

Desenvolvimento e avaliação microbiológica e físico-química de bebida probiótica fermentada sabor chocolate

RESUMO

Nathalia de Sousa Moulin Cabral

nmoulin@id.uff.br

Departamento de Nutrição e Dietética/Setor Ciências dos Alimentos, Universidade Federal Fluminense, Campus Valonguinho, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil.

Kátia Eliane Santos Avelar

katia.avelar@gmail.com

Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Local, Centro Universitário Augusto Motta, UNISUAM, Bonsucesso, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Nathália da Rocha Rodrigues

natirodrigues26@yahoo.com.br

Departamento de Nutrição /Universidade Estácio de Sá, Campus Nova Iguaçu, Nova Iguaçu, RJ, Brasil.

Fabiane Toste Cardoso

fabianetoste@yahoo.com.br

Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Local, Centro Universitário Augusto Motta, UNISUAM, Bonsucesso, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Alexandra da Silva Anastacio

alexandra_anastacio@id.uff.br

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição, Departamento de Nutrição e Dietética/Setor de Ciências dos Alimentos, Universidade Federal Fluminense, Campus Valonguinho, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil.

A indústria de alimentos investe cada vez mais no segmento de bebidas fermentadas de forma a se obter produtos com alegação funcional e de elevada aceitação por parte do consumidor. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da adição de grãos de kefir de leite sobre as características microbiológicas e físico-químicas de uma bebida probiótica sabor chocolate. Foram realizadas as análises físico-químicas para determinação do pH, acidez, lactose, sacarose, umidade, resíduo mineral fixo, proteínas, lipídios, carboidrato e energia, além de análises microbiológicas (contagem de bactérias ácido-láticas - BAL), bolores e leveduras- BL, presença de coliformes totais e termotolerantes nas bebidas fermentadas não saborizadas e saborizadas com chocolate em pó e açúcar. As bebidas probióticas não saborizadas com adição de 5% e 10% de kefir (BAL - $5,1 \times 10^9$ e $2,1 \times 10^9$ UFC/mL, respectivamente) e as bebidas probióticas saborizadas com adição de 5% de kefir (BAL - $1,3 \times 10^9$ UFC/mL) apresentaram conteúdo de BAL semelhantes. O conteúdo de BL foi 100 vezes maior bebida probiótica não saborizado a 5% comparado ao 10% ($4,1 \times 10^7$ e $3,3 \times 10^5$ UFC/mL, respectivamente) e 1000 vezes maior no kefir saborizado 10% comparado ao 5% ($1,2 \times 10^6$ e $4,5 \times 10^3$ UFC/mL, respectivamente). Todas as amostras apresentaram ausência de coliformes totais e termotolerantes. Em relação às análises físico-químicas, observou-se que as bebidas probióticas não saborizadas e saborizadas, com maior concentração dos grãos de kefir (10%) apresentaram menor pH (4,2 e 4,8, respectivamente) e maior acidez (0,74% e 0,81%, respectivamente), além de, menor teor de lactose (3,5% e 2,7%, respectivamente) e lipídeo (2,8% e 3,4%, respectivamente) comparada à bebida com 5% de grãos de kefir. O desenvolvimento de bebidas probióticas com sabor chocolate pode agregar valor comercial, sensorial, e nutricional e ser uma alternativa viável de alimento funcional. Mais estudos são necessários para se avaliar as características sensoriais e aceitabilidade destas bebidas probióticas.

PALAVRAS-CHAVE: Kefir; funcional; alimento.

INTRODUÇÃO

A demanda por alimentos que promovam saúde e bem-estar vem aumentando. Entre os alimentos que atendam a essa demanda, aqueles com propriedades funcionais têm atraído à atenção dos consumidores e da indústria alimentar. Alimento funcional é definido como todo alimento ou ingrediente que, além de suas funções nutricionais básicas, quando consumido na dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou benéficos à saúde, sendo consumidos de forma segura não sendo necessário supervisão médica (BRASIL, 1999).

