento de hortaliças em pequena escala. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 99 p. 2008.

MAGALHÃES K. T., PEREIRA, G. D. M., DIAS, D. R., & SCHWAN, R. F. (2010). Microbial communities and chemical changes during fermentation of sugary Brazilian kefir. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2010.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. Sensory evaluation techniques. Florida: CRC, 1987. v. 2.

MEILGAARD, M; CIVILLE, G. V; CARR, B. T. Sensory evaluation Techniques. Boca Raton: CRC PRESS, 394p, 1991.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, v. 31, n. 3, p. 426 — 428, 1959.

MOZZI, F., RAYA, R. R., VIGNOLO, G. M., & Love, J. C. *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria—Novel Applications 2e*. 2016.

NOGUEIRA, A.; SANTOS, L. D.; PAGANINI, C.; & Wosiacki, G. (2005). Avaliação da fermentação alcoólica do extrato de bagaço de maçã.

NETO, A. O. B. T., SILVA, M. E., SILVA, W. B., SWARNAKAR, R., & SILVA, F. L. H.. (2006). Cinética e caracterização físico-química do fermentado do pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale* L.). *Química Nova*, 29(3), 489-492.

OLIVEIRA, E. N. A.; SANTOS D..COSTA Tecnologia e processamento de frutos e hortaliças – Natal : IFRN, 2015.

PAULA, B. D.; CARVALHO FILHO, C. D.; DA MATTA, V. M.; MENEZES, J. D. S.; LIMA, P. D. C.; PINTO, C. O.; & CONCEIÇÃO, L. E. M. G. (2012). Produção e caracterização físico-química de fermentado de umbu. Embrapa Agroindústria de Alimentos-Artigo em periódico indexado (ALICE).

PINHEIRO, A. M.; FERNANDES, ALINE GURGEL; FAI, A. E. C.; PRADO, G. M.; SOUSA, P. H. M. DE, & MAIA, G. A. Avaliação química, físico-química e microbiológica de sucos de frutas integrais: abacaxi, caju e maracujá. *Food Science and Technology*, 26(1), 98-103, (2006).

PITA, J. S. L. Caracterização físico-química e nutricional as polpa e farinha da casca de maracujazeiros do mato e amarelo. Itapetinga – BA: UESB, 2012. 80p. (Dissertação – Mestrado em Engenharia de Alimentos).

QUEIROZ, M. R. S., JANEIRO, D. I., DA CUNHA, M. A. L., DOS SANTOS MEDEIROS, J., SABAA-SRUR, A. U., MARGARETH DE FATIMA, F. M., & DOS SANTOS, S. C. Effect of the yellow passion fruit peel flour (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* deg.) in insulin sensitivity in type 2 diabetes mellitus patients. *Nutrition Journal*. v.11, n.89, p. 1-7, 2012.

RIBEIRO, L. S. Elaboração de bebida fermentada de caldo de cana e abacaxi utilizando leveduras *saccharomyces* e não-*saccharomyces*. Dissertação - Mestrado, Universidade Federal de Lavras, 2014.

- RIBÉREAU-GAYON, P.; LONVAUD, A.; DONECHE, B.; DUBUORDIEU, D. Tratado de Enología In: *Microbiología del Vino Vinificaciones*. Ediciones Mundi-Prensa. 1ª Edição. Buenos Aires: Hemisfério Sur, 2003.
- ROBERFROID, M. B. Prebiotics and probiotics: are they functional foods?. *The American journal of clinical nutrition*, v. 71, n. 6, p. 1682S-1687S, 2000.
- ROCHA, NEILANE GOMES DA. Elaboração de fermentado alcoólico misto de Maracujá (*Passiflora edulis*) e beterraba (*Beta vulgaris* L.).2018.
- RODRIGUES, K. L.; CARVALHO, J. C. T.; SCHNEEDORF, J. M. Anti-inflammatory properties of kefir and its polysaccharide extract. *Inflammopharmacology*. Vol 13, No.5-6: pp485-492, 2005.
- RODRIGUES, K. L., CAPUTO, L. R. G., CARVALHO, J. C. T., EVANGELISTA, J., & SCHNEEDORF, J. M. (2005). Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 25(5), 404–408, 2005.
- SANEWSKI, G. M.; BARTHOLOMEW, D. P.; PAULL, R. E. The pineapple: botany, production and uses. 2nd Edition, CABI, 2018. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books>>. Acessado em 07 de Agosto de 2019.
- SANTOS, G.; OLIVEIRA, M. A. X. Elaboração e Processamento de bebida alcoólica fermentada, a partir do suco do abacaxi (*Ananas comosus*, L. Merrill), produzido no Município de Floresta do Araguaia. Trabalho de Conclusão de Curso, Graduação em Tecnologia Agroindustrial, Universidade do Estado do Pará, 2007.
- SANTOS, F. L.; PEREIRA, F. S.; SOUZA, A. C. Avaliação da aceitação de kefir natural produzido com leite de vaca. In: Congresso latino americano de analistas de alimentos, 3., 2011, Cuiabá. Anais eletrônicos... Cuiabá: UFMT, 2011.
- SAY, D, TANGÜLER, H, GÜZELER, N . "Çilek ve Kayısı Aromalı Kefirlerin Depolanması Sırasında Mikrobiyolojik Özelliklerindeki Değişim". *Academic Platform Journal of Engineering and Science*, 2019. Disponível em: <<http://dergipark.org.tr/apjes/issue/40960/474916>> Acessado em: 07 Maio 2019.
- SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. O cultivo e o mercado do abacaxi. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-cultivo-e-o-mercado-do-abacaxi,71b3438af1c92410VgnVCM100000b272010aRCRD#>>. Acesso em: 04 ago. 2019.
- SCHELL, M. A., Karmirantzou, M., Snel, B., Vilanova, D., Berger, B., Pessi, G., ... & Pridmore, R. D. The genome sequence of *Bifidobacterium longum* reflects its adaptation to the human gastrointestinal tract. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 99, n. 22, p. 14422-14427, 2002
- SILVA, K. R., RODRIGUES, S. A., XAVIER FILHO, L., & LIMA, Á. S. (2009). Antimicrobial activity of broth fermented with kefir grains. *Applied biochemistry and biotechnology*, 152(2), 316-325.
- SILVA, N. S., SILVA, B. D., SOUZA, J. D., DANTAS, V. V., REIS, K. B., & SILVA, E. V. C. (2011). Elaboração de bebida alcoólica fermentada a partir do suco de manga rosa (*Mangifera indica* L.). *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, 5(1), 367-378
- SILVA, P.H.F. et al. Físico-química do leite e derivados – métodos analíticos. Juiz de Fora: Oficina de Impressão Gráfica, 190p.1997.

