



## **EFEITO DE DIFERENTES PREBIÓTICOS NO CRESCIMENTO DE BACTÉRIAS LÁTICAS CONTIDAS NOS GRÃOS DE KEFIR**

Ítalo Rodrigues, Aurélia Dornelas de Oliveira Martins, Eduarda Fagundes Magalhães,  
Sebastião Moreira Júnior, Maurílio Lopes Martins, Rosélio Martins Viera

### **RESUMO**

O Kefir apresenta vários benefícios à saúde e dentre eles destaca-se o bom funcionamento do intestino. Este estudo tem por objetivo avaliar a influencia de diferentes fontes de fibras no crescimento de bactérias lácticas em Kefir. Os grãos de Kefir foram cultivados em leite integral UHT e após, separados em cinco tratamentos e adicionados de farinha de chia, mel, yacon e farinha de banana verde, além da amostra controle (sem adição dos prebióticos). Os produtos foram incubados ncubadas á 5°C/ 48 horas e realizadas análises físico-química (acidez e pH) e microbiológica (contagem de bactérias lácticas e de bolores e leveduras) nos tempos 0,14 e 28 dias de arlmazenamento a temperatura refrigerada. Os valores de pH variaram de 3,82 a 4,80 e em relação á porcentagem de ácido láctico a variação foi de 0,68 a 1,76. Para bactérias lácticas e bolores e leveduras todas as amostras apresentaram contagem superiores a 6 Log UFC/mL, estando de acordo com a legislação vigente. Um consumo diário de 100g de produto é o suficiente para se obter benefícios de um alimento funcional. As fibras não interferiram na contagem de bactérias lácticas dos produtos, podendo então serem adicionadas para agregar valor ao alimento.

**Palavras-chave:** Leite fermentado; Fibras; Probióticos



## 1 INTRODUÇÃO

A legislação brasileira define Kefir como um leite fermentado resultante da fermentação de leite pasteurizado ou esterilizado realizada com cultivos ácidos lácticos elaborados com grãos de kefir, *Lactobacilos kefir*, espécies dos gêneros *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Acetobacter*, com produção de ácido láctico, etanol e dióxido de carbono. Os grãos de Kefir são constituídos por leveduras fermentadoras de lactose (*Kluyveromyces marxianus*) e leveduras não fermentadoras de lactose (*Saccharomyces omnisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces exiguus*), *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium spp.* e *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* (Brasil, 2007).

Kefir é uma bebida fermentada de origem láctea. Os grãos de kefir contém um complexo misto bacteriano produtor de ácido láctico, acético, leveduras e uma matriz proteica e polissacarídeos (Kesenkas, Gursoy & Ozbar, 2017). É também um leite fermentado, ácido, levemente alcoólico, produzido de forma artesanal a partir de grãos que apresenta uma população microbiana simbiótica considerada estável, imersos em uma matriz constituída de polissacarídeos e proteínas (Yovanoudi et al., 2013).

O kefir é probiótico e apresenta em sua composição água, lipídeos, proteínas, carboidratos e minerais. Seus grãos possuem forma irregular, coloração amarelada e esbranquiçada uma aparência semelhante à couve-flor, apresentam diâmetro que varia de 0,3 a 3,5 cm (Machado et al., 2014).

Estudos de Likotrafi et al., (2015) demonstraram que kefir tem potencial como probiótico, uma vez que é resistente à bÍlis. Além disto, possui atividade antagônica frente a microrganismos patogênicos. Segundo os autores, seus microrganismos são menos resistentes aos ácidos do que o ideal para um produto probiótico, sendo que



essa resistência pode ser aumentada por meio da utilização de tecnologia de encapsulamento ou formulação cuidadosa do veículo alimentar. Os microrganismos presentes no kefir crescem bem aliados a uma gama de prebióticos, o que facilita o desenvolvimento de combinações de simbióticos.

