

# AVALIAÇÃO DE PH, ACIDEZ TITULÁVEL E CRESCIMENTO DE MASSA COLÔNICA DE GRÃOS DE KEFIR DE ÁGUA INOCULADOS EM EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE ARROZ (*Oryza sativa*).

**Uéllina Silva Souza**

Universidade Federal de Bahia, Escola de Nutrição, Salvador –BA.

**Márcia Regina da Silva**

Universidade Federal de Bahia. Escola de Nutrição. Depto. Ciência de Alimentos, Salvador –BA.

uellinasouza@gmail.com

## RESUMO

O kefir é um alimento fermentado que compõe a categoria de alimentos funcionais por possuir em sua composição micro-organismos de caráter probiótico com benefícios à saúde humana. Tendo em vista os distúrbios alimentares (alergia ao leite de vaca e intolerância à lactose), a diversidade nos padrões dietéticos (vegetarianos), as propriedades benéficas conferidas pelo consumo de kefir, além do valor nutritivo dos extratos hidrossolúveis vegetais, conduziu-se este trabalho com a proposta de avaliar o pH, a acidez titulável e o crescimento da massa colônica de grãos de kefir de água inoculados em extrato hidrossolúvel de arroz (*Oryza sativa*). O extrato hidrossolúvel de arroz foi obtido pela trituração de 2 partes de arroz cozido com 1 parte de água e posteriormente filtrado. O experimento foi conduzido com duas amostras, ambas em triplicata, sendo uma padrão, iniciando com 5%

de grãos de kefir de água inoculados em 100 mL de água filtrada + 5% de açúcar mascavo, e outra teste, também iniciando com 5% de grãos de kefir de água inoculados em 100 mL de extrato hidrossolúvel de arroz + 5% de açúcar mascavo. As amostras teste passaram por fase de adaptação durante três dias. O período de incubação foi de 18-24 horas/30°C ± 2°C, e o experimento teve duração total de 28 dias. Os pesos de massa colônica foram verificados no tempo 0 de fermentação e as determinações de pH e acidez titulável, nos tempos 0 e 18-24 horas, com as aferições sendo feitas a cada 7 dias. Os dados obtidos apontaram que nas amostras teste, o crescimento da massa colônica foi estatisticamente maior em relação às amostras padrão. Entretanto, os valores de pH e acidez observados não diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) entre o padrão e o teste. Concluiu-se, portanto, que o cultivo de grãos de kefir de água em extrato hidrossolúvel vegetal de arroz pode ser viável.

**Palavras-chave:** *Alimento funcional. Probiótico. Extrato hidrossolúvel vegetal.*

## ABSTRACT

*Kefir is a fermented food that makes up the category of functional foods by having in its composition probiotic microorganisms with benefits to human health. In view of the eating disorders (cow's milk allergy and lactose intolerance), the diversity in dietary patterns (vegetarian), the beneficial properties conferred by kefir consumption, and the nutritive value of vegetable water soluble extracts, this study was conducted with the purpose of evaluating pH, titratable acidity and colony mass growth of water kefir grains inoculated in rice water extract (*Oryza sativa*). The water-soluble extract of rice was obtained by crushing 2 parts of boiled rice with 1 part of water and subsequently filtered. The experiment was conducted with two samples, both in*

*triplicate, with a standard starting with 5% water kefir grains inoculated in 100 mL of filtered water + 5% brown sugar; and another test, also starting with 5% of grains Of water kefir inoculated in 100 mL of water-soluble rice extract + 5% brown sugar. The test samples went through the adaptation phase for three days. The incubation period was 18-24 hours / 30°C ± 2°C, and the experiment had a total duration of 28 days. The colonic mass weights were verified at time 0 of fermentation and the determinations of pH and titratable acidity, at times 0 and 18-24 hours, with the measurements being made every 7 days. The obtained data indicated that in the test samples the colonic mass growth was statistically larger in relation to the standard samples. However, the pH and acidity values did not differ significantly ( $p < 0.05$ ) between the standard and the test. It was concluded, therefore, that the cultivation of water kefir grains in a rice water soluble vegetable extract may be viable.*

