

Desenvolvimento de sorvete de kefir com polpa de manga: avaliação sensorial, físico-química e de bactérias ácido lácticas

Development of kefir ice cream with mango pulp: sensory evaluation, physico-chemistry and lactic acid bacteria

Paola Machado Parreiras¹, Maria Ines de Souza Dantas², Ana Iris Mendes Coelho³,
Eliana Carla Gomes de Souza⁴

Resumo

O kefir é uma bebida probiótica que contribui com benefícios à saúde. A sua utilização em preparações como o sorvete contribui para incorporação de micro-organismos probióticos na formulação podendo estimular seu consumo com objetivo funcional, por meio de uma sobremesa apreciada entre os consumidores. O trabalho objetivou analisar as características sensoriais, físico-químicas e microbiológicas de sorvetes caseiros desenvolvidos com kefir e polpa de manga. A formulação 1 do sorvete foi elaborada com kefir à 5% e a formulação 2 com kefir a 10% (m/v) e avaliadas quanto a aceitação, pH, acidez titulável e contagem de BAL. As análises microbiológicas foram realizadas no leite integral, kefir à 5% e 10 % m/v e nos sorvetes antes do congelamento (T0), após o congelamento final (T29 h) e após uma semana do congelamento (T168 h). O pH do kefir a 5 % diferiu ($p < 0,05$) daquele encontrado no de 10%. A análise sensorial mostrou que as formulações foram bem aceitas ($p > 0,05$) em todos os atributos. Após T168 h os sorvetes apresentaram contagem BAL igual a $2,7 \times 10^7$ para a formulação 1 e $1,1 \times 10^8$ UFC/mL para a formulação 2. Conclui-se que o kefir apresentou características de um leite fermentado e que o sorvete de kefir com polpa de manga à 5% e 10% apresentaram após T168 h contagem mínima de bactérias ácido lácticas prevista na legislação.

Palavras-chave: Kefir a 5%. Kefir a 10%. Contagem de bactérias ácido lácticas. pH. Acidez titulável.

Abstract

Kefir is a probiotic drink that contributes health benefits. Its use in preparations such as ice cream can stimulate its consumption through a dessert appreciated among consumers, in addition to allowing the ingestion of lactic acid bacteria. The objective of this work was to analyze the sensorial, physico-chemistry and microbiological characteristics of homemade ice creams developed with kefir and mango pulp. Formulation 1 of the ice cream was made with kefir at 5% and formulation 2 with kefir at 10%, (w/v) and was evaluated for acceptance, pH, titratable acidity and lactic acid bacteria count. Microbiological analyzes were performed in whole milk, kefir at 5% and 10%, and in ice cream before freezing (T0), after the final freezing (T29 h) and after one week of freezing (T168 h). The pH of the kefir at 5% differed ($p < 0.05$) from that found in 10%. Sensory analysis showed that the formulations were accepted ($P > 0.05$) in all attributes. After T168 h, the ice creams had a lactic acid bacteria count

¹ Mestranda no programa de pós-graduação em Saúde e Nutrição na Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil. E-mail: paola_mparreiras@hotmail.com

² Técnica de nível superior do Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

³ Doutorado em Microbiologia Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Professora do Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

⁴ Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Professora do Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

of 2.7×10^7 for formulation 1 and 1.1×10^8 CFU / mL for formulation 2. It was concluded that kefir presented characteristics of a fermented milk and that 5% and 10% kefir ice cream with mango pulp presented after the T168 h the minimum lactic acid bacteria count prescribed in the legislation.

Keywords: Kefir at 5%. Kefir at 10%. Lactic acid bacteria count. pH. Titratable acidity.

