



UNIVERSIDADE DO VALE DO TAQUARI – UNIVATES
CURSO DE NUTRIÇÃO

Propriedades probióticas em preparações com kefir

Elieai Araujo Cezar

Lajeado, novembro de 2019

Elienai Araujo Cezar

Propriedades probióticas em preparações com kefir

Trabalho de Conclusão de Curso II, do curso de Nutrição, da Universidade do Vale do Taquari – Univates, como parte da exigência para obtenção do título de Bacharela em Nutrição.

Orientador (a): Simara Rufatto Conde

Co-orientador (a): Natali Knorr Valadão

Lajeado, novembro de 2019

Propriedades probióticas em preparações com kefir

Probióticos e kefir

Elieenai Araujo Cezar¹, Natali Knorr Valadão² e Simara Rufatto Conde³

¹ Acadêmica do curso de Nutrição; Universidade do Vale do Taquari – UNIVATES. elieenaai@gmail.com.

² Docente do curso de Gastronomia; Universidade do Vale do Taquari – UNIVATES. natali.valadao@univates.br.

³ Docente do curso de Nutrição; Universidade do Vale do Taquari – UNIVATES. Rua Avelino Talini, 171 - Bairro Universitário, Lajeado/RS, CEP 95914-014. Telefone: (51)3714-7000. E-mail: simamarufatto@terra.com.br.

Termos de indexação: Probióticos. Temperatura alta. Fermentação.

Index Terms: Probiotics. High temperature. Fermentation.

Resumo: O *kefir* é um leite fermentado com potencial para ação probiótica, e para ser considerado probiótico, o alimento deve apresentar valores de 10^8 a 10^9 unidades formadoras de colônias por grama ou mililitro (UFC/g ou mL). O trabalho buscou avaliar se a elevação da temperatura do *kefir* altera as suas propriedades probióticas. Estudo experimental, com a elaboração e análise em dois momentos, de um bolo e de uma ricota adicionados de leite fermentado de *kefir*. Para o leite fermentado e a ricota foi realizado o plaqueamento em profundidade e uma sobrecamada com o meio de cultura MRS, seguido por incubação a 32 °C por 48h. No bolo foi realizado plaqueamento em profundidade e incubação com MRS a 30 °C por 72h em anaerobiose. As contagens de bactérias lácticas encontradas no leite fermentado de *kefir* foram de $3,5 \times 10^5$ e $2,5 \times 10^5$ UFC/mL. Não houve crescimento de bactérias lácticas no bolo submetido a 180 °C. A ricota apresentou contagens de $1,8 \times 10^2$ e $6,7 \times 10^2$ UFC/g. Pela influência de fatores pré ou pós fermentação, as preparações não atingiram potencial probiótico, entretanto, ocorreu inativação das bactérias lácticas no bolo e redução na ricota, demonstrando redução em temperaturas elevadas.

Palavras-chave: Probióticos. Alta temperatura. Fermentação.

Probiotic properties in kefir preparations

Abstract: The kefir is a fermented milk with probiotic action potential, and to be considered a probiotic the food has to have values between 10^8 and 10^9 colony forming units per gram or milliliter (UFC/g or mL). The study sought to evaluate if the temperature of kefir changes its probiotic properties. It's an experimental study that consists in the preparation and analysis, in two moments, of cake and ricotta with added kefir fermented milk. The fermented milk and the ricotta were deep plated with a layering of MRS culture, followed by incubation at 32 °C for 48h. The cake was deep plated and incubated with MRS at 30 °C for 72h in anaerobiosis. The counting of lactic bacteria found in the kefir fermented milk was $3,5 \times 10^5$ and $2,5 \times 10^5$ UFC/mL. Lactic bacteria didn't grow in the cake submitted to 180 °C. The ricotta showed counting of $1,8 \times 10^2$ and $6,7 \times 10^2$ UFC/g. Because of the influence of pre and post-fermentation factors, the preparations didn't acquire probiotic potential, however lactic bacteria were inactivated in the cake and reduced in the ricotta, showing reduction at high temperatures.

Keywords: Probiotics. High temperature. Fermentation.

INTRODUÇÃO E OBJETIVO

O *kefir* é um leite fermentado nativo das Montanhas do Cáucaso na Rússia^[1]. Estima-se que sua origem corresponda a 2000 antes de Cristo (a.C). Seu nome é originário da palavra turca *keyif*, que significa “boa comida”. Também conhecido com denominações como *kefer*, *kefyr*, *kephir*, *kepi*, *kiaphur*, *kipi* e *knapon*^[2], é habitualmente consumido em países da Europa Oriental, Rússia e sudeste da Ásia^[3].