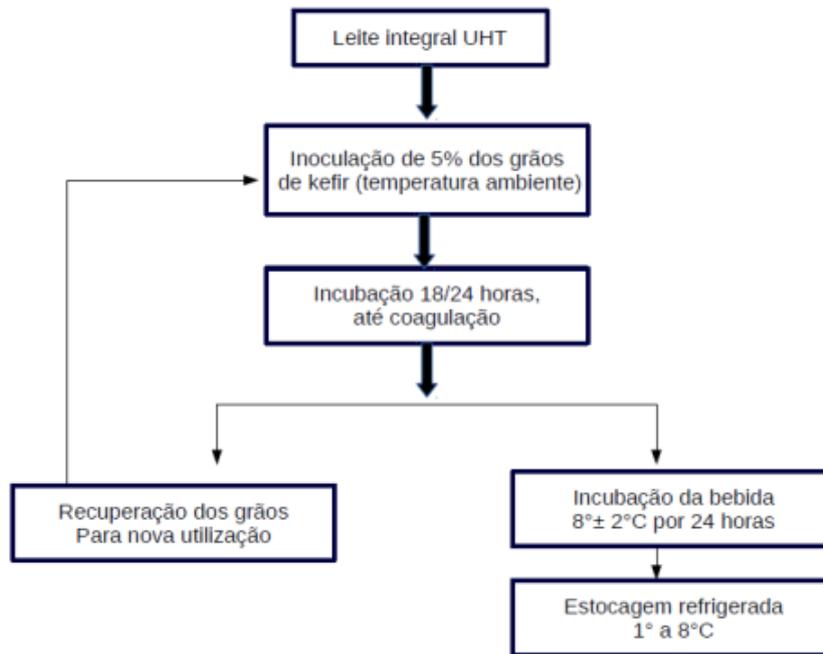
O Kefir pode ser consumido com diferentes produtos, inclusive os prebióticos. Prebióticos são definidos como sendo componentes alimentares não digeríveis capazes de estimular seletivamente a proliferação ou atividade das bactérias desejáveis no intestino (Macedo et al., 2008). Dentre os prebióticos encontram-se diversas farinhas de origem vegetal, fibras e o yacon.

A associação entre probiótico e prebiótico origina os produtos denominados simbióticos (Saad, 2006). Portanto, o presente estudo objetivou elaborar bebida fermentada por Kefir adicionada de diferentes fontes de fibras.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

O presente trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Análise de Alimentos e Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais – Campus Rio Pomba (IF Sudeste MG – Campus Rio Pomba). O experimento foi conduzido com três repetições e em duplicata.

O Kefir utilizado no estudo foi obtido por doação e cultivado no Laboratório de Desenvolvimento de Novos Produtos do IF Sudeste MG/Campus Rio Pomba. O substrato escolhido para o cultivo dos grãos de Kefir foi o leite integral UHT e a ativação dos grãos foi realizada conforme a Figura 1.



**Figura 1:** Ativação dos grãos de Kefir.

Fonte: Adaptado de (Costa & Rosa, 2016).

Logo após o cultivo, as amostras foram divididas em cinco partes e preparados os tratamentos T1: Kefir controle; T2: Kefir no leite adicionado de 2% de mel; T3: Cultivo de Kefir no leite adicionado de 2% de yacon; T4: Kefir no leite adicionado de 2% de farinha de banana verde; T5: Kefir no leite adicionado de 2% de farinha de chia.

Os ingredientes foram adicionados juntamente com a inoculação dos grãos de Kefir no leite. Após fermentação por 24 horas, os grãos foram recuperados e a bebida armazenada a 5°C para realização das análises físico-químicas e microbiológicas.