Introdução

As pessoas têm buscado uma alimentação mais saudável que contribua com benefícios a saúde. Os probióticos vêm ganhando destaque na alimentação por influenciar positivamente a microbiota intestinal.⁽¹⁻²⁾ De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), probióticos são “micro-organismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo.”⁽³⁾

Entre os alimentos que apresentam culturas probióticas, destaca-se o kefir. A palavra kefir é oriunda do termo “keyif” de origem turca, que significa “sentindo-se bem” após o consumo, possuem um potencial probiótico.⁽⁴⁾ Os grãos de kefir são compostos por uma combinação de leveduras, bactérias ácido lácticas (BAL) e bactérias ácido acéticas (BAA) que estão imersas em uma matriz de proteínas e polissacarídeos e que vivem em simbiose apresentando produção de ácido láctico, etanol e dióxido de carbono.⁽⁵⁾ O consumo do kefir tem despertado interesse devido as suas propriedades benéficas como uma melhor digestão de lactose em indivíduos intolerantes ao mesmo,⁽⁶⁾ efeito antibacteriano,⁽⁷⁾ efeito anti-inflamatório,⁽⁷⁻⁸⁾ atividade antioxidante,⁽⁹⁾ atividade anti-carcinogênica⁽¹⁰⁾ e anti-alérgica.⁽⁷⁾

De acordo com a resolução nº 5 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (MAPA),⁽¹¹⁾ kefir é um leite fermentado cuja fermentação se realiza com cultivos ácido-lácticos elaborados com grãos de kefir, (*Bifidobacterium* sp.) 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 e *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces exiguus*), *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* sp e *Streptococcus salivarius subsp thermophilus*. O kefir deve apresentar acidez entre 0,5 e 1,5g de ácido láctico/100g, 10^7 UFC/mL e 10^4 UFC/mL de bactérias ácido lácticas e de leveduras, respectivamente.⁽¹¹⁾ A quantidade mínima viável para os probióticos deve ser 10^8 a 10^9 UFC na recomendação diária do produto pronto para o consumo. E valores menores podem ser aceitos, desde que sua eficiência seja comprovada.⁽³⁾

O sorvete pode ser um meio viável para inserir culturas probióticas na alimentação humana, por apresentar um potencial para a utilização dessas culturas e boa viabilidade durante o período de armazenamento do produto. Além disso, é um produto consumido por todas as faixas etárias.⁽¹²⁾ De acordo com a Portaria nº 379,⁽¹³⁾ “sorvete é um gelado comestível elaborado com leite ou derivados lácteos e outras matérias primas alimentares”. A RDC nº 266⁽¹⁴⁾ “define que gelados comestíveis são produtos alimentícios provenientes da emulsão de gorduras e proteínas por congelamento, em constante movimento, pasteurizada, com ingredientes lácteos ou não, podendo apresentar outros componentes como açúcares, corantes, aromatizantes e emulsificantes para a incorporação de ar (overrun) assegurando sua conservação no processo de armazenamento, transporte e até no momento do consumo.”

A inclusão de frutas contribui para melhorar as características sensoriais do kefir e agregar valor nutricional ao sorvete. Essa pesquisa vem para colaborar com o interesse no desenvolvimento de novos produtos, no caso, o sorvete de kefir com polpa de manga, a fim de estimular o uso do kefir

entre a população, através de uma sobremesa que apresenta características sensoriais apreciadas entre os consumidores e possivelmente BAL. O objetivo desse estudo foi desenvolver um sorvete caseiro de kefir com polpa de manga avaliando a aceitação, os parâmetros físico-químicos de pH e acidez titulável e contagem de BAL.

