

ANÁLISE DE CRESCIMENTO DO KEFIR EM POLPA DE AÇAÍ

Michelly Vieira da SILVA¹; Ellen Caroline Dos Santos NASCIMENTO¹; Elcilene Cristina do Nascimento FERREIRA¹; Vanessa Costa Alves GALÚCIO^{1*}

1. Faculdade Cosmopolita, Belém, Pará, Brasil

*Autor Correspondente: vgalucio@gmail.com

RESUMO: A melhoria na qualidade de vida tem sido uma das necessidades da sociedade nos últimos anos, refletindo principalmente na alimentação, com a inserção de alimentos funcionais, ressaltando-se os probióticos. A cultura de Kefir é um exemplo de probiótico natural, composto pela simbiose de microrganismos que pode ser consumida com adição de frutas como o açaí. O objetivo deste trabalho foi avaliar as características microbiológicas da polpa de açaí utilizada no cultivo do Kefir, bem como análise de pH, Sólidos Solúveis Totais (SST) e crescimento microbiano no fermentado obtido em culturas de 24, 48, 72 e 96 horas. Foram analisadas 5 diferentes concentrações de polpa de açaí, 0% (controle), 25%, 50%, 75% e 100%. Os resultados da análise microbiológica mostraram que a polpa de açaí estava apta para ser utilizada, os valores de pH e °Brix se mantiveram constantes durante o período avaliado, semelhante ao encontrado na literatura. A contagem de microrganismos em câmara de Neubauer permitiu a visualização de maior número de bactérias quando comparada com as Leveduras e fungos filamentosos. Em 24 horas, o maior crescimento microbiano foi observado na amostra 3 contendo 50% de polpa de açaí; em 96 horas todas as amostras tiveram grande crescimento, com destaque para a que continha 25% de polpa de açaí. Dessa forma a adição de polpa de açaí favoreceu o crescimento da colônia de Kefir, sendo um potencial, a partir de mais pesquisas, para a fabricação industrial de um novo produto de valor agregado, saudável, natural e regional.

PALAVRAS-CHAVE: Açaí. Bebida fermentada. Crescimento microbiano. Probiótico. Kefir.

INTRODUÇÃO

A melhoria na qualidade de vida tem sido uma das necessidades da sociedade nos últimos anos, refletindo principalmente na alimentação, onde se observa uma busca maior por alimentos funcionais que contém componentes ativos capazes de reduzir o risco de doenças, incluindo o câncer, associando o estado nutricional a manutenção da saúde (CLYDESDALE, 2005). O termo “funcional” significa que o alimento tem alguma particularidade que irá contribuir de maneira positiva, em benefício da saúde, fortalecendo o sistema imunológico e a defesa quanto aos agentes patológicos (CRUZ et al., 2007). Em função disso, as indústrias têm cada vez mais investido em desenvolver de forma inovadora e sustentável novos produtos funcionais para serem apresentados ao consumidor (FARVIN et al., 2010).

Entre os alimentos funcionais, ressaltam-se os probióticos. Estes têm efeitos positivos sobre a composição da microbiota intestinal e saúde geral. Como afirma Dolinsky (2009), são microrganismos vivos, produtores de metabólitos secundários que em

quantidades adequadas, conferem benefícios a saúde, além de reduzir a microbiota patogênica ou oportunista.

A origem da fermentação é antiga, modula-se como um dos métodos de conservação de alimentos, que além de proporcionar uma maior durabilidade, também auxilia no aumento do seu valor nutricional (MILLS et al., 2011; MARSH et al., 2014). Devido a variações climáticas e condições ambientais de diferentes partes do mundo, estirpes específicas de microrganismos tornaram-se dominantes nesses produtos gerando como consequência, tipos específicos de fermentações que evoluíram e tornaram-se características de cada região (TAMIME, 2006; PRAJAPATI; NAIR, 2008).

