

DESENVOLVIMENTO DE UM PRODUTO PROBIÓTICO A BASE DE KEFIR DESIDRATADO UTILIZANDO GOMA XANTANA COMO MICROENCAPSULANTE

Luiza Vissoli Pedroso (IC) e Isabela Rosier Olimpio Pereira (Orientadora)

Apoio: PIVITI Mackenzie

RESUMO

O Kefir é um leite fermentado originado da fermentação do leite pela microbiota natural presente nos grãos de Kefir, fornecendo a ele atividades probióticas e aumento da sua acidez. Nesse trabalho o Kefir foi fermentado em 10, 12 e 15% (m/m) de leite em pó desnatado e, posteriormente, atomizado. Foram avaliados o efeito da concentração de leite em pó sobre o crescimento em massa dos grãos, a variação de pH durante a fermentação, rendimento do pó, umidade do produto final por técnicas físico-químicas e a sobrevivência dos microrganismos por técnicas microbiológicas, além da adição de goma xantana antes do processo de secagem sobre estas variáveis. Houve maior crescimento dos grãos quando a concentração de sólidos foi de 12% ($p < 0,05$) comparada às demais. Em relação a sobrevivência microbiana, a atomização da bebida láctea resultou em perda total de leveduras independente da porcentagem de sólidos, todavia, foi observado sobrevivência das bactérias ácido lácticas de 9, 7 e 5 log UFC/g ($p < 0,05$), respectivamente para as amostras desidratadas nas concentrações 10, 12 e 15%. A adição de goma xantana apenas acrescentou benefícios à sobrevivência de microrganismos (N/No) e à umidade do produto final quando se utilizou 15% de sólidos, mas ainda inferiores às de 10 e 12% de sólidos. Portanto, o Kefir fermentado a 12%, permitiu maior crescimento em massa dos grãos de Kefir, gerou pó com menor umidade e maior rendimento. No entanto, o pó com melhor sobrevivência de bactérias lácticas foi obtido na concentração de 10% de leite desnatado.

Palavras-chave: Kefir. Spray dryer. Goma xantana.

ABSTRACT

Kefir is a fermented milk originated from milk fermentation by the natural microbiota present in Kefir grains, providing probiotic activities and an increase in its acidity. In this work Kefir was fermented in 10, 12 and 15% (m / m) of skimmed milk powder and then atomized. The effect of milk powder concentration on grain growth, pH variation during fermentation, powder yield, moisture of the final product by physicochemical techniques and the survival of the microorganisms were evaluated by microbiological techniques, besides the addition of xanthan gum before the drying process on these variables. There was higher grain growth when the solids concentration was 12% ($p < 0.05$) compared to the others. About the microbial survival, the atomization of the dairy beverage resulted in total loss of yeast, regardless of the percentage of solids, however, survival of the lactic acid bacteria of 9, 7 e 5 log UFC/g ($p < 0,05$),

respectively for the dehydrated samples at concentrations 10,12 and 15%. The addition of xanthan gum only added benefits to the survival of microorganisms (N/No) and moisture of the final product when 15% solids were used, but lower than 10 and 12% of solids. Therefore, Kefir fermented at 12%, allowed greater bulk growth of Kefir grains, generated powder with lower moisture and higher yield. However, the best surviving powder of lactic acid bacteria was obtained at the concentration of 10% skimmed milk.

Keywords: Kefir. Spray dryer. Xanthan gum.

1. INTRODUÇÃO

Conforme RDC nº 02/2002, probióticos são “microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo” (BRASIL, 2002). O Kefir é um leite fermentado obtido a partir da fermentação do leite pelos grãos de Kefir, este apresenta uma microbiota natural, no qual estão presentes leveduras, bactérias ácido-láticas e ácido-acéticas que estão aderidos a uma malha de polissacarídeos denominada Kefirano (ATALAR E DERVISOGLU, 2015). Estas cepas de microrganismo desenvolvem relações simbióticas entre si, fornecendo ao fermentado propriedades probióticas, sabor ácido e aroma característico. Segundo Golowczyc et al. (2011), esta bebida probiótica fornece diversos benefícios, tais como: estimulação do sistema imune, inibição do crescimento de tumores e de microrganismos patogênicos, regularização do trânsito intestinal, redução de colesterol, etc.

No Brasil, o consumo do Kefir ainda ocorre em nível familiar, porém o interesse pelo produto tem aumentado, representando um desafio tecnológico. Para a produção industrial de células probióticas, estas devem manter-se estáveis e viáveis em níveis satisfatórios durante todo o prazo de validade do produto (SAAD, 2006; ARAÚJO, 2007). A redução da atividade de água é uma estratégia para aumentar prazo de validade de produtos alimentícios (ORDÓÑEZ et al, 2005) e mais recentemente tem sido utilizada para aumentar estabilidade e viabilidade de microrganismos (GOLOWCZYC et al., 2011). A desidratação de Kefir para obtenção de um pó pode ser uma estratégia para aumentar o prazo de validade, reduzir custos de armazenamento, além de aumentar a praticidade na comercialização e utilização do produto.

Atualmente, em território brasileiro, é possível comprar os grãos de Kefir desidratados, no entanto, o consumidor precisa hidratar os grãos e proceder com a fermentação caseira para produzir seu leite fermentado (kefirado), o que não é uma tarefa muito prática diante da rotina da vida nas grandes cidades. Muitos consumidores preferem produtos mais práticos e rápidos, sem abrir mão da “saudabilidade”. Em uma pesquisa realizada pela FIESP/IBOPE (Brasil FoodTrends 2020, 2010) foram avaliadas as 4 principais tendências observadas para o consumo de alimentos no Brasil. “Conveniência e Praticidade” é o quesito mais importante para 34% da população. O quarto quesito mais importante foi “Saudabilidade e Bem-estar”, para 21% da população. As tendências de “saudabilidade e bem-estar” originam-se na busca de um estilo de vida mais saudável. O consumo de Kefir desidratado representa “Saudabilidade e Bem-estar”, além de “Conveniência e Praticidade” ao consumidor que não precisa realizar a fermentação caseira do produto. Deste modo, entende-se que o desenvolvimento de Kefir desidratado gera a possibilidade de 2 produtos: um pó que pode ser

ressuspendido para reconstituição de uma bebida ou que pode ser consumido como suplemento em cápsulas com grandes possibilidades futuras no mercado brasileiro.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Kefir é um leite fermentado originário das montanhas do Cáucaso, na Mongólia e Tibet. O povoado desta região descobriu que o leite fresco quando carregado por determinado tempo em bolsas de couro poderia fermentar, dando origem a uma bebida efervescente (IRIGOYEN et al., 2005). O seu uso tem se difundido pelo mundo, podendo ser encontrado em países como Argentina, Taiwan, Portugal, Turquia, França (FARNWORTH, 2005), Canadá (MAINVILLE et al., 2006). Na Rússia o Kefir é produzido em indústrias lácteas, como a Danone® (ENIKEEV, 2012). Já no Brasil o consumo de Kefir não apresenta significativo uso industrial, tendo maior ocorrência em nível familiar, mas o interesse pelo produto fermentado e seus benefícios aparenta estar crescendo.