Dentre os alimentos com alegações de propriedades funcionais, destacam-se os probióticos. Os probióticos são “microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo” (BRASIL, 2002). Destacam-se como alimentos funcionais, e apresentam efeitos positivos sobre a composição da microbiota intestinal e contribuem para a saúde. De acordo com Moraes e Colla (2006), os probióticos são capazes de aumentar a resistência gastrointestinal à colonização de patógenos, reduzir a concentração de ácidos (lático e acético) no organismo, fortalecer o sistema imunológico, aumentar a motilidade intestinal e a absorção de vitaminas e minerais. Sobretudo, estes alimentos são reportados apresentando efeitos antineoplásicos, que inibem a multiplicação e proliferação de células cancerígenas em estudos *in vitro*, e representando uma importante opção terapêutica do ponto de vista nutricional (DENIPOTE; TRINDADE; BURINI, 2010). Os produtos lácteos fermentados são, geralmente, boas matrizes alimentares para os probióticos (MARTINS *et al.*, 2013).

Dentre os microrganismos utilizados na produção de bebidas fermentadas probióticas, destaca-se a cultura de kefir. O kefir é um alimento originário do Cáucaso obtido a partir da fermentação do leite pelos grãos de kefir. Os grãos de kefir são descritos como uma associação simbiótica entre leveduras, bactérias ácido-láticas e bactérias ácido-acéticas, envoltas por uma matriz de polissacarídeos (DINIZ *et al.*, 2003).

A adição de chocolate pode ser uma alternativa para melhorar as características sensoriais do kefir cuja bebida se assemelha a um iogurte natural com elevada acidez; e agregar valor nutricional à bebida devido às propriedades funcionais presentes no cacau. O chocolate é um produto obtido a partir do cacau, que por sua vez é rico em compostos fenólicos. Os principais compostos fenólicos encontrados nas sementes de cacau estão dentro das classes dos taninos e dos flavonoides. Os flavonoides têm sido largamente estudados em razão dos efeitos benéficos que propiciam à saúde, tais como: propriedade anti-inflamatória, antiaterogênica, antitrombótica, antimicrobiana, analgésica e vasodilatadora, comprovadas em estudos científicos (GOTTI *et al.*, 2006; WOLLGAST; ANKLAN, 2000).

Frente às informações apresentadas, o objetivo deste trabalho foi elaborar bebidas fermentadas com grãos de kefir (5% e 10% m/v) não saborizadas e sabor chocolate, e analisar suas características microbiológicas e físico-químicas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Elaboração da bebida probiótica

Para a elaboração das bebidas probióticas, foram utilizados leite integral UHT, chocolate em pó solúvel (50% cacau) e açúcar refinado. Os ingredientes, do mesmo lote, foram obtidos do comércio varejista local da cidade de Niterói, localizada no Estado do Rio de Janeiro. Os grãos de Kefir oriundos de uma produção artesanal/familiar, foram inoculados em leite integral UHT, em uma proporção de 5% (m/v) e 10% (m/v), sendo submetidos à fermentação em temperatura de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Posteriormente, foram maturadas sob refrigeração ($5\pm 5^{\circ}\text{C}$) por 48 horas. Cada tratamento (5% e 10%) foi feito em duplicata.

Após a fermentação e separação dos grãos de kefir com auxílio de peneira de plástico, obtivemos amostras de bebidas fermentadas não saborizada (n=2) e saborizada (n=2) na proporção de 5% e 10% de grãos de kefir.

Para elaboração da bebida fermentada sabor chocolate, adicionou-se à bebida fermentada não saborizada 10% de chocolate em pó solúvel, e 10% de açúcar refinado. A bebida saborizada foi homogeneizada com um mini processador (Mix Philips Walita®). As bebidas probióticas foram mantidas sob refrigeração até o momento das análises.