Foram realizadas análises físico-químicas de acidez titulável e pH (Brasil, 2006) e análises microbiológicas de bolores e leveduras e coliformes totais (Brasil, 2003), nos tempos 0, 14 e 28 dias de armazenamento a 5°C.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R 3.2.5 (R Core team, 2015) com o pacote ExpDes.pt (Ferreira, Cavalcanti & Nogueira, 2013). Foi



utilizado o modelo fatorial 5 X 3, sendo cinco tratamentos e três tempos e quando necessário as médias foram comparadas pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento kefir com banana apresentou maior acidez ( $p < 0,05$ ) no tempo 0 quando comparado ao tempo 14. As demais amostras não diferiram ( $p > 0,05$ ) com o tempo. No tempo 0 e 14 dias de armazenamento o tratamento kefir com banana apresentou maior acidez ( $p < 0,05$ ) que os demais tratamentos nesses tempos.

**Tabela 1** – Média de acidez (% de ácido láctico) de amostras nos tempos 0,14 e 28 dias de armazenamento.

<b>Amostra</b>	<b>Tempo 0</b>	<b>Tempo 14</b>	<b>Tempo 28</b>
<b>Controle</b>	0,76 bA	0,76 aA	0,76 aA
<b>Kefir com farinha de banana</b>	1,76 aA	0,9 aB	0,97 aA
<b>Kefir com Yacon</b>	0,76 bA	0,76 aA	0,88 aA
<b>Kefir com Chia</b>	0,84 bA	0,96 aA	0,94 aA
<b>Kefir com Mel</b>	0,68 bA	0,85 aA	0,94 aA

Letras maiúsculas iguais na mesma linha indica que não houve diferença significativa entre os tempos do mesmo tratamento e letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que os tratamentos não diferiram entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A legislação brasileira estabelece que a acidez do leite fermentado com Kefir deve ser inferior a 1,0% (Brasil, 2007), nesse caso, somente o tratamento kefir com banana no tempo 0 está em desacordo com a legislação vigente.



De Mendonça et al. (2017), avaliaram a influência da adição de farinha de banana verde e biomassa de banana verde no crescimento de bactérias probióticas em leite desnatado. Os autores verificaram aumento de bactérias lácticas durante 30 dias de armazenamento com o aumento do prebiótico.

Os valores de pH não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre as amostras e com o tempo de armazenamento (Tabela 2).

**Tabela 2** - Valores médios de pH das amostras nos tempos 0, 14 e 28 dias de armazenamento.

<b>Amostra</b>	<b>Tempo 0</b>	<b>Tempo 14</b>	<b>Tempo 28</b>
<b>Controle</b>	4,3	4,8	4,5
<b>Kefir com farinha de banana</b>	4,4	4,5	4,5
<b>Kefir com Yacon</b>	4,4	4,4	4,2
<b>Kefir com Chia</b>	4,2	4,6	4,7
<b>Kefir com Mel</b>	3,8	4,1	4,1

Caetano & Montanhini (2014) avaliaram pH de Kefir em diferentes estados de fermentação e temperaturas e encontraram valores que variaram de 3,25 a 4,24. Resultados semelhantes foram encontrados por Pallezi et al. (2015).

Estes valores estão de acordo com valores médios de pH encontrado por Parreira et al. (2019), que ao elaborarem sorvete de polpa de manga adicionada de bactérias lácticas contidas nos grãos de kefir observaram valores de pH variando entre



4,60 a 5,13. Dessa forma os autores concluíram que o aumento da contagem das bactérias lácticas em kefir foi proporcional ao crescimento da acidez.

Moura et al. (2020) não encontraram variação de pH e acidez para os tratamentos nos tempos 0 e 28 dias de estudo em antepasto de kefir adicionado de *L. acidophilus acidophilus* e coprodutos agroindustriais.

Quanto à contagem de bactérias lácticas em kefir, a Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007 (BRASIL, 2007) estabelece uma contagem mínima de  $10^7$  UFC/g, portanto todos os tratamentos estão conforme a legislação vigente (Tabela 3).