Este leite fermentado é resultante da dupla fermentação do leite pelos grãos de Kefir, que são compostos por uma associação simbiótica de bactérias ácido-acéticas, bactérias ácido-láticas e leveduras que se encontram aderidas e encapsuladas por uma matriz polissacarídica, denominada kefiran. O Kefir apresenta ainda em sua composição ácido glicônico, álcool etílico, gás carbônico e vitamina B12. O ácido láctico produzido a partir da fermentação da lactose do leite, realizada por bactérias ácido-láticas, confere sabor ácido ao Kefir, através da redução do pH, além de agir como um conservante natural. Já as leveduras fermentadoras de lactose são responsáveis pela produção de álcool etílico e gás carbônico (MAGALHÃES et al., 2011). O produto apresenta ainda elevada digestibilidade, em razão da natureza da coalhada. Durante a fermentação as proteínas sofrem desnaturação em diferentes graus, resultando em uma coalhada finamente dividida e facilmente transposta pelos sucos gástricos (SOUZA, 1984; HERTZLER, 2003).

Durante o processo de fermentação, os grãos de Kefir adquirem nova biomassa em razão do aumento de seu peso, o diâmetro do mesmo pode variar de 3 a 35 mm (IRIGOYEN, 2005). Estes apresentam 89–90% de umidade, 0,2% de lipídeos, 3,0% de proteínas, 6,0% de carboidratos, 1,0% de ácido láctico, 1% álcool e 0,7% de cinzas (SARKAR, 2007). Os grãos de Kefir possuem aparência similar a couve-flor e coloração branca amarelada (OTLES; CAGINDI, 2003).

Segundo WSZOLEK (2001) e WITTHUHN (2004) a composição microbiana dos grãos de Kefir varia conforme a região geográfica de origem, o substrato utilizado para a multiplicação dos grãos, o tempo de uso e os métodos utilizados para a sua manipulação. São encontrados nos grãos de Kefir leveduras fermentadoras e não fermentadoras de lactose, como *Kluyveromyces marxianus* e *Saccharomyces cerevisiae*, respectivamente, bactérias:

Lactobacillus casei, *Bifidobacterium* sp e *Streptococcus salivarius subsp thermophilus*. Para que o leite fermentado seja considerado Kefir, é necessário que este apresente contagem mínima de bactérias lácticas totais de 10^7 UFC/g e de leveduras 10^4 UFC/g (BRASIL, 2007).

Através da composição microbiológica, o Kefir pode ser classificado como probiótico, ou seja, possui microrganismos capazes de realizar a modificação da composição da microbiota intestinal, tornando predominantes bactérias com potencial benéfico ao hospedeiro e aumentando a resistência contra patógenos (PUUPPONEN-PIMIÃ, 2002). De acordo com a RDC nº 02/2002, probióticos são “microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal, produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo” (BRASIL, 2002).

Estudos apontam uma possível influência da microbiota em doenças cardiovasculares (KOETH et al., 2013), doenças sistêmicas como a artrite (SCHER et al., 2015) e diabetes tipo 1 (SUN et al., 2015). Uma bactéria ácido-láctica inserida em uma matriz alimentícia pode ser considerada probiótica quando: for capaz de suportar as condições do alimento em número elevado de células; manter-se viável durante toda a vida de prateleira do produto; resistir à passagem pelo trato gastrointestinal; aderir às células intestinais; produzir efeitos benéficos ao hospedeiro; equilibrar a microbiota intestinal; gerar produtos antimicrobianos aos patógenos (PARVEZ, 2006).

Na indústria alimentícia, as culturas probióticas utilizadas devem apresentar boas propriedades tecnológicas, como significativa proliferação no leite, promoção de características sensoriais adequadas no produto, estabilidade e viabilidade durante seu armazenamento. Juntamente, estas cepas devem resistir a condições de processamento, tal como a liofilização ou secagem por *Spray dryer*, para que seja possível uma produção em grande escala (STANTON, 2003). Assim estas podem ser manipuladas e incorporadas ao produto, obtendo textura e aroma apropriado (OLIVEIRA, 2002).

Uma das estratégias adotadas para aumentar o prazo de validade dos alimentos é a redução da atividade de água (ORDÓÑEZ et al., 2005). Através da desidratação ocorre redução do peso e densidade do produto, facilitando seu transporte e armazenamento (FELLOWS, 1990), além de melhorar a estabilidade e viabilidade microbiana (GOLOWCZYK, 2011).

A liofilização tem sido a técnica mais utilizada para desidratação de microrganismos (ATALAR E DERVISOGLU, 2015), mas é um processo muito caro, o que eleva o custo ao consumidor (ORDÓÑEZ et al., 2005). Alternativamente, a secagem por *Spray dryer* pode ser utilizada para este fim, porém como é um método que utiliza aquecimento, pode reduzir a viabilidade dos microrganismos. Desse modo, deve-se utilizar de algumas estratégias para aumentar a sobrevivência dos microrganismos.

A técnica de *spray drying* baseia-se na teoria da difusão seletiva, ou seja, redução do coeficiente de difusividade da água (ROSEMBERG, 1990). No interior do equipamento uma fonte fornece ar aquecido e a amostra líquida ou em pasta é atomizada por um bico de “spray”, quando se encontram na câmara de secagem ocorre secagem por contato direto. Independentemente de ser um método térmico é possível utilizá-lo em produtos sensíveis ao calor, como alimentos e produtos biológicos, pois o tempo de permanência destes na câmara de secagem é mínimo (ROSA et al., 2006). As vantagens que este equipamento apresenta, compensa o seu custo elevado, dentre elas incluem-se a obtenção de partículas mais uniformes, a produção contínua em larga escala, a secagem de produtos sob pressão atmosférica, baixo tempo de produção, ampla aplicação de matérias primas, entre outros benefícios que quando somados permite a comercialização de um produto a baixo custo (WENDEL E ÇELIK, 1998; FILKOVÁ, 1995).