**Keywords:** *Functional food. Probiotic. Extract soluble vegetable.*

## INTRODUÇÃO

O kefir é um alimento fermentado obtido a partir dos grãos de kefir. Nestes, há uma associação simbiótica entre as bactérias e leveduras presentes, as quais estão envolvidas por uma matriz de polissacarídeos, chamada de kefiran. Os grãos de kefir recebem também as denominações de kephir, kiaphur, kefer, knapon, kepiand e kippi (FRANWORTH, 2005; WESCHENFELDER et al., 2011).

Há dois tipos de kefir: o de leite e o de água. O kefir de leite tem como principal substrato no processo de fermentação a lactose que, sendo hidrolisada, produz compostos de alta

digestibilidade, os quais apresentam comprovada ação benéfica e terapêutica ao organismo. Já o kefir de água tem como substrato uma solução de sacarose ou extratos de frutas e do seu processo de fermentação também resultam compostos com mesmas propriedades benéficas do kefir de leite (LOPITZ-OTSOA et al., 2006; SCHNEEDORF, 2012).

Além dos compostos digestíveis e outros metabólitos, a fermentação do kefir resulta em produtos finais como o ácido láctico, etanol e dióxido de carbono, sendo os dois últimos os principais responsáveis por conferir o sabor e aroma característicos da bebida (FRANWORTH, 2005; SANTOS, 2012).

Segundo a FAO/WHO (2003), o kefir é definido com base na composição microbiana dos grãos utilizados para fermentação e do leite fermentado resultante. Ele se enquadra na categoria de alimentos funcionais por conter em sua composição micro-organismos de caráter probiótico que promovem benefícios à saúde (BRASIL, 1999; FRANWORTH, 2005; BRASIL, 2007).

A fermentação do leite de vaca por bactérias lácticas modifica os seus nutrientes tornando-os mais assimiláveis ao organismo, correspondendo a uma pré-digestão desses constituintes. Como grande parte da lactose é desdobrada em ácido láctico, a depender do grau de sensibilidade, portadores de intolerância a este componente podem fazer uso de leites fermentados (TERRA, 2007; ABATH, 2013; SILVA, 2013).

Entretanto, há indivíduos que possuem restrição ao leite de vaca, seja por questões de saúde, éticas ou ideológicas, como os vegetarianos, e substituem esse produto por extratos hidrossolúveis de vegetais, também denominados “leites vegetais”. Estes, por sua vez, apresentam uma composição nutritiva menos completa, quando comparados ao leite

animal, especialmente para o cálcio e proteínas de alto valor biológico (COUCEIRO; SLYWITCH; LENZ, 2008; ABATH, 2013).

Os extratos hidrossolúveis vegetais são obtidos a partir de partes proteicas de espécies vegetais, como: oleaginosas, cereais e leguminosas (BRASIL, 2005).

Dentre os cereais, o arroz (*Oryza sativa*), apresenta considerável valor nutricional, com teor energético proveniente de 90% do amido em sua composição, rico em proteínas (7-8%), contendo oito aminoácidos essenciais, sais minerais (fósforo, ferro e cálcio), vitaminas do complexo B e baixo teor lipídico. As bebidas à base de arroz são conhecidas pelo seu sabor suave e levemente adocicado, possuindo boa aceitação (SOARES JUNIOR et al., 2010; BENTO; SCAPIM; AMBROSIO-UGRI, 2012).

Com vista a proporcionar um “leite vegetal” mais nutritivo para atender a demandas específicas como as mencionadas, este estudo teve como objetivo principal avaliar o pH, a acidez titulável e o crescimento da massa colônica dos grãos de kefir de água inoculados em extrato hidrossolúvel de arroz (*Oryza sativa*).