Material e Método

Produção do Kefir

As amostras de kefir foram preparadas no Laboratório de Estudo Experimental dos Alimentos do Departamento de Nutrição e Saúde Universidade Federal de Viçosa (UFV) utilizando grãos doados pelo Laboratório de Fermentados do Departamento de Tecnologia de Alimentos da mesma instituição. Para a produção do kefir foi utilizado o leite de vaca pasteurizado integral (3% de gordura). Os grãos de kefir foram inoculados nas proporções de 5% (m/v) e 10% (m/v) em 500 mL de leite. Eles foram pesados em balança da marca Bioprecisa com capacidade de 3000g e sensibilidade de 0,1g. A utilização na faixa de 5 e 10% (m/v) do grão inoculado ao leite é geralmente empregada na produção tradicional de kefir.⁽¹⁵⁾ Em seguida, volumes de 500 mL de leite integral inoculados com os grãos de kefir 5% e 10% foram incubados por 24 horas a 25° C em estufa (BOD Tecnal-TE-390) para análise microbiológica,

análise sensorial e físico-químicas. Depois da fermentação, os grãos de kefir, foram separados do kefir por tamisagem, em peneira e inoculados em uma nova alíquota de leite, repetindo as etapas anteriores. O kefir preparado foi armazenado sob refrigeração a 8°C até o momento do seu uso. Do volume de 500 mL obtido de cada kefir, 300 mL foi reservado para o desenvolvimento do sorvete e o restante para a análise microbiológica e físico-química do kefir.

Preparação da Polpa de Manga

As mangas do tipo Palmer (*Mangifera indica L*) foram higienizadas com sanitizante à base de sódio 2,5%, cloreto de sódio 1% e água deionizada q.s.p. 100%, utilizando 20 gotas/L de água por um período de 15 minutos. Posteriormente as frutas foram descascadas e cortadas

Processamento do Sorvete

Foram elaboradas duas formulações de sorvetes, com variação do kefir a 5% (m/v) e 10 % (m/v). O processamento do sorvete foi realizado de forma caseira, iniciando-se com a pesagem dos ingredientes de acordo com as quantidades listadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Proporção dos ingredientes nas formulações de sorvetes de kefir com polpa de manga.

Ingredientes	Formulações	
	F1	F2
Kefir 5% (mL)	300	-
Kefir 10% (mL)	-	300
Leite condensado (mL)	300	300
Polpa de manga (g)	946	946
Gelatina sem sabor (g)	6	6
Água (mL)	30	30

F1- sorvete de kefir a 5% com polpa de manga F2- sorvete de kefir a 10% com polpa de manga.

Para obtenção do sorvete, liquidificou-se por dois minutos, em alta velocidade, o kefir, o leite condensado e a polpa de manga, até formar um creme. A mistura foi transferida para um recipiente onde foi acrescentada a gelatina sem sabor hidratada, misturando manualmente até completa homogeneização. A massa obtida foi colocada em potes de polietileno (2 L) e congelado à -18 °C em freezer (Brastemp Flex) para a sua maturação, durante 24 horas.⁽¹⁾ Posteriormente, os sorvetes foram colocados em temperatura ambiente por 20 minutos, e submetidos à homogeneização em batedeira doméstica, por 15 minutos, em alta velocidade. A massa obtida foi envasada novamente e congelada a -18° C durante 5 horas. Após esse período, repetiu-se o processo de batimento. O produto final foi armazenado em freezer a - 18 °C até sua utilização.

Análise Sensorial

Avaliação da aceitabilidade de duas formulações de sorvete de kefir com polpa de manga foram realizadas no Laboratório de Análise Sensorial no Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Viçosa. As amostras, codificados com algarismos de três dígitos, foram apresentadas aos consumidores de forma monádica, utilizando o delineamento em blocos inteiramente casualizados. Os consumidores avaliaram os atributos: acidez, sabor, textura e impressão global das formulações utilizando escala hedônica estruturada de 9 pontos, que varia de gostei extremamente(9) a desgostei extremamente(1). Participaram do estudo 70 consumidores, sendo 46 do sexo feminino e 24 do sexo masculino, na faixa etária entre 15 e 40 anos.

Análise Microbiológica

As análises foram realizadas no Laboratório de Higiene dos Alimentos, do Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de

Viçosa. Foram realizadas análises microbiológicas do leite integral, do kefir a 5% (m/v) e 10% (m/v), e do sorvete de kefir com polpa de manga antes do congelamento (T0), após o congelamento final (T29 h) e após uma semana do congelamento (T168 h).