Dentre os microrganismos utilizados na produção de bebidas fermentadas probióticas, está a cultura de Kefir, probiótico natural, composto pela simbiose de microrganismos (bactérias ácido-láticas, ácido-acética e leveduras), envoltas por uma matriz de polissacarídeo, chamada kefirano presente nos grãos (DINIZ et al., 2003; GRONNEVIK et al., 2011). Kefir é o nome dado ao fermentado produzido a partir de grãos

próprios, contendo uma grande variedade de microrganismos. Também nomeado como quefir, tibicos, cogumelos tibetanos, plantas de iogurte, cogumelos do iogurte, kephir, kiaphur, kefer, knapon, kepi e kippi, de acordo com a região onde é cultivado (KEMP, 1984).

O produto fermentado do Kefir é ácido, levemente alcoólico, produzido artesanalmente a partir de grãos e contém uma população relativamente estável de microrganismos (ABRAHAM; ANTONI, 1999). Diante disso, o processo fermentativo gera uma série de compostos que conferem sabor e aroma característicos ao Kefir, além de substâncias bioativas, responsáveis por propriedades nutracêuticas (AHMED et al., 2013). Em uma análise comparativa ao iogurte, o Kefir além de possuir uma escala maior e mais diversificada de microrganismos viáveis em sua cultura inicial, também apresenta um nível de atividade da β -galactosidase 60% mais elevado, contribuindo para um aumento significativo da digestão da lactose do leite (HERTZLER; CLANCY, 2003). Diversos benefícios dessa bebida natural têm sido descritos pela literatura, desde a nutrição humana normal e a dietoterapia, até mesmo o seu emprego com resultados significativos na oncologia comparada (DINIZ et al., 2003).

No Brasil, de acordo com a Instrução Normativa nº 46 de 2007 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA – BRASIL, 2007), Kefir é o produto da fermentação do leite pasteurizado ou esterilizado obtido com cultivos ácido-lácticos elaborados com grãos de Kefir, *Lactobacillus kefiri*, espécies dos gêneros *Leuconostoc*, e a principal forma de consumo consiste na doação dos grãos de Kefir entre conhecidos e através de grupos em redes sociais, onde acontecem também troca de informações sobre o cultivo e receitas. As características do Kefir têm sido bem descritas na literatura, mas suas variações durante o tempo e as condições de estocagem têm sido pouco estudadas (GARROTE et. al., 2001).

Dessa forma, o estudo das características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais ocasionadas

durante o período de estocagem dos alimentos possibilita estimar a sua vida útil, sendo um fato de fundamental importância para o desenvolvimento de novos produtos, para as indústrias de alimentos, órgãos governamentais e a segurança dos consumidores (SANGALETTI, 2007).

No Pará, um dos alimentos mais consumidos pela população, é o Açaí (*Euterpe oleracea*), planta Brasileira nativa da Amazônia, com crescente comercialização e consumo. Várias pesquisas apontam o açaí como um alimento nutricional, funcional e antioxidante, além de atuar na flora intestinal pôr ser rico em fibras, auxiliando diretamente no funcionamento do intestino (PINTO, 2014). O fruto também possui uma boa fonte de carboidratos, proteínas, minerais e vitaminas (PORTINHO, ZIMMERMANN; BRUCK, 2012).

Considerando tais aspectos, buscou-se adicionar à cultura de Kefir de Leite em diferentes concentrações na polpa de Açaí, fruto regional e cultural do Pará que contém alto valor nutricional como uma alternativa para agregar valor nutricional à bebida devido às suas propriedades funcionais, naturais e com efeitos benéficos a saúde. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar as características microbiológicas dos substratos, bem como análise de pH, Sólidos Solúveis Totais (SST) e da viabilidade e crescimento microbiano do fermentado obtido em culturas de 24, 48, 72 e 96 horas.