A fim de otimizar a viabilidade dos microrganismos sujeitos a secagem por atomização autores como GOLOWCZYC et al. (2011) e CASTRO et al. (2012) têm estudado o possível uso de agentes microencapsulantes como a goma acácia, proteína do soro do leite, leite desnatado, maltodextrina e goma do cajueiro (PETROVIC et al., 2007).

A microencapsulação obtida através da secagem por atomização é um dos métodos de recobrimento mais usados na indústria de produtos alimentícios, em razão de ser um processo relativamente econômico e de fácil adaptação, capaz de produzir cápsulas de boa qualidade (SHAHIDI & HAN, 1993). Esta tecnologia consiste em envolver gases, líquidos ou sólidos em microcápsulas, podendo ter seu conteúdo liberado em determinadas condições (TOOD, 1970). O microencapsulamento é utilizado para proteção, estabilização e controle da liberação de um produto alimentício (SHAHIDI e HAN, et al., 1993).

A etapa inicial para o processo de encapsulamento é a escolha de um polímero adequado para a parede. Para isso, o mesmo deve apresentar boas propriedades emulsificantes, possuir reduzida viscosidade mesmo em soluções com elevada quantidade de sólidos, ser um bom formador de filmes, possuir baixa higroscopicidade, custo reduzido, ser estável, não apresentar sabor desagradável e garantir uma significativa proteção ao material encapsulado (SHAHIDI & HAN, 1993).

A goma xantana tem sido utilizada como agente encapsulante de compostos fenólicos presentes em extratos de amora-preta (ROSA, 2012), enzimas (ELÇIN, 1995; LIU et al., 2011) e de microrganismos (SUN; GRIFFITHS, 2000; JIMÉNEZ-PRANTEDA et al., 2012).

Esta goma é um polissacarídeo extracelular produzido por microrganismos do gênero *Xanthomonas* (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004), a mesma possui elevada estabilidade de viscosidade quando submetida a altas temperaturas e alterações de pH, apresenta ainda boa

solubilidade em água (SWORN, 2000). Quimicamente a goma xantana é considerada um polímero aniônico em razão da presença de grupos carboxílicos em sua estrutura (GARCÍA-OCHOA et al., 2000).

O leite desnatado além de conter os substratos necessários para a fermentação e crescimento de microrganismos (ORDÓÑEZ et al., 2005), também funciona como microencapsulante (PETROVIC et al., 2007). Este trabalho pretende avaliar o uso do leite desnatado sozinho em diversas concentrações ou em combinação com goma xantana para aumentar a viabilidade de microrganismos após desidratação.

O uso do leite desnatado em pó, além de ser barato e prático, facilita a manipulação do teor de sólidos do leite. Um dos fatores que interferem tanto no crescimento de microrganismos (OLIVEIRA e DAMIN, 2003) como na eficiência de secagem (SOUZA et al. 2013) é a concentração de sólidos dissolvidos no meio. Segundo SOUZA et al (2013) a concentração de sólidos inicial presente no líquido de alimentação exerce grande impacto sobre a eficiência da operação da secagem. Uma prática comum nos processos de secagem é o aumento da concentração de sólidos da amostra inicial com a finalidade de otimizar o procedimento, bem como de gerar considerável economia de energia (ORDÓÑEZ et al, 2005).

Em testes preliminares realizados em nosso grupo de pesquisa, avaliou-se concentrações diferentes de sólidos do leite (12, 25 e 50%), a partir de leite em pó desnatado, no preparo do produto fermentado por Kefir e posterior secagem por *Spray dryer*. Os pós obtidos dos diferentes substratos tiveram seu rendimento e umidade avaliados, posteriormente, foram ressuspensos em leite UHT Integral para avaliar a sobrevivência de microrganismos pela capacidade fermentativa. A avaliação realizada com substrato em concentração de 50% teve baixo crescimento dos grãos e atividade fermentativa praticamente nula. O crescimento dos grãos de Kefir em 12% e 25% de sólidos foi similar ($54,3 \pm 10,4\%$ e $48,8 \pm 5,9\%$, respectivamente, $p > 0,05$). O pH final obtido foi menor com 12% que em 25% de sólidos ($4,43 \pm 0,07$ e $4,88 \pm 0,11$, respectivamente, $p < 0,05$). Após a secagem, o rendimento processual médio das amostras com 12% de sólidos inicial foi maior que com 25% ($32,7 \pm 1,5\%$ e $22,2 \pm 2,8\%$, respectivamente, $p < 0,05$) e a umidade foi menor ($6,7 \pm 0,3\%$ e $10 \pm 1,3\%$, respectivamente, $p < 0,05$). A avaliação da sobrevivência de microrganismos nas amostras de Kefir em pó obtidas indicou que a adição de Kefir em pó ao leite favoreceu a fermentação com redução significativa de pH após 24h tanto para as amostras de 12 ou 25% de sólidos em relação ao controle. Além disso, o produto fermentado apresentou características organolépticas próximas ao Kefir fermentado com os grãos, o que indica a presença de microrganismos que permaneceram viáveis, no entanto, sem a formação dos grãos. É necessário que seja realizado a contagem e identificação dos microrganismos que permaneceram viáveis. Estes resultados indicam que a concentração inicial de sólidos em

12% se mostrou a melhor, tendo favorecido o processo fermentativo e uma maior eficiência de secagem por *Spray dryer* com aparente sobrevivência de microrganismos.

O aumento da concentração de sólidos para 25 e 50% não melhorou a eficiência de fermentação e secagem conforme esperado. Espera-se que incrementos menores do teor de sólidos possam ser mais eficientes. A concentração de sólidos do leite desnatado é em torno de 10% (ORDÓÑEZ et al, 2005). No presente projeto, pretende-se testar concentrações de sólidos superiores à do leite desnatado, 12 e 15%, além de comparar o uso de goma xantana como microencapsulante e realizar a análise microbiológica para comprovação da sobrevivência de microrganismos.

Desse modo, o objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de leite fermentado com Kefir em pó, por *Spray dryer*, através de um processo que aumente o rendimento e viabilidade de microrganismos e que permita a utilização do produto como probiótico.

3. METODOLOGIA

3.1. Origem, congelamento e ativação dos grãos de kefir

Os grãos de Kefir utilizados foram obtidos por doação de pessoas que fazem cultivo doméstico na cidade de São Paulo e vêm sendo cultivados no laboratório de Bromatologia da Universidade Presbiteriana Mackenzie desde 2016. Os grãos que foram usados neste trabalho estavam congelados a -20°C em leite desnatado há 2 meses, para a reutilização dos mesmos, foi realizada sua ativação a 2% (m/m) em 1 L de leite desnatado UHT (concentração de sólidos ~10%) por 48h a 30°C±2. Após esses dois dias, os grãos foram coados em uma peneira de malha fina e submetidos a uma nova fermentação do mesmo modo.