- SILVA, S.; TASSARA, H. Abacaxi. In: SILVA, S.; TASSARA, H. Frutas no Brasil. São Paulo: Nobel. p.25-27.2001
- SILVA, T. G. et al. Diagnóstico vinícola do sul de Minas Gerais – I.Caracterização físico-química dos vinhos. *Ciência Agrotécnica*, v. 23, n. 3, p. 632-637, 1999.
- SILVA, E. O.; PINTO, P. M.; JACOMINO, A. P.; Silva, L. T. Processamento mínimo de produtos hortifrutícolas – Fortaleza : Embrapa Agroindústria Tropical, 2011.
- SIQUEIRA, R. S. *Manual de microbiologia de alimentos*.1995.
- SOUSA, J. L. U.; MONTEIRO, R. A. B. Fatores interferentes na fermentação alcoólica para a produção de etanol. *FAZU em Revista*, 2012, 08.
- 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*,2013.
- STONE, H.; SIDEL, J. L. Sensory evaluation practices. 3rd ed. Boston: Elsevier Academic Press, 377 p., 2004.
- TAVARES, G., Lordelo, P. P., Regina Silva, M., Pereira Santos, L. F., Larroza Nunes, I., & Magalhães-Guedes, K. T. Produção de bebida fermentada kefir de quinoa (*Chenopodium quinoa*) saborizada com cacau (*Theobroma cacao*) em pó. *Brazilian Journal of Agricultural Sciences/Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 2018.
- TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; BARBETTA, P. A. Análise sensorial de alimentos. Florianópolis: UFSC, 1987.
- TRIPATHI, M. K., & Giri, S. K.. *Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. Journal of Functional Foods*, 9, 225–241,2014.
- VARGAS, A. J., GEREMIAS, D. S., PROVENSÍ, G., FORNARI, P. E., REGINATTO, F. H., GOSMANN, G., ... & FRÖDE, T. S. Passiflora alata and Passiflora edulis spray-dried aqueous extracts inhibit inflammation in mouse model of pleurisy. *Fitoterapia*, v.78, p. 112-119, 2007.
- VU, B., M. CHEN, R. J. CRAWFORD, AND E. P. IVANOVA. Bacterial extracellular polysaccharides involved in biofilm formation: *Molecules*, v. 14, p. 2535-2554.2009.
- XU, D., FELLS, L., WEFERS, D., BEHR, J., JAKOB, F., & VOGEL, R. F. *Lactobacillus hordei dextrans induce Saccharomyces cerevisiae aggregation and network formation on hydrophilic surfaces. International Journal of Biological Macromolecules*, 115, 236–242, 2018.
- XU, D., BECHTNER, J., BEHR, J., EISENBACH, L., GEIBLER, A. J., & VOGEL, R. F. Lifestyle of *Lactobacillus hordei* isolated from water kefir based on genomic, proteomic and physiological characterization. *International journal of food microbiology*, 290, 141-149, 2019.
- Zeraik, Maria Luiza, Pereira, Cíntia A. M., Zuin, Vânia G., & Yariwake, Janete H.. (2010). Maracujá: um alimento funcional. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(3), 459-471.
- ZIBADI S., FARID R., MORIGUCHI S., LU Y., FOO L.Y., TEHRANI P.M.,ULREICH J.B., WATSON R.R. Oral administration of purple passion fruit peel extract attenuates blood pressure in female spontaneously hypertensive rats and humans. *Nutr Res* 27: 408 -416.2007