Análises microbiológicas

Foram realizadas análises microbiológicas quantitativas de bactérias ácido-láticas (BAL), bolores e leveduras (BL) por contagem padrão em placas e análises qualitativas de coliformes totais e termotolerantes pela técnica do número mais provável (NMP). As análises foram feitas em duplicata após o período de fermentação (24h) e maturação (48h) para os dois tratamentos (fermentação com 5% e 10% de grãos de kefir) em amostras não saborizadas e saborizadas das bebidas probióticas. As análises seguiram a metodologia proposta pela *American Public Health Association* (APHA, 2001).

Análises físico-químicas

A caracterização físico-química das amostras foi determinada de acordo com as metodologias descritas por Adolfo Lutz (IAL, 2008) no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal Fluminense. Foram determinados os teores de umidade, cinzas, proteínas, lipídeos, glicídios redutores e não-redutores, acidez em ácido láctico, carboidratos totais, pH e valor energético total. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Realizou-se análise descritiva dos indicadores avaliados e análise da variância (ANOVA) para identificar a influência do conteúdo de grãos de kefir sobre os indicadores analisados. Foi utilizado o programa estatístico *Statgraphics*® versão 2012 e considerado os valores de $p < 0,05$ significativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análises microbiológicas

Os resultados das análises microbiológicas das bebidas probióticas fermentadas são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Análise microbiológica das bebidas probióticas

Análises	Amostras			
	kefir 5%	kefir 10%	kefir 5% sabor chocolate	kefir 10% sabor chocolate
Contagem de BAL (UFC/ mL)	5,1x10 ⁹	2,1x10 ⁹	1,3x10 ⁹	4,6x10 ⁷
Contagem de BL (UFC/mL)	4,1x10 ⁷	3,3x10 ⁵	4,5x10 ³	1,2x10 ⁶
Coliformes totais e termotolerantes (NMP/ mL)	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

NOTA: BAL = bactérias ácido-láticas; BL = bolores e leveduras; UFC = unidade formadora de colônias; NMP = número mais provável.

Pode-se observar que os resultados das contagens de BAL e BL obtidos no estudo são semelhantes aos dados observados na literatura. Garrote, Abraham e De Antoni (2001) obtiveram contagens de BAL em torno de 10⁸ (UFC/mL) e BL em torno de 10⁷ (UFC/mL) após 48 horas de fermentação à 20°C. Leite *et al.* (2013) avaliaram amostras de leite desnatado, encontrando contagens bacterianas de 10¹⁰ (UFC/mL) para BAL e 10⁶ (UFC/ mL) para BL, após 24 horas de fermentação à 25° C e 48 horas de maturação à 4 °C.

Os conteúdos de BAL foram semelhantes tanto nas bebidas probióticas não saborizadas (concentrações de 5% e 10% de kefir) quanto nas bebidas probióticas saborizadas com chocolate em pó e açúcar com concentração de 5% de kefir ($p > 0,05$). Embora não haja diferença estatística, o conteúdo de BAL da bebida probiótica fermentada com 5% de kefir e saborizada com chocolate foi cerca de 100 vezes maior que na bebida probiótica fermentada com 10% de kefir e, também, saborizada com chocolate. Um estudo realizado por Irigoyen *et al.* (2005) demonstrou que a contagem de microrganismos depende da porcentagem de grãos de kefir inoculados. Ainda de acordo com estes autores, o conteúdo de BAL foi mais elevado nas amostras de kefir com concentração de 1% (m/v) dos grãos quando comparado às amostras com concentração de 5% (m/v), sugerindo que o aumento da concentração de grãos de kefir favorece o crescimento de microrganismos que inibem a proliferação das BAL.

No presente estudo, foi possível observar que a maior proporção de grãos de kefir da bebida fermentada saborizada apresentou maior contagem de BAL, provavelmente, pelo aumento de microrganismos que podem competir por nutrientes para o seu crescimento ou produzir metabólitos que inibem o crescimento dos demais (NARVHUS; GADAGA, 2003). Um estudo realizado por Santa *et al.* (2008) demonstrou que a amostra de kefir com adição de polpa de

morango e açúcar apresentou um menor valor de BAL quando comparada à amostra de kefir não saborizada.