3.2. Processos de preparo da amostra para secagem por *Spray dryer*

Os grãos de Kefir ativados foram utilizados para a fermentação do leite desnatado, conforme Tabela 1, para cada concentração de sólidos realizou-se 6 replicatas, totalizando 18 amostras. Os leites foram obtidos a partir da dissolução de leite em pó desnatado (La Serenissima®) em água potável resultando na concentração desejada.

Tabela 1. Teor de sólidos totais (%) para fermentação do leite desnatado.

Leite	Teor de Sólidos Totais % (m/m)			% grãos de kefir (m/m)
	10	12	15	
1 L				2

Fonte: Autoria própria.

O controle da fermentação foi feito pela medida de pH nos tempos 0h e 24h e pelo crescimento em massa dos grãos de Kefir em 24h. Após este período, o fermentado foi coado em uma peneira e os grãos separados e pesados em balança semi analítica. Foi recuperada a massa inicial de grãos para uma nova fermentação e a massa excedente (que cresceu em 24h) foi triturada com auxílio do mixer (Robot Coupe MMP160VV 7 ®) em velocidade máxima por 1 minuto. Das 6 replicatas, para cada concentração de sólidos, apenas 3 foram acrescidas da dispersão de goma xantana em água, após a fermentação. Para dispersão do microencapsulante, foi adicionado 2% (m/m) em relação ao teor de sólidos do leite em 50 mL de água e deixado hidratando por 24 horas.

Em seguida o conteúdo foi coado em peneira de malha fina com o objetivo de retirar qualquer material não homogeneizado, pesou-se 500 g da amostra, com ou sem Goma Xantana, e submeteu a mesma a resfriamento até que se atingisse a temperatura de 5°C. Foi utilizado 0,05 g do restante da amostra para a realização da análise microbiológica e o excedente da mesma foi congelada para análises bromatológicas.

3.3. Secagem por *Spray dryer*

A secagem foi realizada em um mini-spraydryer (LabMaq do Brasil MSD1.0) a um fluxo de 0,5L/h, temperaturas de alimentação, entrada e saída de 9, 135 e 78°C, respectivamente, seguindo parâmetros publicados por Atalar e Dervisoglu (2015).

3.4. Análises Microbiológicas

O controle microbiológico foi realizado imediatamente antes e após o processo de secagem para avaliação da sobrevivência e do crescimento de bactérias lácticas e leveduras, de acordo com Aplevicz et al. (2013). A contagem de bactérias lácticas foi realizada em meio MRS Agar em microaerofilia. No entanto, para contagem de leveduras utilizou-se o meio de cultura Potato Dextrose Agar em meio ácido, através da adição de 1,5 mL ácido tartárico 10% para cada 100 mL de meio, até pH 3,5. Todas as culturas foram incubadas a 30°C por 48h para posterior contagem.

Assepticamente, 0,05 g de cada amostra foi diluída em 450 uL de solução salina peptonada (NaCl 0,8% e peptona 0,1%) esterilizada prosseguindo com diluições seriadas de 10^{-3} a 10^{-6} para a amostra líquida e de 10^{-2} a 10^{-5} para a amostra seca (APLEVICZ; OGLIARI; SANT'ANNA, 2013). O acompanhamento do crescimento foi feito através da contagem do número de células viáveis em logaritmos (log UFC/g).

3.5. Teor de umidade residual e rendimento do pó obtido

O teor de umidade residual da amostra seca foi avaliado utilizando 0,5g de amostra em uma balança de umidade Shimadzu (MOC 120H). O rendimento do pó obtido foi calculado após pesagem do mesmo em balança semi-analítica pela seguinte fórmula:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{MKP} - (\text{MKP} \times \text{TUKP}/100)}{\text{MLP} - (\text{MLP} \times \text{TULP}/100) + *MGX} \times 100$$

MKP: Massa de Kefir em pó obtido após secagem

TUKP: Teor de Umidade do Kefir em pó

MLP: Massa de leite em pó inicial usado para a fermentação

TULP: Teor de umidade do leite em pó inicial usado para a fermentação

*MGX: Massa de Goma Xantana (este componente não se aplicou a esta fórmula quando nas replicatas não houve adição do microencapsulante)

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

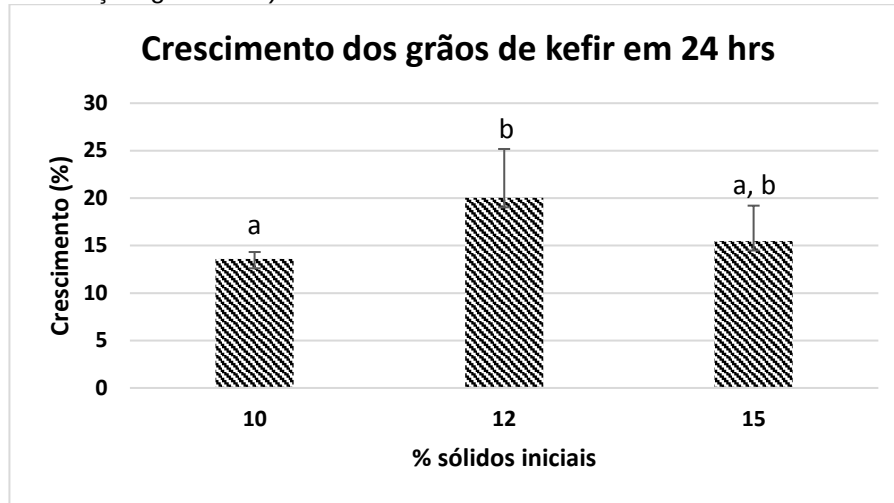
A avaliação dos resultados foi realizada com base nas médias das análises em triplicata (n=3), juntamente com seus respectivos valores de desvio padrão com o emprego de análise estatística por Teste T (utilizando o programa Microsoft Excel®).

4.1. Avaliação do crescimento dos grãos de kefir

O crescimento dos grãos foi avaliado em três concentrações diferentes de leite em pó desnatado (10%, 12% e 15%), sendo que para cada concentração realizou-se 6 replicatas, ao final de 24 horas a taxa de crescimento obtida apresentou-se conforme o Gráfico 1.

O crescimento dos grãos de Kefir em 12% foi significativamente maior que em 10% ($p < 0,05$), porém não diferiu do valor encontrado em 15%.

Gráfico 1. Crescimento dos grãos de Kefir em diferentes concentrações de sólidos (letras diferentes indicam diferença significativa).



Fonte: Autoria própria (2018).

