

## Área: Tecnologia de Alimentos

# QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE BEBIDA LÁCTEA PRODUZIDA COM KEFIR ARTESANAL

**Jéssica Ecke\*, Andressa Fusieger, Débora Piovesan de Moraes, Valéria Maria Limberger Bayer, Ana Eucares von Laer**

*Laboratório de Microbiologia dos Alimentos, Curso de Tecnologia em Alimentos, Colégio Agrícola de Frederico Westphalen, Universidade Federal de Santa Maria, Frederico Westphalen, RS*

*\*E-mail: jeeessikak@hotmail.com*

**RESUMO** – Os grãos de kefir são utilizados, principalmente, na produção do leite fermentado denominado kefir, mas podem ser aplicados também no processamento de bebida láctea fermentada, como mais uma alternativa para o aproveitamento do soro do leite. No Brasil a utilização dos grãos é, predominantemente, proveniente de manipulação artesanal e, portanto, sem nenhum controle da composição e segurança microbiológica. Em virtude do exposto, o objetivo deste trabalho foi realizar avaliações microbiológicas para determinar as condições higiênico-sanitárias de bebidas lácteas fermentadas a partir de grãos de kefir artesanal. Para a elaboração da bebida láctea utilizou-se leite em pó, soro em pó (reconstituídos) e os grãos de kefir em duas concentrações diferentes (10 e 20% em relação ao volume de leite e soro), resultando em duas amostras distintas. A fermentação de ambas ocorreu a 25°C durante período suficiente para que a acidez atingisse de 75 a 80°D. As duas formulações de bebidas lácteas fermentada foram avaliadas quanto à qualidade microbiológica através da enumeração de coliformes totais e termotolerantes. Sendo que, os resultados de ausência de contaminação por esses grupos microbianos evidenciam que, mesmo proveniente de manipulação artesanal, as bebidas lácteas fermentadas com grãos de kefir apresentaram-se em boas condições higiênico-sanitárias.

**Palavras-chave:** contaminação microbiológica, derivados lácteos, leite em pó, soro em pó.

## 1 INTRODUÇÃO

Os grãos de kefir apresentam uma associação simbiótica de leveduras, bactérias ácido-láticas e bactérias ácido-acéticas envoltas por uma matriz de polissacarídeo referido como kefiran (Pintado et al., 1996; Hertzler e

Clancy, 2003) cuja composição microbiana varia conforme a região de origem, o tempo de utilização, o substrato utilizado para proliferação dos grãos e as técnicas utilizadas em sua manipulação (Witthuhn et al., 2004).

A bebida kefir, um leite fermentado, é tradicional e bastante consumida na Europa Oriental, Rússia e Sudoeste da Ásia (Tamime, 2006), entretanto o consumo tem aumentado em diversos países em virtude das propriedades sensoriais e histórico de efeitos benéficos à saúde humana (Farnworth, 2005; Otles e Cagindi, 2003; Tamime, 2006). No Brasil, o consumo não é muito difundido e a produção é exclusivamente artesanal (Magalhães et al., 2010a).

Bebida Láctea é o produto obtido a partir de leite ou leite reconstituído e/ou derivados de leite, reconstituídos ou não, fermentado ou não, com ou sem adição de outros ingredientes, onde a base láctea represente pelo menos 51% (m/m) do total de ingredientes do produto. Quando fermentada, a fermentação deverá ocorrer mediante a ação de cultivo de micro-organismos específicos, e/ou adição de leite fermentado e/ou outros produtos lácteos fermentados, e o produto final não poderão ser submetidos a tratamento térmico após a fermentação. Sendo que, a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de  $10^6$  UFC x g<sup>-1</sup>, no produto final, para o(s) cultivo(s) láctico(s) específico(s) empregado(s), durante todo o prazo de validade (Brasil, 2005).

Em virtude do teor de lactose e outros nutrientes, o soro, resultante do processamento de queijos, torna-se uma matéria-prima potencial ao desenvolvimento de micro-organismos viabilizando a produção de bebidas lácteas fermentadas (Magalhães et al., 2011), já que o soro *in natura* apresenta baixa aceitação sensorial pelo alto teor de sais minerais (Soares et al., 2011).

Alguns estudos realizados no Brasil relatam a utilização de grãos de kefir como *starter* em fermentações de bebidas lácteas com soro (Magalhães et al., 2010b; Magalhães et al., 2011), entretanto, devido a utilização, predominantemente, de grãos artesanais mais pesquisas devem ser desenvolvidas no sentido de uma maior caracterização, principalmente, microbiológica e divulgação dos produtos.