MATERIAL E MÉTODO

A metodologia foi dividida nas seguintes etapas: (1) Obtenção, pesagem e ativação dos grãos de Kefir; (2) Aquisição e Análise microbiológica da polpa de açaí; (3) Preparo das culturas de Kefir de Leite com adição de diferentes concentrações de polpa de Açaí; (4) Determinação do pH; (5) Análise de Sólidos Solúveis Totais; e (6) Análise de crescimento microbiano.

As concentrações de polpa de Açaí utilizada foram 0%, 25%, 50%, 75% e 100%, e o período de análise foi de 24, 48, 72 e 96 horas.

A pesquisa foi realizada no laboratório de Microbiologia Clínica de Controle de Qualidade da Faculdade Cosmopolita. Os resultados foram avaliados de acordo com a legislação vigente para leite e polpa de açaí (BRASIL, 2012). Os resultados da contagem de microrganismos, foram avaliados estatisticamente através de análise de variância (ANOVA) de duas vias (número de microrganismos vs. tempo) seguido de teste Bonferroni.

OBTENÇÃO, PESAGEM E ATIVAÇÃO DOS GRÃOS DE KEFIR

Para a realização do trabalho foram utilizadas populações de grãos de Kefir de Leite artesanal providas de manipulações familiares; as colônias foram ativadas utilizando-se 2 gramas de grãos em 200 mL de leite.

AQUISIÇÃO E ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DOS SUBSTRATOS

Os substratos são os componentes utilizados para o crescimento da cultura, ou seja, leite UHT integral embalagem de 1L e polpa de açaí em embalagem selada de 1L, adquiridos em estabelecimentos comerciais. Para a avaliação da qualidade, utilizou-se alíquotas de 25 mL de cada substrato para Análise Microbiológica através da Técnica de

Tubos Múltiplos, com diluições seriadas de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} (SILVA et al., 2017). Os resultados obtidos foram avaliados de acordo com o estabelecido pela Legislação vigente.

Os testes foram realizados em triplicata com incubação a 35°C por 24-48 horas, e resultados expressos em Número Mais Provável (NMP/g). A confirmação para Coliformes Totais foi realizada em caldo Lactose Bile Verde Brilhante (VB) a 35°C por 24-48 horas e Coliformes Fecais em caldo *Escherichia coli* (EC) a 45,5°C por 24 horas, e em meios sólidos Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) e Ágar *Salmonella*, sendo incubadas a 45°C por 24-48 horas.

A contagem de Bolores e Leveduras realizada em placas de meio Agar Batata Dextrose (BDA) à 25°C por 5 dias, sendo os resultados expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC g-1).

PREPARO DAS CULTURAS DE KEFIR DE LEITE COM ADIÇÃO DE POLPA DE AÇAÍ

Os grãos de Kefir de leite foram reativados utilizando substrato e condições de acordo com o protocolo de experimento. Após 24 horas os grãos foram pesados e as amostras preparadas em triplicata, utilizando 2 gramas de grãos por amostras adicionadas ao leite e diferentes concentrações de açaí (Tabela 1).

Tabela 1. Descrição das amostras de Kefir de leite em diferentes concentrações de Açaí.

AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO DE AÇAÍ	DESCRIÇÃO
1	0%	200 mL de Leite + 2 gramas de Kefir (Controle)
2	25%	150 mL de Leite + 50 mL de Açaí + 2 gramas de Kefir
3	50%	100 mL de Leite + 100 mL de Açaí + 2 gramas de Kefir
4	75%	50 mL de Leite + 150 mL de Açaí + 2 gramas de Kefir
5	100%	200 mL de Açaí + 2 gramas de Kefir

Fonte: Próprio autor.

A incubação foi realizada em Erlenmeyer de 250 mL esterilizados e identificados, a 25°C $\pm$ 2°C em meio aeróbio, na ausência de luz no período de 24, 48 e 72 horas, com adaptações da literatura

(SIMOVA et al., 2002; WESCHENFELDER et al., 2011), seguindo as boas práticas e ambiente asséptico.