A diversidade microbiológica encontrada nos grãos de *kefir* é composta por culturas ácido-láticas, *Lactobacillus kefir*, espécies dos gêneros *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Acetobacter* com formação de ácido lático, etanol e dióxido de carbono^[4]. Este ácido lático provém da fermentação de açúcares e exerce importante atribuição na maioria das fermentações alimentares^[5], pois inibe a aderência e multiplicação de patógenos, através da diminuição do pH no meio.^[6]

Devido à sua estrutura microbiológica, o *kefir* possui ação probiótica^[7], sendo os probióticos definidos como micro-organismos vivos ocupantes usuais do trato gastrointestinal, que, quando ingeridos em quantidade suficiente, sobrevivem à passagem pelo sistema gastrointestinal e se proliferam colonizando o trato digestivo e favorecendo a saúde do hospedeiro^[8]. Entretanto, para um alimento ser considerado probiótico, deve possuir valores de 10^8 a 10^9 Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g) de alimentos, o que, na recomendação de consumo diário do produto, equivale ao consumo de 100 gramas contendo 10^6 a 10^7 UFC/g^[9].

O consumo regular de *kefir* promove ações hipocolesterolêmicas; estimulação do sistema imunológico; ação antimicrobiana; redução do risco de câncer; controle glicêmico em diabéticos tipo II, entre outros^[10]. Além disso, a adição de micro-organismos probióticos em preparações como bolo^[11], sobremesa láctea^[12], queijo^[13], iogurte^[14], gelado comestível^[15], sorvete^[16] e *smoothie*^[17], melhora as características nutritivas e terapêuticas^[18], potencializando o sistema de defesa^[19].

O *kefir* deve ser capaz de manter a sua atividade metabólica em todas as etapas da produção do alimento, desde a preparação até o consumo, resistindo ao sistema gastrointestinal. Cabe salientar que, a temperatura é o principal fator físico envolvido na manutenção das características nutricionais, químicas e microbiológicas dos alimentos adicionados de

probióticos, sendo essencial garantir que essas características permaneçam viáveis no produto pronto^[20].

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar se a elevação da temperatura do *kefir* altera as suas propriedades probióticas, a partir da elaboração de duas receitas adicionadas do leite fermentado de *kefir*.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo de caráter experimental realizado no mês de setembro de 2019, que envolveu a elaboração do *kefir* e duas receitas, um bolo e uma ricota, com o leite fermentado do *kefir*, as preparações foram submetidas à análise microbiológica para avaliação da estabilidade e sobrevivência de micro-organismos probióticos nos grãos de *kefir* submetidos a elevação da temperatura. As preparações foram realizadas e analisadas no Laboratório de Técnica Dietética da Universidade do Vale do Taquari – Univates, em dois diferentes momentos, com intervalo de duas semanas.

Elaboração do leite fermentado de *kefir*

O preparo do leite fermentado de *kefir* consistiu em adicionar 90g de grãos de *kefir*, obtido através de doação, a 1000mL de leite ultrapasteurizado em um reservatório de vidro, onde foi mantido por cerca de 24h à temperatura entre 20 a 25 °C, num processo de fermentação. Posteriormente à fermentação, os grãos foram filtrados com o auxílio de uma peneira^[21].

Elaboração do bolo com *kefir*

Para a elaboração do bolo, foram adquiridos os ingredientes em supermercados da cidade de Lajeado, Rio Grande do Sul, sendo o leite fermentado do *kefir* elaborado previamente. Para a preparação do bolo, foram liquidificados 100mL de óleo de girassol; 250mL de leite fermentado do *kefir*; 2 unidades de ovos; 250g de farinha de trigo; 460g de açúcar demerara; 9g de fermento em pó. A mistura foi assada em forno médio, preaquecido a 180 °C, por cerca de 30 minutos^[22].

Elaboração da ricota com *kefir*

Foram utilizados os seguintes ingredientes, adquiridos em supermercados de Lajeado, Rio Grande do Sul: leite de vaca integral ultrapasteurizado, pimenta do reino branca, sal refinado e o leite fermentado de *kefir*.