A contagem de BAL foi realizada pelo método de plaqueamento em microgotas, seguida de incubação a 37° C por 24 horas.⁽¹⁶⁾

Contagem de Bactérias ácido Lácticas Totais (BAL) para o Leite Integral e em Kefir

Foi realizada diluição decimal do leite integral e do kefir a 5% (m/v) e 10% (m/v) adicionando 1 mL de cada amostra em tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada. Foram feitas diluições decimais e o plaqueamento em microgotas de 20 µL das diluições na superfície de cada placa de Petri contendo aproximadamente 20 mL de ágar MRS (Man, Rogosa & Sharpe). O plaqueamento foi feito em duplicada, após homogeneização das amostras em agitador de tubos, Vortex. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas.⁽¹⁶⁾

Contagem de Bactérias ácido Lácticas Totais (BAL) das Formulações de Sorvete em Diferentes Tempos de Congelamento

Foram analisadas amostras do sorvete antes do congelamento (T0), após o congelamento final (T29 h) e após uma semana de congelamento (168 h). Aliquotas de 25 mL do sorvete nos diferentes tempos de congelamento foram transferidas para um erlenmeyer contendo 225 mL de água peptonada. Após homogeneização foram realizadas diluições decimais e plaqueamento em microgotas de 20 µL das diluições na superfície de cada placa de Petri contendo aproximadamente 20 mL de ágar MRS (Man, Rogosa & Sharpe). O plaqueamento foi feito em duplicada e as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas.⁽¹⁶⁾

Análise Físico-Química

A análise físico química foi realizada no Laboratório de Desenvolvimento de novos Produtos, e seguiu a metodologia da AOAC.⁽¹⁷⁾ Para análise de pH foram realizadas três repetições em triplicadas e para a acidez titulável três repetições em duplicadas. Essas análises foram feitas no kefir de 5% (m/v) e 10% (m/v) e nos seus respectivos sorvetes após o congelamento final.

Para determinação do pH foi utilizado pHmetro Tecnal-3MP, previamente calibrado com solução tampão pH 4 e 7 e com 85,19% de sensibilidade. A análise de acidez foi realizada por volumetria ácido-base com solução padronizada de hidróxido de sódio 0,1 N (solução Dornic) utilizando-se a solução alcoólica de fenolftaleína a 1% como indicador.

Análise Estatística

O banco de dados foi elaborado com o auxílio do software Excel (Microsoft Excel, 2011), e os dados

referentes à aceitação da amostra foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey a 5% de significância.

Aspectos Éticos

Para a análise sensorial, os participantes foram informados do estudo, e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, autorizando assim a participação no presente estudo. Os esclarecimentos foram feitos em linguagem acessível e a liberdade do consentimento em participar da pesquisa foi garantida a todos os indivíduos, conforme preconizado pelas Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo Seres Humanos do Conselho Nacional de Saúde.⁽¹⁸⁾

O projeto foi submetido e aprovado pelo comitê de ética e experimentação com seres humanos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), com parecer número 471.773.

Resultados e Discussão

Análises Físico-Químicas

Tabela 2 - Valores de pH e acidez titulável do kefir e do sorvete de kefir com polpa de manga.

Formulação	Kefir		Sorvete	
	pH	Acidez titulável (%)	pH	Acidez titulável (%)
F1	5,13 ± 0,06 ^a	0,60 ± 0,08 ^b	4,85 ± 0,05 ^b	0,74 ± 0,20 ^a
F2	4,60 ± 0,17 ^b	0,79 ± 0,05 ^b	3,83 ± 0,06 ^b	1,02 ± 0,15 ^a

F1- kefir a 5% e sorvete de kefir a 5% com polpa de manga F2-kefir a 10% e sorvete de kefir a 10% com polpa manga.