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo realizar avaliações microbiológicas para determinar as condições higiênico-sanitárias de bebidas lácteas fermentadas a partir de grãos de kefir artesanal.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Obtenção e caracterização microbiológica de leite em pó e soro em pó

Para a elaboração da bebida láctea utilizou-se leite em pó obtido em um mercado local e soro em pó obtido diretamente de um laticínio. Ambos, depois de reconstituídos conforme indicações do fabricante foram avaliados quanto à qualidade microbiológica através da enumeração de coliformes totais e termotolerantes de acordo com os Métodos de Análises Microbiológicas para Alimentos do MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), segundo a normativa N° 62, de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003). As análises microbiológicas foram realizadas no laboratório de Microbiologia dos Alimentos do Colégio Agrícola de Frederico Westphalen (CAFW) – UFSM.

## **2.2 Obtenção e preparo dos grãos de kefir**

Para a realização deste trabalho foram utilizadas populações de grãos de kefir artesanal providas de manipulações familiares. A reativação e manutenção do kefir ocorreram por aproximadamente 15 dias em leite UHT, incubados a 25°C durante 24h. Após esse período os grãos haviam se multiplicado e estavam prontos para serem utilizados nas formulações de bebida láctea. A reativação e manutenção dos grãos ocorreram na Agroindústria de Lácteos do CAFW – UFSM.

## **2.3 Elaboração da bebida láctea fermentada**

Para a obtenção da bebida láctea fermentada a partir dos grãos de kefir, foram elaboradas duas formulações diferentes, com variação na concentração dos grãos: 10 e 20% em relação ao volume total de leite e soro (F1 e F2), para os quais foi utilizada a proporção de 70%:30%. O processamento das bebidas lácteas ocorreu na Agroindústria de Lácteos do CAFW – UFSM. A fermentação ocorreu a 25°C durante período suficiente para que a acidez atingisse de 75 a 80°D. Após o processo de fermentação, as formulações foram peneiradas com auxílio de peneira de aço inoxidável, em condições assépticas, separando-se assim a bebida láctea fermentada dos grãos de kefir. As duas amostras, devidamente identificadas foram armazenadas sob refrigeração até o momento das análises microbiológicas, as quais ocorreram ainda no mesmo dia do processamento.

## **2.4 Análises microbiológicas das formulações de bebida láctea**

As duas formulações de bebidas lácteas foram avaliadas quanto à qualidade microbiológica através da enumeração de coliformes totais e termotolerantes, única exigência microbiológica prevista pela IN nº16 – (BRASIL, 2005) e executada de acordo com os Métodos de Análises Microbiológicas para Alimentos do MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), segundo a normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003). As análises microbiológicas do produto final ocorreram no Laboratório de Microbiologia do CAFW.

## **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Nos resultados para enumeração de coliformes totais e termotolerantes, encontrou-se ausência destes em todas as amostras (leite em pó reconstituído, soro em pó reconstituído, bebida láctea fermentada F1 e bebida láctea fermentada F2). Deste modo, os resultados demonstram a qualidade microbiológica superior à exigida no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas (Brasil, 2005), no qual são permitidas contagens menores que 100 NMP x mL<sup>-1</sup> de coliformes totais e menores que 10 NMP x mL<sup>-1</sup> de coliformes termotolerantes. Estes resultados demonstram que, mesmo os grãos de kefir sendo artesanais e, provavelmente,

intensamente manipulados sem maiores cuidados, eles não ocasionaram contaminação por micro-organismos do grupo coliformes nas bebidas lácteas avaliadas e, portanto, segundo esse parâmetro, os produtos apresentam-se próprios ao consumo.

Há duas hipóteses para a ausência de coliformes totais e termotolerantes nas bebidas lácteas fermentadas avaliadas, a primeira é que os grãos de kefir artesanal utilizados no experimento não carregaram contaminação destes micro-organismos para os produtos. A outra hipótese é que produtos da fermentação, principalmente, os ácidos apresentem efeito inibidor aos micro-organismos pesquisado, uma vez que, segundo Garrote et al. (2001), os ácidos lácticos e acéticos produzidos pelos grãos ou cultura “starter” de Kefir durante o processo de fermentação inibem o desenvolvimento de *Escherichia coli*.