A cada 24 horas as culturas foram coadas e pesadas, sendo retiradas do líquido

fermentado obtido alíquotas para a avaliação de pH, SST e crescimento microbiano através da contagem em câmara de Neubauer.

DETERMINAÇÃO DO pH DAS AMOSTRAS

Foram retirados 10 ml do líquido fermentado de cada amostra para a determinação do pH em potenciômetro de bancada (KASVI – K390014P), de acordo com a Instrução Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006).

ANÁLISE DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS

Índices mensurados com o uso de refratômetro portátil (Instrutherm RTB-300), utilizando 0,1 ml de líquido fermentado de cada amostra. Os resultados de Sólidos Solúveis Totais (SST) foram expressos em °BRIX e avaliados de acordo com a legislação vigente (BRASIL, 2006).

ANÁLISE DE CRESCIMENTO MICROBIANO

Foram realizadas diluições de 1:4 a partir de cada uma das amostras com a adição do corante lugol e observação em microscópio óptico com uso de Câmara de Neubauer. Para avaliar o crescimento foi observada a motilidade e a contagem de microrganismos em 5 campos com resultados expressos em partículas por μL a partir da fórmula padrão.

Partículas por μL = Partículas contadas / Super. Cont. (mm^2) x profundidade câmara (mm) x diluição

RESULTADOS

A análise microbiológica leite UHT e polpa de açaí foi realizada para avaliar a presença de coliformes totais e termotolerantes presentes antes da cultura utilizando grãos de Kefir, estando os resultados descritos na tabela 2.

Tabela 2. Análise Microbiológica com pesquisa de Coliformes Totais e Fecais, Bolores e Leveduras em substratos utilizados para a cultura de Kefir.

ANÁLISE	SUBSTRATO	
	LEITE UHT	POLPA DE AÇAÍ
Coliformes Totais (NMP/g)	< 0,3	3,6
<i>Padrão</i>	*	*
Coliformes Fecais (NMP/g)	Ausente	Ausente
<i>Padrão</i>	4**	10 ^{2**}
<i>Salmonella</i> sp.	Ausente	Ausente
<i>Padrão</i>	Ausente	Ausente
Bolores (UFC/mL)	Ausente	Ausente
Leveduras (UFC/mL)	Ausente	Ausente
<i>Padrão</i>	4***	5***

Fonte: Próprio autor.

*Não existe padrão na legislação Brasileira para Coliformes Totais.

** Padrão microbiológico requerido pela RDC nº 12 de 02/01/2001 da Anvisa.

***Instrução Normativa nº 01 de 07/01/2000 do MAPA.

Para auxiliar a avaliação da adição de polpa de Açaí à cultura de Kefir de leite, foram avaliados os padrões físico-químicos pH e teor de Sólidos Solúveis Totais

expresso em °BRIX, durante o período de incubação em todas as amostras (Tabela 3).

Tabela 3. Avaliação de pH e teor de Sólidos Solúveis Totais (SST) em amostras de Kefir de leite em diferentes concentrações de polpa de açaí (0%, 25%, 50%, 75% e 100%) no período de 24 a 96 horas.

AMOSTRA	24 HORAS		48 HORAS		72 HORAS		96 HORAS	
	pH	°Brix	pH	°Brix	pH	°Brix	pH	°Brix
1	6,0	1,5	4,0	1,3	4,0	1,2	4,0	1,0
2	5,0	0,8	4,0	1,3	4,0	1,2	4,0	1,0
3	5,0	0,8	4,0	1,1	4,0	1,0	4,0	1,0
4	5,0	0,8	4,0	1,1	4,0	1,0	4,0	1,0
5	5,0	1,0	4,0	2,0	4,0	1,0	4,0	1,0

Fonte: Próprio autor.

Nota: pH – Potencial Hidrogeniônico; °Brix – Unidade de leitura de teor de Sólidos Solúveis Totais.

Após a incubação, as amostras foram avaliadas em período de 24 a 96 horas para verificação em câmara de Neubauer de motilidade e contagem de microrganismos presentes com resultados expressos em μL (Tabela 4).