O conteúdo de BL foi cerca de 100 vezes maior na amostra de kefir 5% (m/v) não saborizado, e cerca de 1000 vezes maior no kefir 10% (m/v) saborizado com chocolate em pó e açúcar, quando comparado com as amostras não saborizadas e saborizadas, respectivamente.

O presente estudo sugere que as bebidas saborizadas (adição de chocolate em pó e açúcar) formuladas com 10% de grãos de kefir favorecem o crescimento de BL não fermentadoras de lactose na concentração de 10% (m/v), pois o açúcar atua como substrato para os microrganismos não fermentadores de lactose sendo formadas moléculas de etanol e dióxido de carbono. Neste contexto, o aumento de BL e a consequente formação de etanol em bebidas probióticas fermentadas com 10% de grãos de kefir e saborizadas com a adição de açúcar, pode se tornar um inconveniente nestas bebidas.

As formulações elaboradas apresentaram boas condições higiênico-sanitárias devido à ausência de coliformes totais e termotolerantes. Desta forma, estão de acordo com o estabelecido pelo Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos (BRASIL, 2001).

De maneira geral, as amostras apresentaram contagem de BAL e BL igual ou superior ao mínimo estabelecido pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (contagem $\geq 10^7$ e 10^4 UFC/mL, respectivamente) com exceção do kefir 5% (m/v) saborizado com chocolate em pó e açúcar que apresentou um conteúdo de BL menor do que 10^4 UFC/mL (BRASIL, 2007).

Considerando a porção de 200 mL ao dia, estabelecida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a RDC n° 359, de 23 de dezembro de 2003 (BRASIL, 2003), as bebidas desenvolvidas podem ser consideradas probióticas (exceto a bebida saborizada com 10% de kefir), pois atendem a quantidade mínima viável de BAL em alimentos probióticos, cuja faixa é de 10^8 a 10^9 UFC/g no produto pronto para o consumo (BRASIL, 2009).

Análises físico-químicas

Os resultados das análises físico-químicas das amostras de kefir (5% e 10% m/v) não saborizado e saborizado são apresentados na Figura 1.

As amostras de kefir (5% e 10% m/v) não saborizado e saborizado com chocolate em pó e açúcar apresentaram valores de pH semelhantes em diferentes estudos (IRIGOYEN *et al.*, 2005; LEITE *et al.*, 2013; MONTANUCI *et al.*, 2012; SANTA *et al.*, 2008). Os valores de pH das bebidas probióticas fermentadas com 10% de grãos de kefir, não saborizado e saborizado com chocolate em pó e açúcar, foram significativamente menores ($p < 0,05$) que as amostras de kefir 5% (m/v) não saborizado e saborizado (Figura 1). Um estudo realizado por Garrote, Abraham e De Antoni (1998), demonstrou que o aumento da concentração dos grãos de kefir acarreta a redução do pH das bebidas produzidas devido à formação de ácido láctico.

Os teores de acidez das bebidas probióticas analisadas variaram de 0,50 a 0,81 g de ácido láctico/ 100 mL. Este resultado encontrou-se de acordo com o

estabelecido pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (referência valor inferior a 1,0 g de ácido láctico/ 100 mL) (BRASIL, 2007) e de acordo com o observado em outros estudos (entre 0,60 a 0,80 g de ácido láctico/ 100g) (LEITE *et al.*, 2013; SANTA *et al.*, 2008).