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo tem caráter exploratório de base experimental e foi realizado no período de março a abril de 2016, nos laboratórios de Técnica Dietética e Bioquímica de Alimentos, da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia.

As matérias-primas utilizadas foram arroz polido tipo 1 (*Oryza sativa*) e açúcar mascavo, adquiridos no comércio local da cidade de Salvador, Bahia. Os grãos de kefir de água foram obtidos do Laboratório de Probióticos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Recôncavo Baiano (UFRB).

Para as determinações de pH,

utilizou-se pHmetro modelo Neomed do Brasil, a temperatura foi aferida por meio de termômetro digital infravermelho com mira laser (Infraed) e o peso da massa colônica foi determinado por balança digital (Shimadzu). A acidez titulável (% de ácido lático) foi determinada segundo as normas do Instituto Adolfo Lutz (2008), utilizando-se solução alcalina de hidróxido de sódio 0,1N e solução indicadora de fenolftaleína a 1%.

#### Obtenção do extrato hidrossolúvel vegetal

O extrato hidrossolúvel de arroz foi elaborado com base na metodologia proposta por Soares Junior et al. (2010). Os grãos de arroz foram inicialmente lavados em água corrente, a fim de reduzir ou eliminar as sujidades do produto. Em uma panela de aço inox, os grãos foram cozidos na proporção de 1 parte de grãos para

2 partes de água (1:2 p/p), por um tempo médio de 30 minutos. Em seguida, o produto cozido foi drenado e triturado em liquidificador doméstico, por três minutos, utilizando-se a proporção de uma parte de arroz cozido para duas partes de água filtrada. O homogeneizado foi filtrado em peneira plástica fina, revestida por gaze estéril.

O extrato hidrossolúvel de arroz foi preparado a cada semana e armazenado em potes plásticos, com volume de 100mL e mantido sob refrigeração a 11°C. Para a inoculação, os potes, após serem retirados do refrigerador, foram mantidos em banho-maria, até atingir a temperatura ambiente, adequada para a inoculação dos grãos de kefir.

#### Cultivo dos grãos

As amostras em triplicata, padrão (P) e teste (T), foram inoculadas com grãos de kefir de água seguindo o

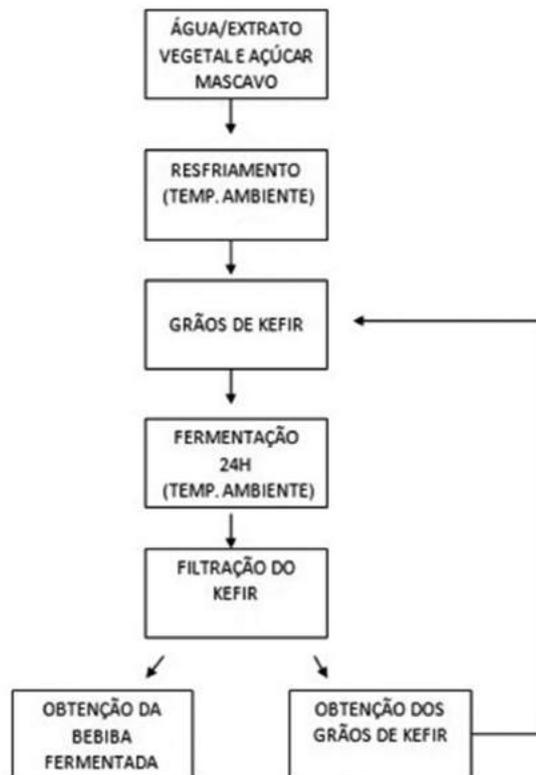
método tradicional de produção com trocas diárias, descrito por Santos et al. (2015) (Figura 1).

Para as amostras padrão (P) e teste (T), foram adicionados em recipientes de vidro esterilizados 100mL de água filtrada e extrato hidrossolúvel de arroz, açúcar mascavo a 5% e, inicialmente, grãos de kefir de água a 5%. Os recipientes foram cobertos individualmente com tecido tipo TNT, descartável. O tempo de fermentação das amostras correspondeu a 18-24 horas com temperatura média de 30°C ± 2°C.