Médias seguidas da mesma letra em cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os valores médios de pH das formulações de kefir variaram entre 4,60 a 5,13 sendo a amostra de kefir a 5% a que apresentou maior valor, deferindo ($p < 0,05$) da outra amostra (Tabela 2). Os resultados

indicam que a quantificação de inóculo foi proporcional ao crescimento, e conseqüentemente, à acidificação. Isto ocorre devido ao aumento da concentração dos grãos de kefir que acarreta a uma elevação de bactérias ácidos lácticas que metabolizam a lactose em moléculas de ácido láctico levando a uma diminuição do pH devido a produção de ácido láctico.⁽¹⁹⁾

O kefir a 5% obteve um pH de 5,13, valor próximo foi encontrado por Irigoyen et al.⁽¹⁹⁾ que encontraram o valor de 4,4 para a sua amostra de 5%. O kefir a 10% apresentou um pH de 4,60, sendo este menor em relação ao kefir a 5%. Caetano e Montanhini⁽²⁰⁾ obtiveram um valor de 4,04 no kefir se assemelhando com o valor encontrado no presente estudo. Em relação aos valores de acidez titulável, as amostras de kefir não diferiram entre si ($p > 0,05$). A Resolução nº 5 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento⁽¹¹⁾ preconiza que o kefir deve ter entre 0,5 a 1,5 g de ácido láctico/100 mL para ser considerado dentro do padrão de identidade e qualidade, portanto os valores encontrados estão dentro dos padrões estabelecido pela legislação.

As amostras de sorvete de kefir com polpa de manga apresentaram valores médios de pH variando entre 3,83 a 4,85 e as formulações de sorvetes não diferiram entre si ($p > 0,05$). O teor de acidez titulável do sorvete, variou entre 0,74 a 1,02. Segundo Pereira et al.⁽²¹⁾ a legislação brasileira

ainda não estabeleceu o nível mínimo de acidez para mistura a base de *frozen yogurt*, produto que mais se aproxima das formulações desenvolvidas nesse estudo.

Análise Sensorial

Os resultados da análise de aceitação dos sorvetes de kefir com polpa de manga estão apresentados na Tabela 3. Todas as formulações avaliadas apresentaram um perfil parecido em relação aos atributos analisados ($p > 0,05$), com aceitação média alocadas entre os termos hedônicos “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. Os resultados sugerem que a adição de kefir, independente da concentração, não afetou a característica sensorial do sorvete. Resultados semelhantes foram constatados por Souza et al.⁽²²⁾, na qual, a adição de micro-organismos probióticos não afetaram a qualidade sensorial do sorvete.

Tabela 3 - Resultado médio (n=70) e desvio padrão da avaliação da aceitação sensorial dos sorvetes de kefir com polpa de manga.

Formulações	Textura	Acidez	Sabor	Impressão Global
F1	7,00 ± 1,47 ^a	7,25 ± 1,61 ^a	6,98 ± 1,72 ^a	7,13 ± 1,50 ^a
F2	6,74 ± 1,77 ^a	7,57 ± 1,27 ^a	7,21 ± 1,53 ^a	7,11 ± 1,35 ^a

F1- sorvete de kefir a 5% com polpa de manga F2- sorvete de kefir a 10% com polpa de manga.

Médias seguidas da mesma letra em cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Análise Microbiológica

Os resultados das análises microbiológicas das amostras de leite integral, do kefir (5% e 10% m/v), sorvete de kefir com polpa de manga nos diferentes tempos de armazenamento (0, 29 e 168 horas) estão apresentados na Tabela 4. Foi utilizado

o tempo de 29 horas de armazenamento devido ao processamento do sorvete, no qual foi feito o batimento em dois momentos, o primeiro após 24 horas de congelamento e o segundo após 5 horas de congelamento, totalizando assim 29 horas.

Tabela 4 - Contagem de BAL em amostras de leite integral, kefir e sorvete em diferente tempo de congelamento.