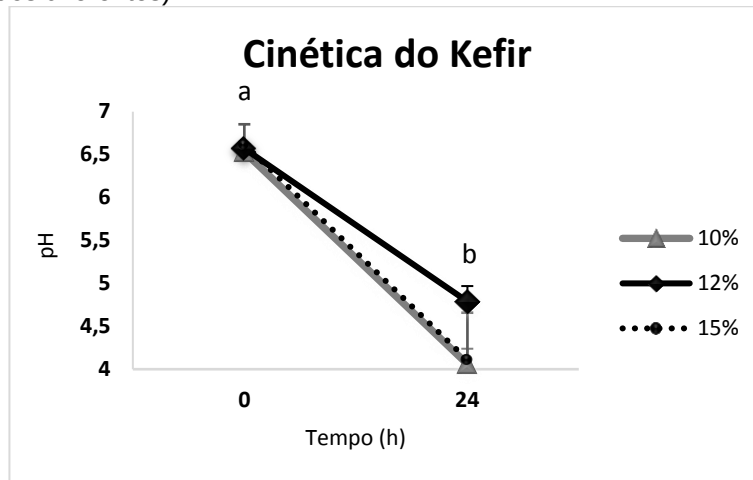
Após avaliação da variável “Crescimento dos grãos de Kefir” em escala industrial, a concentração de 12% é a mais viável, uma vez que apresentou a maior massa de grãos em 24 horas e concomitantemente a menor concentração de sólidos iniciais, o que exprime uma atenuação de custos do processo. Tendo em vista que nos últimos anos a valorização de produtos naturais na indústria é crescente no Brasil, particularmente o Kefir ainda é mais utilizado artesanalmente (MIGUEL, 2009).

4.2. Avaliação do processo fermentativo do leite desnatado nas concentrações de 10, 12 e 15%

A avaliação do processo fermentativo pelos grãos de Kefir do leite desnatado foi realizada através da medição do pH nos tempos 0h e 24h, visto que a redução dessa variável ocorre em razão da maior produção de ácido láctico pelas bactérias ácido lácticas (MAGALHÃES et al., 2011). A cinética da fermentação do leite desnatado em diferentes concentrações de sólidos obtida está demonstrada no Gráfico 2, no qual é possível observar que no tempo 0h os valores de pH são próximos, independente da concentração de sólidos totais, e que ao final de 24 horas os valores de pH reduziram significativamente, ($p < 0,05$).

Deste modo, o crescimento fermentativo em diferentes concentrações de sólidos é estatisticamente irrelevante.

Gráfico 2. Cinética da fermentação do leite pelos grãos de Kefir em 24h (letras diferentes indicam resultados diferentes).



Fonte: Autoria própria (2018).

Em razão do aumento da demanda de nutrientes na concentração de 15%, essa variável poderia ser sugestiva de um maior crescimento de microrganismos, uma vez que os grãos de kefir são constituídos por bactérias lácticas e leveduras que requerem nutrientes para o seu crescimento como carboidratos e minerais, respectivamente, encontrados no leite bovino (BAPTISTA, 2010). Todavia esse dado necessitaria de confirmação por análises microbiológicas.

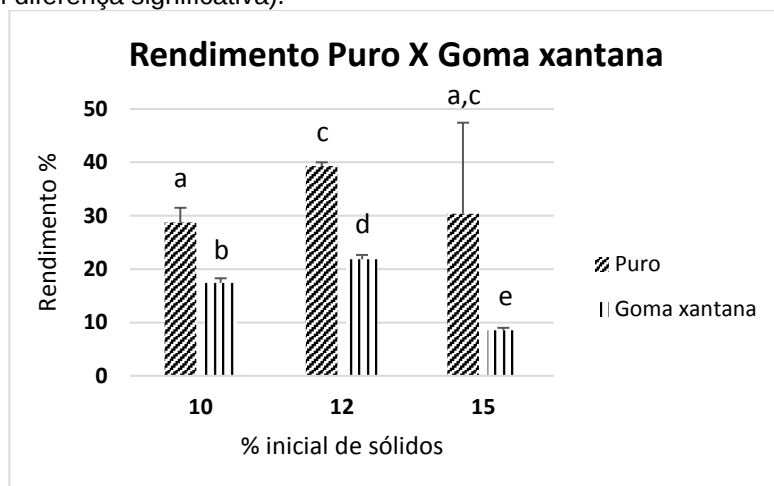
4.3. Rendimento do fermentado com e sem adição de goma xantana após secagem por *Spray dryer*

Ao final do processo de secagem por *Spray dryer* para cada amostra obtida foi calculado o rendimento utilizando a fórmula citada na metodologia deste trabalho, a mesma se baseia na massa inicial de sólidos e o peso final da amostra desidratada. O Gráfico 3, demonstra que o rendimento processual médio das amostras com goma xantana 10% ($17,4 \pm 0,8\%$), 12% ($21,8 \pm 0,8\%$) e 15% ($8,54 \pm 0,5\%$) de sólidos inicial não trouxe benefícios para essa variável quando comparada aos valores médios das amostras sem a presença desse microencapsulante $28,8 \pm 2,7\%$, $39,3 \pm 0,7\%$ e $30,4 \pm 17,0\%$, respectivamente. Este aditivo provocou um aumento da viscosidade das amostras, mas foi significativamente prejudicial na concentração de 15%, assegurado estatisticamente pelos valores de $p < 0,05$, uma vez que o maior percentual de sólidos inicial dessa concentração também contribuiu para o aumento da viscosidade do conteúdo. Segundo Labmaq (s.d.), a viscosidade da amostra leva a aderência às paredes da câmara de secagem do *Spray dryer*, conseqüentemente altera a diferença de cargas eletrostáticas da amostra e a parede do atomizador, provocando uma perda maior do conteúdo, por conseguinte diminuição do rendimento.

A amostra de 12%, sem a presença do microencapsulante, apresentou rendimento médio de aproximadamente 40%. De acordo com o estudo de Wang e Langrish (2009), este

resultado pode ser considerado bom, uma vez que secadores laboratoriais apresentam rendimento baixo e dependendo da marca de *mini spray dryers* dificilmente o rendimento ultrapassa 50%, mesmo com a adição de elevadas quantidades de aditivo.

Gráfico 3. Rendimento do fermentado em pó sem e com adição de goma xantana (letras diferentes indicam diferença significativa).