O preparo iniciou com a adição de 2000mL de leite integral numa panela, até atingir 60 °C. Posteriormente, despejou-se, aos poucos, 500mL de leite fermentado de *kefir*. Quando o leite começou a talhar, foi retirado com uma peneira e despejado sob um escorredor de macarrão forrado com um pano limpo. A preparação ficou em repouso para dessorar, por cerca de 30 minutos, sendo adicionados 0,5g de pimenta do reino branca e 1g de sal refinado^[23].

Análise microbiológica

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade do Vale do Taquari - Univates. Foram analisadas duas classes de produtos: uma de alimentos lácteos (leite fermentado e ricota) e uma de um bolo. Para ambas as classes, foi utilizado o Ágar MRS (de Man Rogosa & Sharpe).

Para os lácteos, foi realizado um plaqueamento em profundidade e uma sobrecamada do meio, seguidos por incubação a 32 °C por 48h. Já para o bolo, foi feito o plaqueamento em profundidade e a incubação a 30 °C por 72h, em anaerobiose^[24].

Foram utilizados 25g de amostra, diluídos em 225mL de água peptonada, que passaram por processo de homogeneização e, posteriormente, foram feitas as diluições em água peptonada e plaqueamento em MRS, em profundidade, com sobrecamada ou em profundidade com anaerobiose, de acordo com a classe.

Os resultados das duas análises foram expressos pelo número de UFC/g ou mL de alimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta os valores obtidos pelas análises do crescimento de bactérias lácticas nas amostras de bolo, ricota e leite fermentado de *kefir*.

Tabela 1. Análises microbiológicas para a contagem da sobrevivência de bactérias lácticas nas amostras de bolo, ricota e leite fermentado de *kefir*.

Amostra	Quantidade (g/mL)	1ª análise	2ª análise
Bolo	25	Sem crescimento	Sem crescimento
Ricota	25	$1,8 \times 10^2$ UFC/g	$6,7 \times 10^2$ UFC/g
Leite fermentado de <i>kefir</i>	25	$3,5 \times 10^5$ UFC/g	$2,5 \times 10^5$ UFC/g

Fonte: Dados obtidos. Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade do Vale do Taquari - Univates. 2019.

Considerando o aumento da demanda dos consumidores por produtos saudáveis que atuem tanto na prevenção quanto na promoção da saúde^[25], o leite fermentado é um alimento visado para o consumo, pois a maioria dos consumidores conhece as vantagens que o produto oferece, por conter micro-organismos viáveis, benéficos à saúde^[26].

Porém, como observado nos resultados obtidos, nem sempre as bactérias lácticas estão presentes em quantidade suficiente para garantir o potencial probiótico. É necessário compreender que as bactérias probióticas só resultam em benefícios no ambiente intestinal quando alcançam uma concentração mínima de 10^6 - 10^7 UFC/g ou mL de células viáveis e quando a regularidade no consumo é de 100g por dia de alimento probiótico^[27].

No presente estudo, nas duas análises, constatarem-se valores de UFC/g inferiores ao preconizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no leite fermentado de *kefir*. Segundo Almeida^[28], existem diversos fatores que afetam a viabilidade dos micro-organismos probióticos em produtos lácteos fermentados: a origem dos grãos; as condições de cultivo; o tempo de fermentação; o método empregado para o cultivo; o tipo de substrato adicionado; a relação entre a quantidade de grãos e o leite; a temperatura.

Os grãos de *kefir* utilizados no processo fermentativo foram fornecidos por doação em estado de congelamento. Segundo Alves et. al.^[29], o processo de congelamento seguido do descongelamento ocasiona sérios danos às células probióticas, podendo impossibilitar a multiplicação ou provocar a morte das células, o que pode explicar a baixa contagem de bactérias ácido lácticas na amostra.

Apesar de os valores de UFC/g do leite fermentado demonstrarem-se insuficientes, constatou-se que nenhuma colônia de bactérias lácticas se desenvolveu no bolo submetido à temperatura de 180 °C, demonstrando serem inativas sob elevação de temperatura, tendo em vista que a maioria das cepas probióticas se multiplicam nas faixas de temperatura de 37 a 40

°C^[30]. Em relação às temperaturas máximas toleradas, autores citam que a elevação de temperaturas entre 40^[31] a 70 °C inativa a maior parte das bactérias lácticas^[32].