Amostras	BAL (UFC/mL)	BAL (UFC/mL)
	(F1)	(F2)
Leite integral	1,46x10 ³	1,46x10 ³
Kefir	2,5x10 ⁸	3,9x10 ⁹
Sorvete T 0	1,6 x10 ⁸	1,6 x10 ⁹
Sorvete T 29 h	1,3 x10 ⁸	1,8 x10 ⁸
Sorvete T 168 h	2,7 x10 ⁷	1,1 x10 ⁸

Sorvete T0 – Tempo zero de congelamento; T29 h – após 29 h de congelamento; T168 h – após 7 dias de congelamento.
F1- formulação kefir a 5% F2- formulação kefir a10%.

Os resultados das análises microbiológicas mostraram aumento de aproximadamente 5 ciclos log na contagem de BAL após o processo de fermentação usando 5% de grãos de kefir e de 6 ciclos log ao utilizar 10%, atingindo respectivamente 2,5x10⁸ e 3,9x10⁹ UFC/mL. A população microbiana observada em ambas as amostras analisadas, foi superior a preconizada pela Resolução nº 5 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento,⁽¹¹⁾ que estabelece o valor mínimo de 10⁷ UFC/mL de bactérias lácticas totais no kefir. Entre os micro-organismos encontrados em grãos de kefir estão as bactérias do gênero *Lactobacillus*, conforme relatado por Magalhães et al.⁽²³⁾ Esses autores identificaram bactérias ácido lácticas do gênero *Lactobacillus*, em sua maioria *Lactobacillus paracasei* e *Lactobacillus casei*, como principais constituintes do grãos de kefir. As bactérias pertencentes ao gênero *Lactobacillus* são muito frequentemente empregadas como probióticos por serem consideradas seguras para a saúde do hospedeiro (GRAS - “generally recognized as safe”), uma vez que não são patogênicas e nem capazes de transmitir os fatores de resistência a antimicrobianos para bactérias patogênicas, um aspecto importante em relação aos riscos para a saúde pública e segurança dos produtos.^(2,24)

A contagem de BAL do kefir ficou próximo aos valores encontrados na literatura. Cabral⁽²⁵⁾ relatou contagem de BAL de 5,1x10⁹ UFC/mL e 2,1x10⁹ para o kefir de 5% e 10%, respectivamente, fermentadas em temperatura de 22± 2°C por 24

horas. Já Gontijo⁽²⁶⁾ encontrou o valor de 3,63 x 10⁷ UFC/mL de BAL para o kefir a 5% incubadas em estufa em temperatura controlada de 25±2 °C por 24 horas sendo o valor inferior ao encontrado no presente experimento.

A população inicial de células pode sofrer redução com o processo de congelamento de até 1 ciclo log, devido a injúrias nos micro-organismos, conforme relatado e também por outros ingredientes utilizados na fabricação de sorvete podem levar a essa redução. Desta forma é importante a análise microbiológica para avaliar o efeito do processo de obtenção do sorvete na população de BAL.

Logo após o preparo, antes do congelamento (T0), o sorvete apresentou uma contagem de 1,6 x10⁸ e 1,6 x10⁹ UFC/mL de BAL, utilizando o kefir de 5% e 10%, respectivamente, indicando que nas etapas iniciais do processamento de congelamento a população de BAL foi semelhante àquela inicialmente identificada no kefir. No sorvete congelado após 29 h foi identificada na análise de BAL 1,3 x10⁸ e 1,8 x10⁸ UFC/mL. A contagem encontrada no sorvete preparado com kefir a 10% pode evidenciar que o congelamento pode resultar na redução da contagem das células em aproximadamente 1 ciclo logarítmico.