Tabela 4. Contagem de microrganismos em amostras de Kefir de leite em diferentes concentrações de polpa de açaí (0%, 25%, 50%, 75% e 100%) período de 24 a 96 horas.

Amostra	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
1	$1,1 \times 10^2 \mu\text{L Aa}$	$1,3 \times 10^2 \mu\text{L Aa}$	$1,4 \times 10^2 \mu\text{L Aa}$	$3,7 \times 10^2 \mu\text{L Db}$
2	$1,7 \times 10^2 \mu\text{L Aa}$	$1,4 \times 10^2 \mu\text{L Aa}$	$1,4 \times 10^2 \mu\text{L Aa}$	$8,7 \times 10^2 \mu\text{L Ab}$
3	$2,4 \times 10^2 \mu\text{L Ab}$	$1,1 \times 10^2 \mu\text{L Ab}$	$2,0 \times 10^2 \mu\text{L Aa}$	$5,8 \times 10^2 \mu\text{L Bc}$
4	$1,5 \times 10^2 \mu\text{L Aa}$	$1,3 \times 10^2 \mu\text{L Aa}$	$1,6 \times 10^2 \mu\text{L Aa}$	$1,7 \times 10^2 \mu\text{L Ea}$
5	$1,4 \times 10^2 \mu\text{L Aa}$	$5,1 \times 10^2 \mu\text{L Bb}$	$4,1 \times 10^2 \mu\text{L Bb}$	$4,7 \times 10^2 \mu\text{L Cb}$

Fonte: Próprio autor.

Nota: Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente, de acordo com teste de Bonferroni (5%), leitura em colunas com letras maiúsculas e em linha com letras minúsculas.

DISCUSSÃO

As análises microbiológicas realizadas a partir de alíquotas dos substratos Leite UHT e polpa de Açaí auxiliaram na avaliação quanto a presença de bactérias do grupo coliformes, assim como de fungos como Bolores e, principalmente Leveduras, tendo em vista que outros estudos demonstram que os microrganismos deste grupo como *Escherichia coli* podem diminuir ou mesmo inibir o crescimento dos grãos de Kefir (SCHNEEDORF; ANFITEATRO, 2004; RIBEIRO, 2015). Os resultados obtidos demonstraram a ausência de crescimento significativo de microrganismos em Leite UHT e crescimento reduzido de coliformes totais em polpa de Açaí com ausência de crescimento dos demais

microrganismos pesquisados, de acordo com a legislação vigente, indicando assim a viabilidade para a realização da cultura de Kefir.

Os valores de pH demonstraram acidez e foram semelhantes em todas as amostras, diminuindo após as primeiras 24 horas e se mantiveram estáveis durante o restante do período, o que pode ser explicado pelo alto teor de proteínas nas formulações que possivelmente atuaram como tampão, essa característica foi descrita por outros autores (TEMIZ; KEZER, 2015; FIORDA et al., 2016; KAZAKOS et al., 2016). O pH é um fator que influencia a qualidade final de um fermentado, pois atua sobre a sua estabilidade e é um item avaliado pela legislação vigente (BRASIL, 2007).

Os resultados de teores de Sólidos

Solúveis Totais (°Brix) foram baixos e permaneceram constantes durante o período avaliado, sendo um fator importante a ser observado por variar de acordo com o processo de fermentação de cada substrato de cultivo, quantidade de levedura e temperatura de incubação (BRANDÃO, 2013). A observação das amostras em câmara de Neubauer permitiu verificar a presença de numerosos microrganismos, resultados semelhantes foram encontrados por Fernandes et al. (2017).

Todas as amostras tiveram maior crescimento em 96 horas, com destaque para a amostra 5 (100% polpa de açaí) e em 24 horas a amostra 3 (50% de polpa de açaí) apresentou maior valor na contagem. Diversos estudos (WENDLING; WESCHENFELDER, 2013; RIBEIRO, 2015; NOGUEIRA et al., 2016; ALVES et al., 2019) indicam que a produção artesanal de Kefir pode apresentar variações quanto aos resultados, sendo influenciados por diversos fatores como temperatura, umidade, manuseio dos grãos e da cultura, tempo da colônia, substrato utilizado, entre outros.