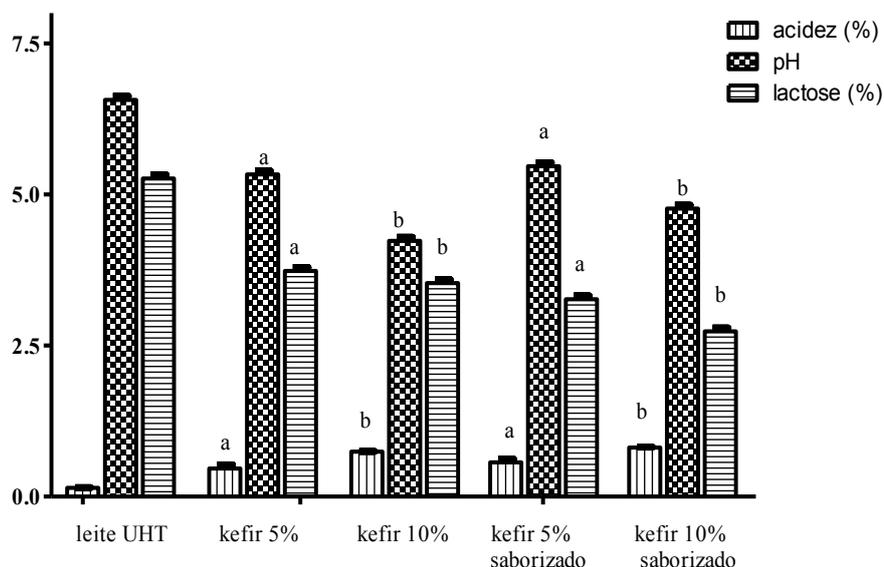


Figura 1 – Valores de acidez, pH e lactose do leite integral UHT e das bebidas probióticas
NOTA: Resultados apresentados em média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as bebidas probióticas nos diferentes tratamentos.

O aumento significativo ($p < 0,05$) da acidez nas amostras com concentração de 10% (m/v) foi consistente com o processo de fermentação e redução do pH. Este comportamento ocorre devido ao processo de fermentação pelas BAL que metabolizam a lactose formando moléculas de ácido láctico, e consequentemente, elevam a acidez do produto (Figura 1).

Valores médios de lactose, em torno de 3,05 a 3,51 g de lactose/ 100 mL, foram encontrados em amostras de kefir (IRIGOYEN *et al.*, 2005; LEITE *et al.*, 2013; MONTANUCI *et al.*, 2012) e são semelhantes aos encontrados no presente estudo.

O processo de fermentação da lactose para produção de ácido láctico é dependente do tempo de fermentação e da concentração de grãos de kefir. O menor teor de lactose observado nas bebidas formuladas no presente estudo foi influenciado pelo aumento na concentração dos grãos kefir (de 5% para 10% m/v) nas amostras não saborizadas e saborizadas.

Composição centesimal e valor energético total (VET)

Os resultados das análises da composição centesimal das amostras de kefir (5% e 10% m/v) não saborizado e saborizado com chocolate em pó e açúcar são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Análise da composição centesimal das matérias-primas e das bebidas probióticas.

Análises	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteínas (%)	Lipídeos (%)	Carboidratos (%)	VET (kcal/ 100 mL)
Leite integral UHT	88±0,01	0,7±0,03	2,9±0,02	3,0±0,1	5,3±0,06	60
Chocolate em pó	5,4±0,08	4,2±0,06	12±0,28	6,2±0,1	72±0,1	392
Kefir 5%	88±0,05 ^a	0,5±0,04 ^a	3,3±0,2 ^a	3,1±0,06 ^a	3,7±0,06	56 ^a
Kefir 10%	89±0,18 ^a	0,7±0,1 ^a	3,1±0 ^a	2,8± 0,1 ^b	3,5±0,06	52 ^a
Kefir 5% sabor chocolate	71±0,3 ^a	0,9±0,02 ^a	3,6±0,2 ^a	3,8±0,05 ^a	21±0,3 ^{a*}	133 ^b
Kefir 10% sabor chocolate	77±0,3 ^a	0,8±0,01 ^a	3,3±0,03 ^a	3,4±0,1 ^b	17±0,6 ^{a*}	112 ^b

NOTA: Letras diferentes demonstram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as bebidas probióticas. *O teor de carboidratos é representado pela soma dos teores de lactose e sacarose de cada amostra.

Marchi, Palezi e Pietta (2015) avaliaram amostras de kefir tradicionais e derivados, encontrando teores de umidade entre 83,36 e 85,45%, sendo próximos aos valores obtidos no presente estudo. As amostras de kefir não saborizadas e saborizadas apresentaram teores de umidade semelhantes estatisticamente. Entretanto, observou-se que a adição de chocolate em pó e açúcar às bebidas probióticas obtidas aumentou o teor de sólidos, o que conseqüentemente reduziu a umidade.