O tempo não interferiu na viabilidade de bactérias lácticas dos tratamentos, exceto para kefir adicionado de mel, que aos 28 dias de armazenamento teve a viabilidade de bactérias lácticas reduzida quando comparado com os tempos 0 e 14 dias.

**Tabela 3-** Resultado das análises da viabilidade da bactéria láctica (Log UFC/mL) dos tratamentos de kefir nos tempos 0, 14 e 28 dias de fabricação.

<b>Amostra</b>	<b>Tempo 0</b>	<b>Tempo 14</b>	<b>Tempo 28</b>
<b>Controle</b>	8,7 aA	8,5 abA	8,5 abA
<b>Kefir com farinha de banana</b>	8,2 aA	8,2 abA	8,2 abcA
<b>Kefir com Yacon</b>	8,6 aA	8,6 aA	8,6 aA
<b>Kefir com Chia</b>	8,1 aA	7,8 bA	7,7 cA
<b>Kefir com Mel</b>	8,8 aA	8,8 aA	7,8 bcB



Letras maiúsculas iguais na mesma linha indica que não houve diferença significativa entre os tempos do mesmo tratamento e letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que os tratamentos não diferiram entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Para às análises de bolores e leveduras, foram encontrados valores próximos a 3 Log UFC/mL para todas as amostras nos diferentes tempos, o que está abaixo do que a legislação recomenda que é no mínimo 4 Log UFC/mL (Tabela 4). Tanto o tempo de armazenamento quanto a fibra adicionada ao kefir não interferiram na viabilidade de bolores e leveduras dos tratamentos ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 4-** Resultados das análises de bolores e leveduras (Log UFC/mL) nos tempos 0, 14 e 28 dias de fabricação.

<b>Amostra</b>	<b>Tempo 0</b>	<b>Tempo 14</b>	<b>Tempo 28</b>
<b>Controle</b>	3,4	3,4	3,4
<b>Kefir com farinha de banana</b>	3,2	3,1	3,2
<b>Kefir com Yacon</b>	3,3	3,4	3,3
<b>Kefir com Chia</b>	3,2	3,1	3,1
<b>Kefir com Mel</b>	3,5	3,4	3,4

Em seus estudos Moreira Junior et al. (2018) verificaram que a adição de diferentes concentrações de yacon em Kefir com mel não interferiram no crescimento das bactérias lácticas presentes no grão de Kefir.



Lima et al. (2014) ao avaliarem leite de ovelha fermentado com kefir encontraram uma contagem de 11 Log UFC/mL de bactérias lácticas e 8 Log UFC/mL de leveduras. Já Hong et al. (2009) encontraram  $10^7$  UFC/g para bolores e leveduras em grãos de kefir encapsulados.

#### **4. CONCLUSÃO**

Diante do exposto foi possível verificar que é possível elaborar kefir com fibras, sendo que somente a adição de farinha de banana ultrapassou a acidez estabelecida pela legislação vigente. As diferentes fontes de fibras não interferiram na microbiota de bolores e leveduras dos tratamentos com Kefir. Esta bebida fermentada pode ser considerada uma bebida probiótica, pois atende o requisito mínimo preconizado pela legislação. Dessa forma é um ótimo alimento para ser consumido por pessoas que estão em busca de melhores condições de vida, ou que apresentam doenças como constipação intestinal. Entretanto estudos envolvendo análise sensorial são necessários para verificar a aceitação do produto, assim como sua intenção de compra.

#### **5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

BRASIL. (2007). Instrução normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Aprova o Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. Disponível em: [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br)

BRASIL. (2006). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº68, de 12 de



dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 14 dez., 2006. Seção I.

BRASIL. (2003). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 set., 2003. Seção I.

CAETANO, D. R; MONTANHINI, M. (2014). Análise microbiológica de leite fermentado kefir produzido com leite contaminado por *Escherichia coli*. Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos, 5: 33-38.