Karthikeyan et al.⁽²⁷⁾ analisaram a viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei* em sorvetes antes do congelamento e durante 180 dias. No momento anterior ao congelamento encontraram 8,2x10⁹ UFC/mL para *L. acidophilus* e

L.casei. Os autores encontraram $5,1 \times 10^9$ e $4,3 \times 10^9$ UFC/mL, após o primeiro dia de armazenamento, para *L.acidophilus* e *L.casei*, respectivamente. E após 180 dias de congelamento apresentaram uma contagem de $4,1 \times 10^6$ UFC/mL e $1,9 \times 10^7$ UFC/mL. A explicação proposta por esses autores para a redução de bactérias é que o congelamento leva a morte celular bacteriana, principalmente devido a ocorrências de cristais de gelo. Souza et al.⁽¹⁾ constataram a contagem de 10^7 UFC/mL de *Lactobacillus casei* em sorvete após uma semana de armazenamento.

No presente estudo, o sorvete elaborado com kefir tanto a 5% quanto a 10%, após sete dias de congelamento apresentaram a contagem mínima prevista na legislação para o kefir que é de 10^7 UFC/mL de bactérias ácido lácticas.⁽²²⁾

Conclusão

A partir dos resultados obtidos neste estudo, verificou-se que o kefir apresentou características de um leite fermentado e que o sorvete de kefir com polpa de manga tanto a 5% quanto a 10% m/v, após sete dias de congelamento apresentaram a contagem mínima de BAL prevista na legislação para o kefir.

Estudos sobre o desenvolvimento de sorvetes à base de kefir devem levar em consideração a proporção dos grãos utilizados e o processo de congelamento, já que estes fatores podem interferir no conteúdo de micro-organismos.

É necessários mais estudos sobre a identificação, viabilidade e capacidade probióticas desses micro-organismos durante um tempo maior de estocagem bem como o uso de substâncias crioprotetoras para ajudar na viabilidade desses micro-organismos durante o tempo de armazenamento. Por fim, os resultados obtidos ampliam as possibilidades do uso de kefir no desenvolvimento de produtos, uma vez que os sorvetes desenvolvidos apresentaram boa aceitação quanto aos atributos analisados.

Referências

- 1 Souza BG, Costa MDR. Viability of *Lactobacillus casei* in homemade ice-cream. *Rev Inst Laticínios*. 2009;64(2006):35–8.
- 2 Oliveira MN, Sivieri K, Alegro JHA, Saad SMI. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. *Rev Bras Ciências Farm*. 2002;38(1):1-21.
- 3 Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. Brasília, DF; 2008.
- 4 Leite AMO, Leite D, Del Aguila E, Alvares T, Peixoto R, Miguel M, Silva JT, Paschoalin VM. Microbiological and chemical characteristics of Brazilian kefir during fermentation and storage processes. *J Dairy Sci*. 2013;96(7):4149-59.
- 5 Bosch A, Golowczyc MA, Abraham AG, Garrote GL, De Antoni GL, Yantorno O. Rapid discrimination of lactobacilli isolated from kefir grains by FT-IR spectroscopy. *Int. J. Food Microbiol*. 2006 Oct;111(3):280-87.
- 6 Hertzler SR, Clancy SM. Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. *J Am Diet Assoc*. 2003 May;103(5):582–87.
- 7 Rodrigues KL, Caputo LRG, Carvalho JCT, Evangelista J, Schneedorf JM. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. *Int J Antimicrob Agents*. 2005 May;25(5):404-08.
- 8 Lee M, Ahn K, Kwon OK, Kim MJ, Kim MK, Lee IY, Oh SR, Lee HK. Anti-inflammatory and anti-allergic effects of kefir in a mouse asthma model. *Immunobiology*. 2007; 212(8):647–54.
- 9 Uchida M, Ishii I, Inoue C, Akisato Y, Watanabe K, Hosoyama S, Toida T, Ariyoshi N, Kitada M. Kefiran reduces atherosclerosis in rabbits fed a high cholesterol diet. *J Atheroscler Thromb*. 2010 Sep;17(9): 980-88.
- 10 Gao, J, Gu, F, Ruan, H, Chen, Q, He, J, He, G. Induction of apoptosis of gastric cancer cells SGC7901 in vitro by a cell-free fraction of Tibetan kefir. *Int Dairy J*. 2013; 30: 14–18.
- 11 Brasil. Padrões de identidade e qualidade de leites fermentados. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. 2007. p. 1–15
- 12 Cruz AG, Antunes AEC, Sousa ALOP, Faria JAF, Saad SMI. Ice-cream as a probiotic food carrier. *Food Res Int*. 2009;42(9):1233–9.