ANEXO: Ficha sensorial

NOME: \_\_\_\_\_ SEXO: M ( ) F ( )

FAIXA ETÁRIA: ( ) 18-25 anos ( ) 26-35anos ( ) 36 -50 anos ( ) mais de 50 anos

ESCOLARIDADE: \_\_\_\_\_

**Termo de Consentimento Livre Esclarecido**

Convidamos você a participar de uma análise sensorial de **Bebida fermentada à base de água de kefir sabor abacaxi e sabor maracujá**. Essa análise faz parte de um projeto desenvolvido no curso de Engenharia de Alimentos – UFMA. Portanto, se você tiver algum problema com relação à **ingestão de álcool, açúcar, abacaxi**, tais como: alergia ou qualquer outro problema de saúde **NÃO** poderá participar dos testes. Caso concorde em participar, por favor, assine o seu nome abaixo, indicando que leu e compreendeu a natureza e o procedimento do estudo e que todas as dúvidas foram esclarecidas. Data \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Nome \_\_\_\_\_ Assinatura \_\_\_\_\_

- Estamos realizando um teste de aceitação com duas amostras de **Bebida fermentada à base de água de kefir sabor abacaxi e sabor maracujá**, e gostaríamos de conhecer a sua opinião. Caso você esteja interessado em participar, por favor responda a ficha abaixo.

**Marque com um X na escala abaixo o quanto você gosta ou desgosta abacaxi:**

- ( ) Gosto muito ( ) Desgosto ligeiramente  
 ( ) Gosto moderadamente ( ) Desgosto moderadamente  
 ( ) Gosto ligeiramente ( ) Desgosto muito  
 ( ) Nem gosto nem desgosto

**Indique a frequência com que você consome abacaxi:**

- ( ) Diariamente ( ) Mensalmente  
 ( ) 2 a 3 vezes/semana ( ) Semestralmente  
 ( ) Quinzenalmente ( ) Nunca

**Indique a frequência com que você consome bebida fermentada e bebida fermentada de kefir**

- ( ) ( ) Diariamente ( ) ( ) Mensalmente  
 ( ) ( ) 2 a 3 vezes/semana ( ) ( ) Semestralmente  
 ( ) ( ) Quinzenalmente ( ) ( ) Nunca

**Marque com um X na escala abaixo o quanto você gosta de maracujá.**

- ( ) Gosto muito ( ) Desgosto ligeiramente  
 ( ) Gosto moderadamente ( ) Desgosto moderadamente  
 ( ) Gosto ligeiramente ( ) Desgosto muito  
 ( ) Nem gosto nem desgosto

**Indique a frequência que você consome maracujá:**

- ( ) Diariamente ( ) Mensalmente  
 ( ) 2 a 3 vezes/semana ( ) Semestralmente  
 ( ) Quinzenalmente ( ) Nunca

**Marque com um abaixo o quanto você gosta ou desgosta de bebida fermentada e bebida fermentada de kefir**

- ( ) ( ) Gosto muito ( ) ( ) Desgosto ligeiramente  
 ( ) ( ) Gosto moderadamente ( ) ( ) Desgosto moderada  
 ( ) ( ) Gosto ligeiramente ( ) ( ) Desgosto muito  
 ( ) ( ) Nem gosto nem desgosto

Por favor, avalie cada uma das amostras codificadas utilizando a escala abaixo.

9. Gostei muitíssimo  
 8. Gostei muito  
 7. Gostei moderadamente  
 6. Gostei ligeiramente  
 5. Nem gostei nem desgostei  
 4. Desgostei ligeiramente  
 3. Desgostei moderadamente  
 2. Desgostei muito  
 1. Desgostei muitíssimo

AMOSTRA	_____	_____
IMPRESSÃO	_____	_____
COR	_____	_____
APARÊNCIA	_____	_____
AROMA	_____	_____
SABOR	_____	_____

Por favor, prove a amostra e indique, utilizando a escala abaixo, O QUÃO IDEAL estão os atributos citados.

- +4 Extremamente mais forte que o ideal  
 +3 Muito mais forte que o ideal  
 +2 Moderadamente Mais forte que o ideal  
 +1 Ligeiramente mais forte que o ideal  
 0 Ideal  
 -1 Ligeiramente Menos forte que o ideal  
 -2 Moderadamente menos forte que o ideal  
 -3 Muito menos forte que o ideal  
 -4 Extremamente menos forte que o ideal

AMOSTRA	_____	_____
DOÇURA	_____	_____
ACIDEZ	_____	_____
CORPO	_____	_____

Escreva abaixo qual seria sua atitude quanto à compra do produto usando a escala abaixo:

- 5 Certamente compraria  
 4 Provavelmente compraria  
 3 Tenho dúvida se compraria  
 2 Provavelmente não compraria  
 1 Certamente não compraria

AMOSTRA	_____	_____
ATITUDE DE COMPRA	_____	_____

**OBSERVAÇÕES**