Previamente foi realizada a adaptação dos grãos ao extrato hidrossolúvel de arroz por três dias consecutivos e, após este período, o tempo do experimento compreendeu 28 dias.

As determinações do pH, acidez e peso da massa colônica das amostras foram realizadas semanalmente, nos dias 0, 7, 14, 21 e 28.

Figura 1 – Fluxograma de produção artesanal do kefir de água.



As verificações de pH e acidez foram realizadas em dois momentos, ou seja, nos tempos de inoculação (0 hora) e de fermentação (18-24 horas). E os pesos de massa colônica verificados no início de cada período de fermentação.

Para obtenção das médias das amostras padrão e teste, foi utilizado o *software* Statistics Package for Social Science (SPSS), versão 20.0, com posterior aplicação do teste t Student, utilizando-se o nível de confiança de 95%, para a comparação das mesmas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato hidrossolúvel de arroz obtido apresentou coloração branca, de aspecto opaco devido à presença do amido e de consistência pouco densa.

Após o período de fermentação, observou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os pesos médios das massas colônicas dos grãos de kefir das amostras Padrão e Teste (Tabela 1). O crescimento da massa colônica das culturas T foi maior quando comparado com as culturas P (Figura 2).

Segundo Lopitz-Otsoa et al. (2006), a quantidade kefir liberada ao longo da fermentação depende dos micro-organismos envolvidos, da composição do meio de cultura, da temperatura e do tempo de fermentação. Provavelmente, o crescimento das amostras T esteja relacionado com a maior disponibilidade de nutrientes presentes no extrato vegetal de arroz.

Conforme os valores médios de pH exibidos pelas amostras avaliadas (Tabela 2), os resultados apontam que houve diferença significativa

**Tabela 1** - Médias de peso da massa colônica das amostras Padrão e Teste ao longo de 28 dias, expressos em grama, 2016.

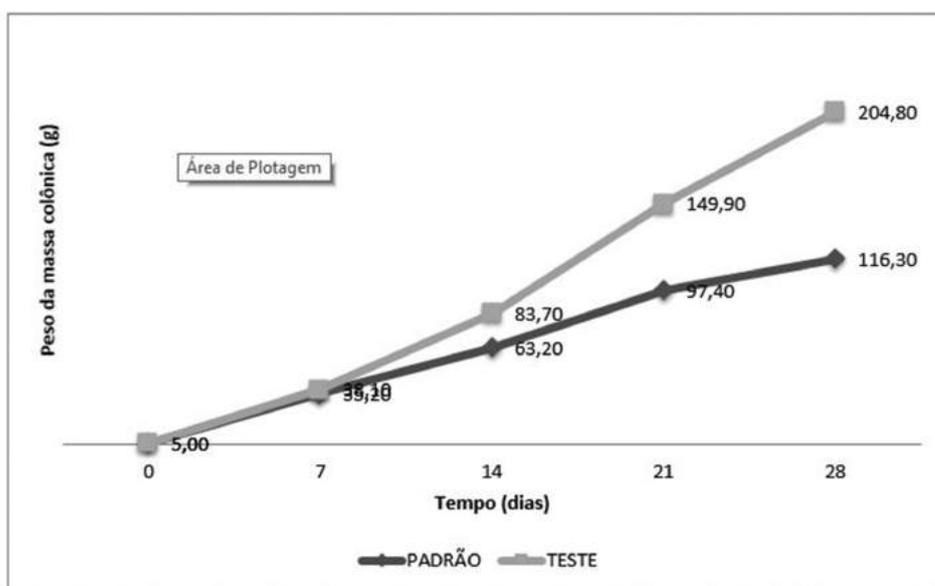
Amostras	Tempo (Dias)				
	0	7	14	21	28
<b>Padrão</b>	5,00 <sup>a</sup> (0,00)	35,2 <sup>a</sup> (1,01)	63,2 <sup>a</sup> (1,95)	97,4 <sup>a</sup> (2,55)	116,3 <sup>a</sup> (1,39)
<b>Teste</b>	5,00 <sup>a</sup> (0,00)	38,1 <sup>b</sup> (0,25)	83,7 <sup>b</sup> (0,46)	149,9 <sup>b</sup> (3,44)	204,8 <sup>b</sup> (15,21)