Os resultados obtidos para cinzas e proteínas das amostras não apresentaram diferença significativa. O teor de cinzas encontrado no kefir 5% não saborizado foi consistente com o obtido por Silva e Palezi (2015), os quais encontraram teores de cinzas entre 0,8 e 0,82% em bebidas lácteas. A amostra de kefir 5% saborizado apresentou teor de cinzas de acordo com Ribeiro, Andreolli e Menezes (2011), os quais obtiveram valores entre 0,88 a 0,97 g/ 100 mL para iogurte sabor chocolate com menta.

Os teores de proteínas das amostras de kefir encontram-se dentro do limite mínimo estabelecido pela legislação de leites fermentados, de 2,9 g/ 100 mL (BRASIL, 2007).

No presente estudo, o teor médio de lipídeos das bebidas probióticas formuladas é comparável ao estudo realizado por Irigoyen *et al.* (2005), os quais obtiveram teor de lipídeo de 3,60 g/ 100 mL em bebida fermentada produzida com concentração de 5% dos grãos de kefir. Os teores de lipídeos das amostras de kefir 10% não saborizado e saborizado com chocolate em pó foram significativamente inferiores, quando comparados ao kefir 5% não saborizado e saborizado com chocolate em pó. Este comportamento pode ser explicado pela presença de lipases produzidas pelos grãos de kefir durante a fermentação (VUJIČIĆ; VULIC; KONYVES, 1992). Terra (2007) obteve resultados similares ao presente estudo, com um decréscimo do teor de lipídio de 13,51% comparado ao leite integral UHT, após 72 horas de fermentação. Além disso, as amostras saborizadas apresentaram teor lipídico maior comparado ao não saborizado devido à adição do chocolate em pó.

Em relação aos carboidratos totais, os valores obtidos para as amostras de kefir 5% e 10% saborizadas não apresentaram diferença significativa e encontram-se acima dos resultados encontrados por Ribeiro, Andreolli e

Menezes (2011) para iogurte sabor chocolate com menta (média de 12,40 a 15,22 g/ 100 mL). Tais diferenças podem ser explicadas por diferenças na concentração de chocolate e açúcar adicionados nas bebidas probióticas formuladas.

O valor energético foi significativamente maior ($p < 0,05$) nas amostras saborizadas com chocolate em pó e açúcar comparadas às não saborizadas. Entre as amostras saborizadas a bebida probiótica obtida com adição de 10% de grãos de kefir apresentou menor valor energético, devido ao menor teor de lipídeos, proteínas, lactose e carboidratos totais encontrados.

Um estudo realizado por Otles e Cagindi (2003) reportou valor energético médio de 65 kcal/ 100 mL para a bebida fermentada obtida após fermentação com grãos de kefir, sendo semelhante aos resultados obtidos no presente estudo.

Os resultados apontam que estudos sobre o desenvolvimento de bebidas probióticas a base de kefir devem levar em consideração o tempo e temperatura de fermentação, a concentração dos grãos e os tipos e quantidade dos ingredientes adicionados, uma vez que estes fatores podem interferir na contagem de microrganismos e no teor de nutrientes das bebidas probióticas obtidas a partir do processo de fermentação com grãos de kefir.

CONCLUSÃO

A saborização das bebidas elaboradas se baseou nas características de qualidade preconizadas pela legislação para leites fermentados. No presente estudo, foram adicionados 10% de chocolate e 10% de açúcar, estando de acordo com a legislação, a qual recomenda que a adição de componentes não lácteos não deve ultrapassar 30%.