COSTA, N. M. B; ROSA, C. O. B. (2016). Alimentos funcionais: Componentes Bioativos e Efeitos Fisiológicos. Editora Rubio, Rio de Janeiro, 504p.

DE MENDONÇA, CD; CIABOTTI, S; MAGALHÃES, M.L; CARLOS, F.G; VITAL, A.R . (2017). Interferência da adição da biomassa e farinha de banana verde (*Musa spp.*) e farinha da casca de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) na multiplicação de bactérias probióticas em leite cultivado light. ForScience, 5: 1-19.



FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P.P. & NOGUEIRA, D.A. (2013). ExpDes:

Experimental designs package. R package version 1.1.2. Disponível em

<<http://CRAN.R-project.org/package=ExpDes>>.

HONG, W. S.; CHEN, H.C; CHEN, Y.P; CHEN, M.J.(2009). Effects of kefir supernatant and lactic acid bacteria isolated from kefir grain on cytokine production by macrophage. *International Dairy Journal*, 19: 244-251.

MOREIRA JUNIOR, S.M; DE FREITAS, M.L.F; MARTINS, M.L; BENEVENUTO, W.C.A.N; GONÇALVES, I.F; MARTINS, A.D.O . (2018). Avaliação do efeito de yacon em kefir sabor morango. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 73: 51-61.

KESENKAS, H.; GURSOY, O.; OZBAR. (2017). kefir. *Fermented Foods in Health and Disease Prevention*, p. 339-361.

LIKOTRAFITI, E.; VALAVANI, P.; ARGIRIOU, A.; RHOADES, J. (2015). *In vitro* evaluation of potential antimicrobial synbiotics using *Lactobacillus kefir* isolated from kefir grains. *International Dairy Journal*, 45: 23-30.

LIMA, M.S.F; SILVA,R.A; SILVA, M.F; PORTO,A.L.F; CAVALCANTI, M.T.H. (2014) Características Microbiológicas e Antioxidantes de um Novo Alimento Funcional Probiótico: Leite de Ovelha Fermentado por Kefir. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, Anais eletrônicos... COBEQ: Florianópolis. Disponível em: [www.proceedings.blucher.com.br/articledetails/caractersticas-microbiologicas-](http://www.proceedings.blucher.com.br/articledetails/caractersticas-microbiologicas-)



eantioxidantes-de-um-novo-alimento-funcionalprobitico-leite-de-ovelha-fermentado-  
porkefir-17081>.

MACEDO, R.E.F; JUNIOR, S.B.P; TERRA, N.N; FREITAS, R.J.S. (2008).

Desenvolvimento de embutido fermentado por *Lactobacillus* probióticos:  
características de qualidade. *Food Science and Technology*, 28: 509-519.

MACHADO, B. A.; REIS, J. H.; PIRES, E. A.; SANTOS, F. L. (2014). Mapeamento  
tecnológico de patentes de kefir. *Cadernos de Prospecção*, 5:86.

MOURA, A. C. T; MARTINS, E.M.F; SILVA, V.R.O; SILVA, R.R; CRUZ, W.F; MARTINS.  
A.D.O. (2020). Avaliação sensorial de antepasto de kefir enriquecido com  
*Lactobacillus acidophilus* La-5 e coprodutos agroindustriais. *Alimentos: Ciência,  
Tecnologia e Meio Ambiente*, 1: 84-96.

PARREIRAS, P.M; DANTAS, M.I.S; COELHO, A.I.M; SOUZA, E.C.G. (2019).

Desenvolvimento de sorvete de kefir com polpa de manga: avaliação sensorial, físico-  
química e de bactérias ácido lácticas. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, 40:  
109-118.

SAAD, Susana Marta Isay. (2006). Probióticos e prebióticos: o estado da arte.  
*Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 42: 1-16.



YOVANOUDI, M. et al. (2013). Flow behavior studies of kefir type systems. Journal of food engineering, 118: 41-48.