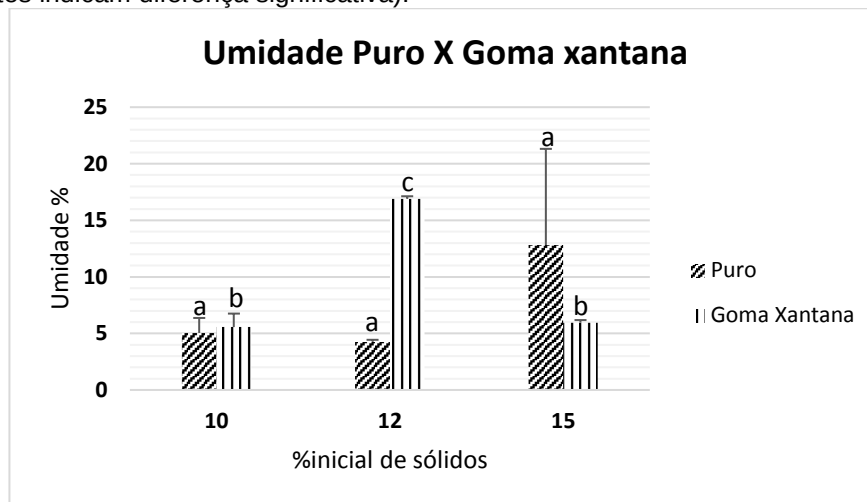
Fonte: Autoria própria (2018).

4.4. Análise da umidade do pó obtido das diferentes concentrações de sólidos e a interferência da goma xantana nessa variável

A umidade dos pós obtidos foi medida logo após a secagem por atomização e estão expressas no Gráfico 4. A goma xantana interfere negativamente na umidade do pó. A razão para isso acontecer é que o aumento da fase sólida na gota atomizada pelo *Spray dryer* gera uma resistência a movimentação da água presente na mesma, provocando uma redução da eficiência de secagem da amostra e aumento do tempo desse processo (KAJIYAMA & PARK, 2010).

Ao observar as variáveis das amostras isentas do aditivo, aparentemente, verifica-se que a amostra de 12% apresenta a menor umidade, no entanto os valores de p foram $>0,05$, indicando que não existe diferença significativa da umidade entre as concentrações de sólidos. Resultados similares foram encontrados no trabalho de Atalar e Desvisoglu (2015), que apresentou umidade do fermentado de Kefir desidratado por *Spray dryer* entre 1,75% e 4,9%, no entanto o percentual de sólidos iniciais foi de 11%. O controle de água presente em um produto é importante para a sua conservação e influencia diretamente no seu prazo de validade.

Gráfico 4. Umidade dos pós obtidos do fermentado com e sem adição de goma xantana (letras diferentes indicam diferença significativa).



Fonte: Autoria própria (2018).

4.5. Análise da sobrevivência dos microrganismos após secagem por *Spray dryer*

A sobrevivência dos microrganismos após secagem foi avaliada através da ressuspensão do pó e posterior semeadura em meio de cultura, o resultado pode ser observado na Tabela 2 que expressa o log da contagem de bactérias lácticas no fermentado líquido (No), no desidratado (N) e a relação N/No.

Atalar e Dervisoglu (2015) encontraram uma sobrevivência ($\log N/No$) inferior (-2) em seu estudo do que a apresentada neste trabalho (0,32 a 0,96 para 10 e 12% puros, respectivamente – Tabela 2), no entanto, utilizaram o Kefir no leite integral. Acreditamos que as razões para tal melhoria na sobrevivência obtida por nós é o uso de leite desnatado e a moagem de grãos de Kefir junto com o leite fermentado. O leite desnatado é eficiente como um microencapsulante de bactérias (Golowczyc et al., 2011-a). Golowczyc et al., (2011-b) encontraram viabilidade para as espécies *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus kefir* e *Saccharomyces lipolytica* isoladas de Kefir com o emprego de diferentes temperaturas durante o processo de secagem por atomização com $\log N/No$ aproximadamente -1 utilizando leite desnatado (resultado superior ao de Atalar e Dervisoglu, 2015). Ademais, a gordura no leite integral é suscetível a processos de oxidação durante o processo de secagem e aquecimento (Tonon, Grosso & Hubinger, 2011) com a formação de radicais livres (Thomsen et al., 2005) que podem reduzir a estabilidade dos microrganismos.

Observou-se a sobrevivência de bactéria ácido lácticas em todos os lotes e concentrações de sólidos, sendo a maior sobrevivência obtida na concentração de 10% isenta de microencapsulante (Tabela 2). Esse resultado, pode ser justificado pelo uso do leite desnatado que evita a oxidação de lipídeos e pela menor concentração de sólidos na amostra,

que segundo KAJIYAMA e PARK (2010), leva a uma menor duração do processo de secagem, logo menor é o tempo de contato dos microrganismos com o calor.

A viabilidade dos microrganismos pode ser prejudicada por fatores como: temperaturas de entrada e saída do *Spray dryer*, tipo de atomização, a direção do fluxo de ar, dentre outros (BIELECKA & MAJKOWSKA, 2000). Outros dois fatores cruciais são a refrigeração do frasco de saída durante o processo de secagem e o uso do kefiran que também pode agir como microencapsulante. Apenas nas concentrações de 12 e 15% foi observado efeito benéfico da goma xantana sobre a sobrevivência das bactérias ácido lácticas em relação ao resultado obtido com o leite puro na respectiva concentração, mas não em relação a concentração de 10% puro.

As leveduras de todas as replicatas tiveram elevada contagem inicial (Tabela 3), mas não sobreviveram ao processo de secagem, independente da presença da goma xantana e da concentração de sólidos, assim como observado por Atalar e Dervisoglu (2015) em seu estudo.

Tabela 2. Sobrevivência de bactérias ácido lácticas após atomização, por *Spray dryer*, do fermentado com e sem a adição de goma xantana (GX), em diferentes concentrações de sólidos. *p<0,05

Contagem de BAL	Concentração Inicial de Sólidos (m/m)								
	10%			12%			15%		
log UFC/g (média ± DP)	puro	GX	p	puro	GX	p	puro	GX	p
No	8,74±0,02	*8,94±0,01	<0,01	6,92±1,21	8,37±0,55	0,13	8,41±0,23	8,55±0,03	0,42
N	9,70±0,02	*5,99±0,08	<0,01	7,24±0,28	*7,92±0,02	0,01	5,31±0,20	*6,62±0,05	<0,01
N/No	0,96±0,01	*-2,95±0,07	<0,01	0,32±1,26	-0,46±0,56	0,38	-3,10±0,38	*-1,93±0,03	<0,01

Fonte: Autoria própria (2018).