As bebidas probióticas não saborizadas (concentração de 5% e 10% de grãos de kefir) e saborizadas (concentração de 5% de grãos de kefir) apresentaram conteúdo de BAL semelhantes. A adição do chocolate em pó e açúcar favoreceu o crescimento de BL e, provavelmente, contribuiu para a inibição do crescimento de BAL nas bebidas probióticas com 10% de grãos de kefir devido à competição por nutrientes ou produção de metabólitos que inibem o seu crescimento. Pode-se sugerir que a maior concentração dos grãos de kefir e a adição de chocolate em pó e açúcar influenciaram no conteúdo de microrganismos das bebidas fermentadas probióticas. Além disso, as amostras apresentaram boas condições higiênico-sanitárias confirmadas pela ausência de coliformes totais e termotolerantes, e os resultados das análises físico-químicas demonstraram que os produtos elaborados apresentaram características adequadas para uma bebida probiótica.

O desenvolvimento de bebidas probióticas com sabor chocolate pode contribuir para a inovação na área de bebidas fermentadas, pois agrega valor comercial, sensorial e nutricional, podendo ser uma alternativa viável de alimento funcional. Mais estudos são necessários para se avaliar as características sensoriais e aceitabilidade destas bebidas probióticas.

Development, microbiological and physico-chemical evaluation of chocolate flavor probiotic beverage

ABSTRACT

The food industry has been investing in fermented beverages segment in order to obtain products with higher functional properties and acceptance by consumer. The aim of this study was to evaluate the influence of the addition of milk kefir grains on the microbiological and physico-chemical characteristics of a chocolate flavor probiotic beverage. The physical and chemical analysis of pH, acidity, lactose, sucrose, moisture, ash, proteins, lipids, carbohydrates, total energetic value and microbiological analyzes (count of lactic acid bacteria – LAB, molds and yeasts, presence of total and fecal coliforms in fermented beverages) were performed. The non- flavored probiotic beverage, with 5% and 10% of kefir (LAB- $5,1 \times 10^9$ e $2,1 \times 10^9$ UFC/mL, respectively) and flavored, with 5% of kefir (LAB- $1,3 \times 10^9$ UFC/mL) showed similar lactic acid bacteria count. The molds and yeasts content was 100 times greater in the non- flavored probiotic beverage with 5% of kefir and 1000 times greater in flavored probiotic beverage with 10% of kefir ($1,2 \times 10^6$ e $4,5 \times 10^3$ UFC/mL, respectively). All probiotic beverages showed the absence of total and fecal coliforms. In relation to the physical-chemical analysis of non- flavored and flavored probiotic drinks, it was observed that samples with a higher concentration of kefir grains (10%) presented lower pH, acidity, lactose and lipid values, consistent with lactose fermentation, pH decrease and acidity increase. The development of chocolate flavor probiotic beverages may aggregate commercial, sensory and nutritional value and can be a viable alternative of functional food. More studies are needed in order to evaluate the sensory characteristics and acceptability of these probiotic beverages.

KEYWORDS: Kefir; functional; food.

REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4ª edição. Washington: APHA, 2001.

BRASIL. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Alegações de propriedade funcional aprovadas**. 2009. Disponível em: <<http://s.anvisa.gov.br/wps/s/r/wuE>>. Acesso em: 28 jul. 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº18 de 03 de dezembro de 1999. **Diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e/ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos**. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno.htm>. Acesso em: 10 out. 2015.

BRASIL. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

BRASIL. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003. Aprova Regulamento Técnico de Porções de Alimentos Embalados para Fins de Rotulagem Nutricional. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 26 dez. 2003. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº46, 23 de Outubro de 2007. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 out. 2007. Seção 1, p. 5.

BRASIL. Resolução RDC nº 2, de 07 de janeiro de 2002. Aprova o regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 09 jan. 2002. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1c77370047457bcc8888dc3fbc4c6735/RDC_02_2002.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 17 out. 2015.

DENIPOTE, F.G.; TRINDADE, E.B.S.M.; BURINI, R.C. Probióticos e prebióticos na atenção primária ao câncer de cólon. **Arquivos de Gastroenterologia**, v.47, n.1, p.93-98, 2010.

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.

DOMARESKI, J.L.; BANDIERA, N.S.; SATO, R.T.; ARAGON-ALEGRO, L.C.; SANTANA, E.H. Avaliação físico-química e microbiológica do leite UHT comercializado em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.60, n.3, p. 261-269, 2010.