Padrão (base água) Teste (base extrato hidrossolúvel de arroz)

Valores representados por Médias (Desvio Padrão) das amostras em triplicatas.

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças entre valores de ( $p < 0,05$ ) entre a amostra T e amostra P.

**Figura 2** – Crescimento de massas colônicas das amostras P e T ao longo de 28 dias, expressos em gramas, 2016.



**Tabela 2** - Valores médios de pH e acidez das amostras Padrão e Teste segundo o tempo (dias), e tempos de inoculação (0h) e de fermentação (18-24h), 2016.

Amostras		Tempo (Dias)					Médias Totais
		0	7	14	21	28	
<b>pH</b>							
P	0h	4,30 <sup>a</sup> (0,05)	4,55 <sup>a</sup> (0,28)	4,31 <sup>a</sup> (0,05)	3,87 <sup>a</sup> (0,04)	3,74 <sup>a</sup> (0,03)	4,30 <sup>a</sup> (0,34)
T		5,35 <sup>b</sup> (0,00)	5,05 <sup>a</sup> (0,05)	4,27 <sup>a</sup> (0,05)	3,76 <sup>b</sup> (0,01)	3,48 <sup>b</sup> (0,01)	4,27 <sup>a</sup> (0,81)
P	18-24h	3,58 <sup>a</sup> (0,00)	3,84 <sup>a</sup> (0,08)	3,50 <sup>a</sup> (0,04)	3,42 <sup>a</sup> (0,02)	3,39 <sup>a</sup> (0,01)	3,50 <sup>a</sup> (0,18)
T		3,88 <sup>a</sup> (0,00)	3,86 <sup>a</sup> (0,03)	3,58 <sup>b</sup> (0,02)	3,44 <sup>a</sup> (0,01)	3,30 <sup>a</sup> (0,29)	3,58 <sup>a</sup> (0,26)
<b>Acidez (% de ácido láctico)</b>							
P	0h	0,10 <sup>c</sup> (0,00)	0,05 <sup>c</sup> (0,13)	0,06 <sup>c</sup> (0,11)	0,12 <sup>c</sup> (0,06)	0,13 <sup>c</sup> (0,06)	0,10 <sup>c</sup> (0,40)
T		0,10 <sup>c</sup> (0,00)	0,08 <sup>d</sup> (0,17)	0,06 <sup>c</sup> (0,11)	0,21 <sup>d</sup> (0,34)	0,27 <sup>d</sup> (0,36)	0,10 <sup>c</sup> (1,02)
P	18-24h	0,20 <sup>c</sup> (0,00)	0,19 <sup>c</sup> (0,52)	0,23 <sup>c</sup> (0,19)	0,29 <sup>c</sup> (0,06)	0,26 <sup>c</sup> (0,17)	0,23 <sup>c</sup> (0,47)
T		0,23 <sup>c</sup> (0,00)	0,18 <sup>c</sup> (0,17)	0,29 <sup>d</sup> (0,17)	0,38 <sup>d</sup> (0,32)	0,48 <sup>d</sup> (0,23)	0,29 <sup>c</sup> (1,34)

P = Padrão (base água) T= Teste (base extrato hidrossolúvel de arroz)

Valores representados por Médias (Desvio Padrão) das amostras em triplicatas.

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças entre valores de ( $p < 0,05$ ) dentro do grupo, segundo o teste t de Student.