Tabela 3. Contagem inicial de leveduras do fermentado em diferentes concentrações de sólidos, com e sem adição de goma xantana. *p<0,05

Contagem inicial de Leveduras			
[sólidos iniciais]	Fermentado líquido	Média ± DP	p
10%	Puro	5,85±0,03	
	Goma Xantana	*7,71±0,02	<0,01
12%	Puro	5,03±0,82	
	Goma Xantana	5,99±0,05	0,113
15%	Puro	6,93±0,42	
	Goma Xantana	*5,88±0,03	0,012

Fonte: Autoria própria (2018).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho trata-se de uma avaliação do uso da goma xantana como uma alternativa para a preservação dos microrganismos durante um processo de secagem a altas temperaturas. Apenas quando se utilizou 15% de sólidos, a adição do microencapsulante apresentou resultados positivos em redução de umidade do produto final e na sobrevivência

dos microrganismos. O pó obtido a 12%, sem adição de goma xantana, apresentou melhor umidade do produto final e rendimento do processo. No entanto, o pó obtido a 10% apresentou maior sobrevivência microbiana após secagem (9 log UFC/g), sendo considerado de maior valia para este trabalho.

6. REFERÊNCIAS

ARAÚJO, E. A. **Desenvolvimento e caracterização de queijo tipo Cottage adicionado de *Lactobacillus Delbrueckii* UFV H2b20 e de Inulina.** 2007. Dissertação - Programa de PósGraduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

APLEVICZ^{*}, Krischina Singer; OGLIARI, Paulo José; SANT'ANNA, Ernani Sebastião. **Influence of fermentation time on characteristics of sourdough bread.** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 49, n. 2, apr./jun., 2013

ATALAR I.; DERVISOGLU M. Optimization of spray drying process parameters for kefir powder using response surface methodology. **Food Science and Technology** .60 p. 751-757. 2015

BAPTISTA, Eduardo Vinicius. **Desenvolvimento de ingrediente simbiótico por fermentação de soro de leite e do subproduto da agroindústria de suco de laranja por grãos de Kefir e cultura probiótica.** 2010. 77 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência de Alimentos, Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010. Disponível em: <http://www2.ufrb.edu.br/kefirdoreconcavo/images/Desenvolvimento_de_ingrediente_simbi%C3%B3tico_por_fermenta%C3%A7%C3%A3o_de_soro_de_leite_e_do_subproduto_da_agroind%C3%BAstria_de_suco_de_laranja_por_gr%C3%A3os_de_Kefir_e_cultura_probi%C3%B3tica.pdf>. Acesso em: 26 jul. 2018.

BIELECKA, M., & MAJKOWSKA, A. **Effect of spray drying temperature of yoghurt on the survival of starter cultures, moisture content and sensoric properties of yoghurt powder.** Die Nahrung, v.4, 2000. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/12326144_Effect_of_spray_drying_temperature_of_yoghurt_on_the_survival_of_starter_cultures_moisture_content_and_sensoric_properties_of_yoghurt_powder> Acesso em: 13 jun 2018

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 46, DE 23 DE OUTUBRO DE 2007.** Dispõe sobre Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Disponível em: <http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/instru%C3%87%C3%83o-normativan%C2%BA-46-de-23-de-outubro-de-2007.pdf>. Acesso em: 13 fev. 2017.

BRASIL. **RDC Nº 02, DE 07 DE JANEIRO DE 2002.** Dispõe sobre Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional ou de Saúde. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_02_2002_COMP.pdf/68a25113-35e2-4327-a75f-ae22e714ca7c>. Acesso em 16 fev. 2017.

BRUNO, Laura Maria. **Manual de Curadores de Germoplasma – Micro-organismos: Bactérias Ácido-Láticas.** / Laura Maria Bruno. – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2011. 15 p. – (Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 336; Documentos / Embrapa Agroindústria Tropical, 151). Disponível em:

<https://www.embrapa.br/documents/1355163/2005846/doc336-151.pdf/4c82dbc8-73bd-4689-a47e-5819e3f1ffc7>. Acesso em: 14 nov 2015.

CASTRO-CISLAGHII FP, FRITZEN-FREIREII CB, SANT'ANNAII ES. Potencial do soro de leite líquido como agente encapsulante de Bifidobacterium Bb-12 por spray drying: comparação com goma arábica. **RevistaCiência Rural**, 2012.

ELÇIN, Y. M. Encapsulation of urease enzyme in xanthan-alginate spheres. **Biomaterials**, v.16, p.1157-1161, 1995.

ENIKEEV, R. Development of a new method for determination of exopolysaccharide quantity in fermented milk products and its application in technology of Kefir production. **FoodChemistry**, v. 134, n. 4, p. 2437-2441, 2012. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814612006875?np=y>. Acesso em: 12 fev. 2017.

FARNWORTH, E. R. Kefir: a complex probiotic. **Food Research and Technology**, New York, v. 2, n. 1, p. 1-17, Apr. 2005.

FELLOWS, P. **Food Processing Technology**. Ellis Howood, 1990. Cap. 14: Dehydration. p.281-313.

FILKOVÁ, I.; MUJUMDAR, A. S. **Industrial Spray Drying systems in Handbook of Industrial drying**. A. S. Mujumdar. Marcel Dekker Inc. New York, 1995. 742 p.

FT BRASIL, PP de População - São Paulo: **Fiesp/Ital**, 2010. Disponível em: <http://www.ital.sp.gov.br/tecnolat/anais/tl230513/Arquivos/Brasil%20Food%20Trends%202020.pdf>. Acesso em 16 mar. 2017.

GARCÍA-OCHOA, F.; CASTRO, V. E.; SANTOS, V.E. Oxygen transfer and uptake rates during xanthan gum production. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 27, n. 9, p. 680-690, 2000.

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V.E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. **Xanthan gum: production, recovery and properties**. **BiotechnologyAdvances**, New York, v. 18, n. 7, p. 549-579, nov. 2000.

GOLOWCZYC M.A.; et al. Survival of spray-dried Lactobacillus kefir is affected by different protectants and storage conditions. **Biotechnol Lett** v.33. p.681–686, 2011.

HERTZLER, S. R.; CLANCY, S. M. Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. **Journal of American Dietetic Association**. V. 153, n. 5, p. 582-587, 2003.

IRIGOYEN, A. ARANA, I. ; CASTIELLA, M.; TORRE, P. Microbiology, physiocochemical and sensory characteristics of kefir during storage. **Food Chemistry**, London, v. 90, n. 21, p. 613-620, Apr. 2005.

JIMÉNEZ-PRANTEDA, M. L.; PONCELET, D.; NÁDER-MACÍAS, M. E.; ARCOS, A.; AGUILERA, M.; MONTEOLIVA-SÁNCHEZ, M.; RAMOSCORMENZANA, A. **Stability of lactobacilli encapsulated in various microbial polymers**. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 113, p.179-184, 2012.