A ricota também apresentou valores de bactérias lácticas inferiores ao preconizado para classificação do alimento probiótico. A elevação a 60 °C destruiu parte das bactérias lácticas, mas não totalmente como o ocorrido com a elevação a 180 °C no bolo.

As limitações do estudo são decorrentes da escassez de trabalhos relacionados a análise da viabilidade probiótica em fermentados com elevação de temperatura. Outra limitação, se deve ao leite fermentado de *kefir* apresentar quantidades de UFC/mL reduzidas. Porém, devido ao fato de os grãos de *kefir* terem sido fornecidos por doação e serem desconhecidos os cuidados anteriores com a manipulação dos grãos, não havia garantia anterior às análises de que as culturas bacterianas alcançariam a quantidade preconizada para alcançar o potencial probiótico.

CONCLUSÕES

Constatou-se que nenhuma colônia de bactérias lácticas se desenvolveu no bolo submetido à temperatura de 180 °C, demonstrando inatividade sob elevação de temperatura. Quanto à ricota, os valores encontrados foram insuficientes para classificar o potencial probiótico. Acredita-se que pela influência de fatores pré ou pós-fermentação, como a origem dos grãos, as condições de cultivo ou mesmo, o estado de congelamento ao qual os grãos de *kefir* foram submetidos, nenhuma das amostras atendeu à Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007, sendo insuficientes para caracterizar as preparações como probióticas.

Ressalta-se a necessidade de mais estudos que avaliem a viabilidade de bactérias lácticas em grãos de *kefir* sob o contexto de diferentes origens, tempo de fermentação e substratos como açúcar mascavo, leite de cabra, ovelha, búfalo, sucos de frutas, entre outros. Além de identificar a dosagem ideal de grãos para a fermentação e a temperatura mínima a qual poderão ser submetidas as preparações adicionadas do leite fermentado para garantia do potencial probiótico, considerando a importância fisiológica da sobrevivência das bactérias probióticas para o consumidor.

Por fim, os resultados obtidos ampliam as possibilidades de estudos futuros abordando a utilização do leite fermentado de *kefir* no desenvolvimento de produtos alimentícios.

REFERÊNCIAS

- [1] Rocha DMUP, Martins JFLM, Santos TSS, Moreira AVB. Labneh with probiotic properties produced from kefir: development and sensory evaluation. *Food Science and Technology*. 2014;34(4): 694-700.
- [2] Yerlikaya O. Starter cultures used in probiotic dairy product preparation and popular probiotic dairy drinks. *Food Science and Technology*. 2014;34(2): 221-229.
- [3] Rocha DMUP, Martins JFLM, Santos TSS, Moreira AVB. Labneh with probiotic properties produced from kefir: development and sensory evaluation. *Food Science and Technology*. 2014;34(4): 694-700.
- [4] Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução normativa nº 46, de 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, out. 2007.
- [5] Pérez-Chabela ML, Totolaus A, Guerrero I. Evaluation of thermotolerant capacity of lactic acid bacteria isolated from commercial sausages and the effects of their addition on the quality of cooked sausages. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2008;28(1): 132-138.
- [6] Dias PA, Silva DT, Timm CD. Atividade antimicrobiana de microrganismos isolados de grãos de kefir. *Ciência Animal Brasileira*. 2018;19: 1-8.
- [7] Silva TJ, Martins ADO, Pereira DCS, Benevenuto WCAN. Bebida láctea funcional a base de soro fluido e em pó: qualidade físico-química e microbiológica. *Higiene Alimentar*. 2017; 31(268269): 122-127.
- [8] Rocha DMUP, Martins JFLM, Santos TSS, Moreira AVB. Labneh with probiotic properties produced from kefir: development and sensory evaluation. *Food Science and Technology*. 2014;34(4): 694-700.
- [9] Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução normativa nº 46, de 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, out. 2007.
- [10] Martins JFL, Marinho E, Firmino HH, Rafael VC, Ferreira CLLF. Avaliação da adição do kefir em dieta hospitalar. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. 2012;67(386): 13-19.
- [11] Esteller MS, Zancanaro Júnior O, Lannes SCS. Bolo de “chocolate” produzido com pó de cupuaçu e kefir. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2006; 42(3).
- [12] Vasconcelos CM, Martins JFL, Rafael VC, Ferreira CLL. Desenvolvimento e avaliação sensorial de sobremesa láctea potencialmente simbiótica. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. 2013;68(391): 11-17.