Semelhante aos resultados encontrados, estudo realizado por Ribeiro (2015), sobre a caracterização físico-química e microbiológica de Kefir produzido artesanalmente na região Noroeste do Rio Grande do Sul, observou-se que das oito amostras analisadas, todas estavam em desacordo com o estabelecido pela legislação (BRASIL, 2005) para contagem de coliformes totais, no entanto, nenhuma das amostras apresentou contagem de coliformes termotolerantes. O autor salienta ainda, que a ausência de coliformes termotolerantes indica que o processo de fermentação de kefir tem finalidade de bioconservação e estabilização microbiológicas nos produtos, contudo, se faz necessário estudos detalhados para comprovação dos fatos.

Montanuci (2010) avaliou bebidas de Kefir com e sem inulina em versões integral e desnatada e não encontrou presença de coliformes totais e termotolerantes em nenhuma das formulações, tanto no primeiro quanto no 28º dia após o armazenamento. Entretanto, no referido trabalho o kefir utilizado foi obtido comercialmente na forma liofilizada.

## 4 CONCLUSÃO

O estudo realizado indicou que a utilização de kefir, mesmo sendo obtido de manipulação artesanal, poderá apresentar condições higiênico-sanitárias satisfatórias.

## 5 REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 de set. 2003. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=6078>>. Acesso em 28 de fevereiro de 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 16 de 23 de agosto de 2005. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 de ago. 2005. Disponível em: <<http://>

- [http://www.lex.com.br/doc\\_19408\\_INSTRUCAO\\_NORMATIVA\\_N\\_16\\_DE\\_23\\_DE\\_AGOSTO\\_DE\\_2005.asp](http://www.lex.com.br/doc_19408_INSTRUCAO_NORMATIVA_N_16_DE_23_DE_AGOSTO_DE_2005.asp). Acesso em 28 de fevereiro de 2015.
- FARNWORTH, E.R. Kefir - a complex probiotic. **Food Sci Technol Bull: Functional Foods**. 2005; p. 1–17.
- HERTZLER, S.R., CLANCY, S.M. Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. **Journal American Diet. Association**. v.153, p.582-587, 2003.
- GARROTE, G. L., ABRAHAM, A.G., ANTONI, G.L. Chemical and microbiological characterization of Kefir grains. **Journal of Dairy Research**, v.68, p.639- 652, 2001.
- MAGALHÃES, K.T., PEREIRA, G.V.M., DIAS, D.R., SCHWAN, R.F. Microbial communities and chemical changes during fermentation of sugary Brazilian kefir. **World Journal of Microbiology Biotechnology**, v.26, p.1241-1250, 2010a.
- MAGALHÃES, K.T., PEREIRA, M.A., NICOLAU, A., DRAGONE, G., DOMINGUES, L., TEIXEIRA, J.A., ALMEIDA, J.B.A.S., SCHWAN, R.F. Production of fermented cheese whey-based beverage using kefir grains as starter culture: Evaluation of morphological and microbial variations. **Bioresource Technology**, v.101, p.8843–8850, 2010b.
- MAGALHÃES, K.T., DRAGONE, G., PEREIRA, G.V.M., OLIVEIRA, J.M., DOMINGUES, L., TEIXEIRA, J.A., SILVA, J.B.A., SCHWAN, R.F. Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. **Food Chemistry**, v.126, p.249-253, 2011.
- MONTANUCI, F. D. **Bebidas de Kefir com e sem inulina em versões integral e desnatada: elaboração e caracterização química, física, microbiológica e sensorial**. 2010. 139 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.
- PINTADO, M.E., et al. Microbiological and rheological studies on Portuguese kefir grains. **International Journal of Food Science Technology**. v.31, p.15-26, 1996.
- 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.
- SOARES, D.S., FAI, A.E.C., OLIVEIRA, A.M., PIRES, E.M.F., STAMFORD, T.L.M. Aproveitamento de soro de queijo para produção de iogurte probiótico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.4, p.996-1002, 2011.
- TAMIME, A.Y. Production of Kefir, Koumiss and Other Related Products. In: Tamime, A.Y. (ed.), **Fermented Milk**. Oxford: Blackwell Science Ltd, 2006, p.174-216.
- 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.
- WITTHUHN, R.C., et al. Impact of preservation and different packaging conditions on the microbial community and activity of kefir grains. **Food Microbiology**. v.22, p.337-344, 2004.