GARROTE, G.L.; ABRAHAM, A.G.; DE ANTONI, G.L. Characteristics of kefir prepared with different grain: milk ratios. **Journal of Dairy Research**, v. 65, n. 1, p. 149- 154, 1998.

GOTTI, R.; FURLANETTO, S.; PINZAUTI, S.; CAVRINI, V. Analysis of catechins in *Theobroma cacao* beans by cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography. **Journal of Chromatography A**, v.1112, n.1-2, p. 345–352, 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

IRIGOYEN, A.; ARANA, I.; CASTIELLA, M.; TORRE, P.; IBÁÑEZ, F. C. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 613-620, 2005.

LEITE, A.M.O.; LEITE, D.C.A.; DEL AGUILA, E.M.; ALVARES, T.S.; PEIXOTO, R.S.; MIGUEL, M.A.L.; SILVA, J.T.; PASCHOALIN, V.M.F. Microbiological and chemical characteristics of Brazilian kefir during fermentation and storage processes. **Journal of Dairy Science**, v.96, n. 7, p. 4149-4159, 2013.

MARCHI, L.; PALEZI, S.C.; PIETTA, G.M. Caracterização e avaliação sensorial do kefir tradicional e derivados. **Unoesc & Ciência**, ed. Especial, p.15-22, 2015.

MARTINS, E.M.; RAMOS, A.M.; VANZELA, E.S.; STRINGHETA, P.C.; PINTO, C.L.; MARTINS, J.M. Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. **Food Research International**, v.51, n.2, p. 764–770, 2013.

MONTANUCI, F.D.; PIMENTEL, T.C.; GARCIA, S.; PRUDENCIO, S.H. Effect of starter culture and inulin addition on microbial viability, texture, and chemical characteristics of whole or skim milk kefir. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 4, p. 850-861, 2012.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 99-112, 2006.

NARVHUS, J.A.; GADAGA, T.H. The role of interaction between yeasts and lactic acid bacteria in African fermented milks: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 86, n. 1, p. 51-60, 2003.

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

RIBEIRO, A.M.; ANDREOLLI, E.F.; MENEZES, L.A.A. **Elaboração de iogurte de chocolate com menta**. Medianeira, 2011. Trabalho de conclusão de curso (Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2011.

SANTA, O.R.D.; CARDOSO, F.; MOTA, G.; BASTOS, R.G.; RIGO, M.; SANTA, H.S.D. Avaliação sensorial de kefir sabor ameixa e morango. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 14, n4-4, p.77-85, 2008.

SILVA, G.P.R.; PALEZI, S.C. Desenvolvimento de uma bebida repositora à base de soro de leite com reduzido teor de lactose. **Unoesc & Ciência**, ed. Especial, p.29-36, 2015.

TERRA, F.M. **Teor de lactose em leites fermentados por grãos de kefir**. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Tecnologia de Alimentos) – Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

VUJIČIĆ, I.F.; VULIĆ, M.; KÖNYVES T. Assimilation of cholesterol in milk by kefir cultures. **Biotechnology Letters**,v. 14, n. 9, p. 847-850, 1992.

WOLLGAST, J.; ANKLAM, E. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? **Food Research International**, v. 33, n. 6, p. 449-459, 2000.

Recebido:26 nov. 2015.

Aprovado:13 jul. 2018.

DOI:10.3895/rebrapa.v9n2.3604

Como citar:

CABRAL, N. S. M. et al. Desenvolvimento e avaliação microbiológica e físico-química de bebida probiótica fermentada sabor chocolate. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 9, n.2, p. 52-63, abr./jun. 2018. Disponível em: <https://periodicos.utfpr.edu.br/rebrapa>

Correspondência:

Nathália da Rocha Rodrigues

Departamento de Nutrição, Universidade Estácio de Sá, Campus Nova Iguaçu, Rua Oscar Soares, 1466, Nova Iguaçu, Rio de Janeiro, Brasil; CEP 26220-098.

Direito autorial: Este artigo está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.