A adição de polpa de açaí se mostrou promissora, pois favoreceu o crescimento dos microrganismos, além de ser rico em fibras, ajudando no trânsito intestinal e na promoção da saúde, uma vez que as fibras solúveis podem ajudar a reduzir o colesterol sanguíneo e as fibras insolúveis podem ajudar a reduzir o risco de desenvolvimento de certos tipos de câncer (OLIVEIRA, COSTA; ROCHA, 2015), além de ser um alimento muito apreciado pela população não só na região norte como em todo o Brasil.

A textura e consistência da bebida fermentada obtida apresentou aspecto semelhante em todas as amostras e compatíveis com o tempo de fermentação avaliado, de 24 a 96 horas; autores relacionam estes fatores a quantidade compatível de microrganismo na cultura (NICOLI; VIEIRA, 2003; NOGUEIRA et al., 2016; FERNANDES et al., 2017). A

recomendação, atualmente, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é baseada na porção diária de microrganismos viáveis que devem ser ingeridos, sendo o mínimo de 10^7 /dia (BRASIL, 2007). Pois para exercer suas propriedades funcionais, os probióticos necessitam chegar aos sítios ativos em uma forma viável e ativa e em nível suficientemente elevado (VASILJEVIC & SHAH, 2008).

A bebida fermentada produzida neste trabalho, além das características já citadas apresentou cor, aspecto e odor que representam um potencial para mais pesquisas e até mesmo para a produção industrial, colocando no mercado um produto natural, saudável, de alto valor nutricional e valor agregado com a adição de polpa de açaí.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cultura de Kefir de leite com diferentes concentrações de polpa de açaí se mostrou viável quanto a manutenção, motilidade e crescimento das colônias nos diferentes períodos avaliados, porém devido a conservação recomenda-se o consumo em 24 horas devido as condições de incubação em temperatura ambiente de forma artesanal.

Os maiores crescimentos de microrganismos foram observados na amostra com 100% de açaí em 48 horas e amostra com 50% e 25% de açaí em 96 horas.

Os resultados indicam a viabilidade da bebida fermentada quanto ao crescimento dos microrganismos para produção artesanal e mesmo industrial em leite e em polpas de açaí concentrado e em diferentes concentrações.

Os teores de °Brix e pH estavam de acordo com o descrito em outros estudos e a análise microbiológica demonstrou a qualidade do substrato utilizado quanto a presença de microrganismos.

O presente estudo se revelou como

um potencial de desenvolvimento de um novo produto, com necessidade de continuidade das pesquisas.

AGRADECIMENTOS

A Faculdade Cosmopolita que fomentou parte da pesquisa e corpo docente.

CONTRIBUIÇÃO INDIVIDUAL DO AUTORES

Michelly Vieira da Silva: Atuou em todas as etapas experimentais e foi responsável pelo cultivo e manutenção da colônia de Kefir.

Ellen Caroline Dos Santos Nascimento: Realizou a aquisição da polpa de açaí e avaliou a sua qualidade microbiológica.

Elcilene Cristina Do Nascimento Ferreira: Auxiliou nas etapas experimentais do experimento, principalmente na visualização e contagem de microrganismos.

Vanessa Costa Alves Galúcio: Orientou no delineamento da pesquisa, metodologia e na escrita do artigo científico.