KAJIYAMA, T.; PARK, K. J. Influência do tamanho da gota e do teor de água final no tempo de secagem em secador atomizador **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**,

Campina Grande, v.12, n.1, p.29-36, 2010 29. Disponível em: <<http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev121/Art1214.pdf>> . Acesso em: 20 jun 2018

KOETH, R., et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. **Nat Med**, v. 19, p. 576-585, 2013.

MAGALHÃES K.T., et al. Brazilian Kefir: Structure, Microbial Communities and Chemical Composition. **Braz J Microbiol** 42: 693-702, 2011.

MAINVILLE, I.; ROBERT, N.; LEE, B.; FARNWORTH, E. R. Polyphasic characterization of the lactic acid bacteria in kefir. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 29, n. 1, p. 59-68, Jun. 2006.

MIGUEL, Maria Gabriela da Cruz Pedrozo. **Identificação de microrganismos isolados de grãos de Kefir de leite e de água de diferentes localidades**. 2009. 84 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Que Está Aumentada A Demanda de Nutrientes Para Estes, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2009. Disponível em: <<http://www2.ufrb.edu.br/kefirdoreconcavo/images/artigos/artigo11.pdf>>. Acesso em: 26 jul. 2018.

ORDÓÑEZ, J.A. et al. **Tecnologia de Alimentos – Componentes dos Alimentos e Processos**; trad. Fátima Murad – Porto Alegre: Atmed, 2005.Vol. 1. 294 p.

OLIVEIRA, M.N; DAMIN,M.R. Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, dez. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612003000400032&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 29 abr. 2013.

OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probiótico. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.38, n.1, p.1-21, 2002.

OTLES, S.; CAGINDI, O. Keife: a probiotic dairy – composition nutritional and therapeutic aspects. **Pakistan Journal of Nutrition**, Faisalabad, v. 2, n. 2, p. 54-59, 2003.

PARVEZ, S.; MALIK, K. A.; KANG, A. H.; KIM, H. Y. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. **Journal of Applied Microbiology**, v. 100, p.1171-1185, 2006.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; AURA, A. M.; OKSMANCALENTEY, K. M.; MYLLÄNRINEN, P.; SAARELA, M.; MATTILA-SANHOLM, T.; POUTANEN K. Development of functional ingredients for gut health. **Trends Food Sci. Technol.**, Amsterdam, v. 13, p. 3-11, 2002.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. 1.ed. São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 2004. 184p

ROSA, E.D. et al. Secagem por atomização na indústria alimentícia: fundamentos e aplicações. Labmaq do Brasil Ltda, 2006. Disponível em: <http://www.fazu.br/hd2/jornada2006/PALESTRAS/ENGE/palestra2.pdf> Acesso em: 20 fev. 2017.

ROSA, C. G. da. **Microencapsulação de extratos metanólicos de amorapreta (Rubus Fruticosus) e ácido gálico**. 2012. 111f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

ROSALAM, S.; ENGLAND, R. Review of xanthan gum production from unmodified starches by *Xanthomonas campestris* sp. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 39, n. 2, p. 197-207, 2006.

ROSENBERG, M.; KOPELMAN, I. J.; TALMON, Y. Factors affecting retention in spray drying microencapsulation of volatile materials. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.38, p.1288-1294, 1990.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 1, p. 01-16, 2006.

SARKAR, S. Potential of kefir as a dietetic beverage – A review. **British Journal of Nutrition**, v. 109, p. 280-290, 2007.

SCHER, J.; et al. Decreased bacterial diversity characterizes the altered gut microbiota in patients with psoriatic arthritis, resembling dysbiosis in inflammatory bowel disease. **Arthritis Rheumatol**. v. 67, p. 128-139, 2015.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Encapsulation of food ingredients. **Critical Review in Food Science and Nutrition**. Boca Raton, v.33, n.6, p.501-47, 1993.

SOUZA, G.; GARCIA, S.; VALLE, J.L. Kefir e sua tecnologia – aspectos gerais. **Boletim ITAL**, Campinas. v. 21, n. 2, p. 137-155. Abr./Jun. 1984.

STANTON, C.; DESMOND, C.; COAKLEY, M.; COLLINS, J.K.; FITZGERALD, G.; ROSS, R. P. **Challenges facing development of probiotic-containing functional foods**. In: FARNWORTH, E. R., Ed. Handbook of fermented functional foods. Boca Raton: CRC Press, 2003. p.27-58.

SUN, J.; et al. Pancreatic beta-cells limit autoimmune diabetes via naimmunoregulatory antimicrobial peptide expressed under the influence of the gut microbiota. **Immunity**, v.43, p.304-317, 2015.

SUN, W.; GRIFFITHS, M.W. Survival of bifidobacteria in yogurt and simulated gastric juice following immobilization in gellan–xanthan beads. **International Journal of Food Microbiology**, v.61, p.17-25, 2000.

SWORN, G. Xanthan gum. In: PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. **Handbook of Hydrocolloids**. New York: CRC Press, 2000. p. 103-116.

Thomsen, MK; Lauridsen, L; Skibsted, LH and Risbo, J. (2005). **Two Types of Radicals in Whole Milk Powder**. Effect of Lactose Crystallization, Lipid Oxidation, and Browning Reactions. *J. Agric. Food Chem.* 53 (5), 805–1811. DOI: 10.1021/jf0485483

Tonon, RV; Grosso, CRF; Hubinger, MD. (2011). **Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying**. *Food Research International* 44:1, 282-289.

TOOD, R. D. Microencapsulation and the Flavor Industry, **Flavor Industry**, London, v.1, n.11, p.768, 1970.

WANG, S.; LANGRISH, T. **A review of process simulations and the use of additives in spray drying**. *Food Research International*, v. 42, n. 1, p. 13-25, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2008.09.006>

WENDEL, S.; ÇELIK, M. Uma visão geral sobre o uso da tecnologia de Spray-Drying. **Pharmaceutical Technology**. p.31-45, abr. 1998.

WITTHUHN, R. C.; SCHOEMAN, T.; CILLIERS, A.; BRITZ, T. J. Impact of presevation and different packaging conditions on the microbial community and activity of kefir grains. **Food Microbiology**, África do Sul, v. 22, p. 337-344, set. 2004.

WSZOLEK, M.; TAMIME, A. Y.; MUIR, D. D.; BARCLAY, M. N. Properties of kefir made in Scotland and Poland using Bovine, Caprine and Ovine Milk with different Starter Cultures. **Lebensm. – Wiss. u. – Technol.**, v. 34, p. 251-261, fev. 2001.

Contatos: luizapedroso@icloud.com e isabela.pereira@mackenzie.br