- 13 Brasil. Ministério da Saúde. Portaria n. 379, de 26 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico referente a gelados comestíveis, preparados, pós para o preparo e bases para gelados comestíveis. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 1999 abr 29.
- 14 Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). Resolução-RDC nº 266, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para gelados comestíveis e preparados para gelados comestíveis. [Diário Oficial República Federativa do Brasil]. 2005;1-5.
- 15 Otlés S, Cagindi O. Kefir: a probiotic dairy-composition. Pak J Nutr. 2003; 2(2):54-9.
- 16 Leandro ES, Conceição LL, Carvalho AF, Costa MD, Moraes CA. Isolamento de mutantes de *Lactobacillus delbrueckii* UVF H2B20 com tolerância acentuada ao congelamento e efeito de substâncias crioprotetoras na sua viabilidade durante estocagem. B.CEPPA. 2014; 32(1):11-18.
- 17 Association Official Agricultural Chemists. Official methods of the association of the agricultural chemists. 17th ed. Washington: [s.n.]; 2000.
- 18 Conselho Nacional de Saúde (BR). Resolução nº 466, de 12 de Dezembro de 2012. Aprovar diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. 2013 jun 13; Seção 1. p. 59.
- 19 Irigoyen A, Arana I, Castiella M, Torre P, Ibáñez FC. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. Food Chem. 2005;90(4):613–20.
- 20 Caetano DR, Montanhini MTM. Microbiological analysis of milk unfermented kefir produced with milk contaminated by *Escherichia coli*. Rev Bras Pesqui em Aliment. 2014;5(1):33.
- 21 Pereira GG, Rafael LM, Gajo AA, Ramos TM, Pinto SM, Resende JV, Abreu LR. Influência do pH nas características físico-químicas e sensoriais de frozen yogurt de morango. Semin Agrar. 2012;33(2):675-86.
- 22 Souza JCB, Guergoletto, KB, Garcia S, Sivieri K. Viabilidade da adição de *Lactobacillus casei* (LC-1) protegido com trealose e goma acácia em sorvetes. Alim Nutr. 2011; 22(2):231-37.
- 23 Magalhães KT, de Melo Pereira GV, Campos CR, Dragone G, Schwan RF. Brazilian kefir: Structure, microbial communities and chemical composition. Brazilian J Microbiol. 2011;42(2):693–702.
- 24 Gomes AMP, Malcata FX. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tecnológicas. Boletim de Biotecnologia de Alimentos. 1999; 64:12-22.
- 25 Cabral NSM. Kefir sabor chocolate: caracterização microbiológica e físico-química. [Trabalho de Conclusão de Curso]. Niterói (RJ): Universidade Federal Fluminense; 2014.
- 26 Gontijo LN. Avaliação do consumo crônico de leite e kefir sobre os níveis pressóricos, parâmetros bioquímicos e renais de ratos SHR (Spontaneously Hypertensive Rats) induzidos à síndrome metabólica. [Dissertação]. Viçosa (MG): Universidade Federal de Viçosa; 2014.
- 27 Karthikeyan N, Elango A, Kumaresan G, Gopalakrishnamurthy TR, Raghunath B V. Enhancement of Probiotic Viability in Ice Cream by Microencapsulation. Int J Sci Environ Technol. 2014;3(1):339–47.

Recebido em: 8 out. 2018

Aceito em: 29 maio 2019