ANALYSIS OF KEFIR GROWTH IN AÇAÍ PULP

ABSTRACT: Improvement in the quality of life has been one of the needs of society in recent years, reflecting mainly on food, with the insertion of functional foods, with emphasis on probiotics. Kefir culture is an example of a natural probiotic, composed by the symbiosis of microorganisms that can be consumed with the addition of fruits such as açaí. The objective of this work was to evaluate the microbiological characteristics of the açaí pulp used in the cultivation of kefir, as well as pH analysis, Total Soluble Solids (TSS) and microbial growth in the fermented obtained in cultures of 24, 48, 72 and 96 hours. Five different concentrations of acai pulp were analyzed, 0% (control), 25%, 50%, 75% and 100%. The results of the microbiological analysis showed that the açaí pulp was able to be used, the pH and °Brix values remained constant during the evaluated period, similar to that found in the literature. The counting of microorganisms in a Neubauer chamber allowed the visualization of a greater number of bacteria when compared to yeasts and filamentous fungi. In 24 hours, the greatest microbial growth was observed in sample 3 containing 50% of açaí pulp; in 96 hours, all samples had great growth, with emphasis on the one that contained 25% of açaí pulp. Thus, the addition of açaí pulp favored the growth of the Kefir colony, being a potential, from further research, for the industrial manufacture of a new product of added value, healthy, natural and regional.

KEYWORDS: Açaí. Fermented drink. Microbial growth. Probiotic. Kefir.

REFERÊNCIAS

ABRAHAM, A.G.; ANTONI, G.L. Characterization of kefir grains grown in cows' milk and in soya milk. **Journal of Dairy Research**, 66: 327-333.1999.

AHMED et al. *In Vitro* Analysis of Antioxidant Activities of *Oxalis Corniculata* Linn. Fractions in Various Solvents. **Afr J Tradit Complement Altern Med**. 10 (1):158-165. 2013.

ALVES, J.M; LUCINDO, H.R.O; JORDÃO, C.O; REZENDE, C. Caracterização físico-química e atividade antimicrobiana de kefir coletado em diferentes domicílios frente à cepas de *Escherichia coli* NEWP 0022. **Revista Brasileira Multidisciplinar ReBraM, Araraquara**, São Paulo. v.22, n.2, 2019.

BRANDÃO, C. C. **Desenvolvimento de fermentado alcoólico de yacon**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013. 75 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 24 de out. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Probióticos**. Resolução RDC nº 2 de 7 de janeiro de 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 68, 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, 14 de dezembro de 2006, Seção I, p. 8.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS) – Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 13 jun 2013. Seção 1, p. 59.

CLYDESDALE, F. Functional foods: opportunities and challenges. Washington: **Institute of Food Technologists Expert Report**, 2005.

CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F.; VAN DENDER, A. G. F. **Packaging system and probiotic Dairy foods**. **Food Research International**, v. 40, n. 8, p. 951-956, 2007.

DINIZ, R.O.; PERAZZO F.F.; CARVALHO, J.C.T.; SCHNEENEDORF, J.M. Atividade anti-inflamatória de quefir, um probiótico da medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, n. 1, p. 19-21, 2003.

DOLINSKY, M. **Nutrição Funcional**. São Paulo: Roca, 2009.

FARVIN, K. H. S., BARON, C. P., NIELSEN, N. S., JACOBSEN, C. Antioxidant activity of yoghurt peptides: Part 1-in vitro assays and evaluation in ω -3 enriched milk. **Food Chem.**, v. 123, p. 1081–1089, 2010.

FERNANDES, M. da S. et al. Evaluation of the isoflavone and total phenolic contents of Kefir fermented soymilk storage and after the in vitro digestive system simulation. **Food Chemistry**, v. 229, p. 373–380, 2017.

GARROTE GL, ABRAHAM AG, De ANTONI GL. Chemical and microbiological characterization of kefir grains. **Journal of Dairy Research**. 2001;68(4):639-652.

GRONNEVIK, H., FALSTAD, M., NARVHUS, J. A. Microbiological and chemical properties of Norwegian kefir during storage. **Int. Dairy J.**, v. 21, p. 601-606, 2011.

HERTZLER, S.R.; CLANCY, S.M. Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults

with lactose maldigestion. *J. Am. Diet. Assoc.*, v.153, n. 5 p.582-587, 2003.