- [13] Marques KA, Ferreira RP, Martins ADO, Soares BG, Martins ML, Martins JM. Características físico-químicas e sensoriais de queijo minas padrão probiótico. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. 2011;66(378): 17-25.
- [14] Castagnoli JL, Bennemann GD, Schwarz K, Mazur CE, Cavagnarl MAV, Vieira RFFA. Elaboração e aceitabilidade de iogurte de quefir adicionado de caseína por atletas e esportistas. São Paulo: *Revista Brasileira de Nutrição Esportiva*. 2019;13(79): 312-320.
- [15] Pletsch LBH, Severo J, Hermanns G, Preichardt LD. Gelado comestível de kefir adicionado de polpa de jabuticaba e morango. Juiz de Fora: *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. 2019;74(1): 223-234.
- [16] Parreiras PM, Dantas MIS, Coelho AIM, Souza ECG. Desenvolvimento de sorvete de kefir com polpa de manga: avaliação sensorial, físico-química e de bactérias ácido lácticas. Londrina: *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*. 2019;40(1): 109-118.
- [17] Gallina DA, Barbosa PPM, Ormenese RCSC, Garcia AO. Desenvolvimento e caracterização de bebida fermentada probiótica smoothie. *Revista Ciência Agronômica*. 2019;50(3): 378-386.
- [18] Araujo JBC, Pimentel JCM, Paiva FF, Macedo BA. Produção artesanal de queijo coalho, ricota e bebida láctea em Agroindústria familiar: noção de boas práticas de fabricação. Brasília: EMBRAPA; 2012.
- [19] Lima TL, Weschenfelder S. Benefícios dos probióticos para a microbiota intestinal e sua adição em derivados lácteos e suplementos. Juiz de Fora: *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. 2019;74(1): 235-243.
- [20] Saad SMI, Cruz AG, Faria JAF. Probióticos e prebióticos em alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas. São Paulo: Varela; 2011.
- [21] Leite AMO, Miguel MAL, Peixoto RS, Rosado AS, Silva JT, Paschoalin VMF. Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2013;44(2): 341-349.
- [22] Kefir: propriedades funcionais e gastronômicas/organizado por Ferlando Lima Santos – Cruz das Almas/BA: UFRB, 2015, 124 p.
- [23] Souza MYM. Análise de creme de ricota: caracterização físico-química e classificação quanto ao teor de gordura no extrato seco. [Trabalho de conclusão de curso de Química Industrial]. Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.
- [24] Silva TJ et al. Bebida láctea funcional a base de soro fluido e em pó: qualidade físico-química e microbiológica. *Higiene Alimentar*. 2017;31(268269): 122-127.
- [25] Reis JMC, Pinheiro MF, Oti AT, Feitosa Junior DJS, Pantoja MS, Barros RSM. Technological information regarding prebiotics and probiotics nutrition versus the patent

registers: What is new?. Abcd. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva. 2016;29(4): 279-281.

- [26] Souza FS, Cocco RR, Sarni ROS, Mallozi MC, Solé D. Prebióticos, probióticos e simbióticos na prevenção e tratamento das doenças alérgicas. Revista Paulista de Pediatria. 2010;28(1): 86-97.
- [27] Komatsu TR, Buriti FCA, Saad SMI. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. 2008;44(3): 329-347.
- [28] Almeida APAS. A utilização do *kefir* e seus benefícios para a saúde: revisão integrativa. [monografia]. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia; 2018.
- [29] Alves LL, Richards NSPS, Becker LV, Andrade DF, Milani LIG, Rezer APS, Scipioni GC. Aceitação sensorial e caracterização de frozen yogurt de leite de cabra com adição de cultura probiótica e prebiótico. Ciência Rural. 2009;39(9): 2595-2600.
- [30] Saad SMI. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. 2006;42(1): 1-16.
- [31] Mezaroba MEPC, Longhi DA, Vedovatto E, Aragão GMF. Estimativa da vida útil e dos parâmetros de crescimento de bactérias ácido-láticas em filés de peito de frango resfriados embalados a vácuo e com atmosfera modificada. Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos. 2016;34(1): 1-14.
- [32] Marques KA, Martins ADO, Soares BG, Martins ML, Martins JM, Bittencourt F. Inibição de microrganismos bioindicadores em queijo Minas Padrão com culturas lácticas adicionadas. João Pessoa: Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária. 2013;7(2):69-74.