KAZAKOS, S. et al. Production of low-alcohol fruit beverages through fermentation of pomegranate and orange juices with Kefir grains. **Current Research in Nutrition and Food Science**, v. 4, n. 1, p. 19-26, 2016.

KEMP, N. Kefir, the champagne of cultured dairy products. **Cultured Dairy Products Journal**, v. 19, n. 3, p. 29-30, 1984.

MARSH, A. J. et al. Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives. **Trends in Food Science & Technology**, v. 38, p. 113-124, 2014.

MILLS, S.; ROSS, R. P.; HILL, C.; FITZGERALD, G. F.; STANTON, C. Milk intelligence: Mining milk for bioactive substances associated with human health. **Int. Dairy J.**, v 21, p. 377- 401, 2011.

NICOLI, J. R.; VIEIRA, L. Q. Probióticos, prebióticos y simbióticos: Moduladores del Sistema digestivo. **Ciencia Hoy**, v. 13, n. 75, p. 39-43, 2003.

NOGUEIRA, L. K. et al. Milk and açai Berry pulp improve sensorial acceptability of Kefir-fermented Milk beverage. **ACTA Amazonica**, v, 46, n. 4, p. 417-424, 2016.

OLIVEIRA A. G.; COSTA M. C. D.; ROCHA S. M. B. M. Benefícios funcionais do açai na prevenção das doenças cardiovasculares. **Journal of Amazon Health Science** v.1, n.1, p. 110, 2015.

PINTO, G.B. **Prospecção Tecnológica das atividades industriais do açai em bases de patentes gratuitas**. IFRJ Instituto Federal do Rio de Janeiro. Campus de Realengo. RJ, 2014.

PORTINHO, J. A.; ZIMMERMANN, L. M.; BRUCK, M. R. Efeitos Benéficos do Açai. **International Journal of Nutrology**, v.5, n.1, p. 15-20, 2012.

PRAJAPATI, J. B.; NAIR, B. M. The History of Fermented Foods. In: FARNWORTH, E. R. (Ed.). **Handbook of fermented functional foods**. 2. Boca Raton: cap. 1, p.1-25. CRC Press, 2008.

RIBEIRO, A. S. **Caracterização de micro-organismos com potencial probiótico isolados a partir de kefir produzidos na região noroeste do estado do Rio Grande do Sul**. 2015. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.

SANGALETTI, N. **Estudo da vida útil do queijo Minas frescal disponível no mercado**. Piracicaba (Dissertação, Mestre em Ciências). 81p. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da USP. 2007.

SILVA, J. E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. 352p. São Paulo: Varela, 2017.

SIMOVA, E., BESHKOVA, D., ANGELOV, A., HRISTOZOVA, T. S., FRENGOVA, G., SPASOV, Z. Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. **Journal Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 28, p. 1-6, 2002.

SCHNEEDORF, J. M.; ANFITEATRO, D.; CARVALHO, J. C. T. Quefir, um probiótico produzido por microrganismos em capsulados e inflamação. In **Fitoterápicos antiinflamatórios: Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas**. São Paulo, p. 443-467.: Tecmedd, 2004.

TAMIME, A. Y. Production of Kefir, Koumiss and Other Related Products. In: TAMIME, A. Y. (Ed.). **Fermented Milk**. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd. cap. 8, p.174-216., 2006.

TEMIZ, H.; KEZER, G. Effects of fat replacers on physicochemical, microbial and sensorial properties of Kefir made using mixture of cow and goat's Milk. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, p. 1421-1430, 2015.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Probiotics – From Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 714-728, 2008.

WENDLING, L. K.; WESCHENFELDER, S. Probióticos e alimentos lácteos fermentados – uma revisão. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora**, v.68, n. 395. p. 49-57. Nov/Dez. 2013.

WESCHENFELDER, S.; Caracterização físico-química e sensorial de kefir tradicional e derivados. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.63, n.2, p.473-480, 2011.