( $p < 0,05$ ) entre as mesmas nos dias 21 e 28 (tempo 0h) e no dia 14 (tempo 18-24h).

De acordo com Otles e Cagindi (2003), o pH final da fermentação do kefir normalmente se encontra na faixa de 4,2 a 4,6. O valor médio total do pH das amostras T foi de  $3,58 \pm 0,26$  e das amostras P de  $3,50 \pm 0,18$ , no tempo de 18-24h, correspondendo assim a valores abaixo da faixa referenciada. Ambas as amostras apresentaram queda nas medidas de pH ao longo do tempo de fermentação. Segundo Farnworth e Mainville (2008, apud Montanuci, 2010), o pH final da fermentação do kefir sofre influência da quantidade de inóculo utilizado. Estes autores reportam que na proporção de 1:10 (grãos:leite) foram encontrados valores de pH entre 3,6 a 3,8, enquanto que, nas proporções de 1:30 e 1:50 (grãos:leite), foram encontrados pH de 4,4 a 4,6, respectivamente. Ou seja, quanto maior a proporção de grãos inoculados menores serão os valores de pH. Este resultado corrobora com o presente trabalho, considerando que o aumento

do peso do inóculo correspondeu ao aumento da massa colônica e, conseqüentemente, diminuição do pH.

Houve diferença significativa entre a acidez das amostras P e T no tempo 18-24h (Tabela 2), a partir da terceira semana. Entretanto, os valores médios de ambas as amostras se apresentaram dentro do preconizado pela legislação, conforme os padrões de identidade e qualidade (PIQ) para leites fermentados, na faixa de  $< 1,0$  g ácido láctico/100g, tendo em vista que a acidez do produto está relacionada com a formação do ácido láctico produzido durante o processo de fermentação (BRASIL, 2007; WESCHENFELDER, 2011).

## CONCLUSÃO

A massa colônica dos grãos de kefir, o kefiran, apresentou um comportamento positivo e se desenvolveu bem no extrato hidrossolúvel de arroz.

O pH e a acidez das amostras testes não diferiram dos valores

encontrados para o padrão, o que reforça a viabilidade do uso do extrato hidrossolúvel de arroz como substrato para a fermentação do kefir de água.

Os dados encontrados nesta pesquisa abrem espaço para melhor exploração do cultivo do kefir de água em outras variedades de extratos hidrossolúveis vegetais.

Considerando os indivíduos que não toleram ou não fazem o uso de produtos lácteos de origem animal, desenvolver um produto fermentado de kefir a partir de extrato hidrossolúvel de arroz, segundo os resultados obtidos no presente trabalho, demonstra ser viável.

## REFERÊNCIAS

- ABATH, TN. **Substitutos de leite animal para intolerantes à lactose**. 34f. TCC (Graduação em Nutrição) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília – DF, 2013.
- BENTO, RS; SCAPIM, MRS; AMBROSIO-UGRI, MCB. Desenvolvimento e

- caracterização de bebida achocolatada à base de extrato hidrossolúvel de quinoa e de arroz. **Rev Inst Adolfo Lutz**. São Paulo, v.71, n.2, p.317-23. 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Resolução nº 46**, de 23 de outubro de 2007. Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis>>. Acesso em 10 fev. 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 268, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para produtos protéicos de origem vegetal. **DOU**, Brasília, 23 de setembro de 2005. Seção 1.
- BRASIL. Portaria nº 398, de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. **DO** da República Federativa do Brasil. Brasília, 3 maio, 1999. Disponível em <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis>>. Acesso em 10 fev. 2016.
- COUCEIRO, P; SLYWITCH, E; LENZ, F. Padrão Alimentar da Dieta Vegetariana. **Einstein**, v.6, n.3, p.365-73, 2008.
- FARNWORTH, ER. Kefir: a complex probiotic. **Food Science and Technology**, Bulletin: Functional Foods. Canada, v.2, n.1, p.1-17, abr. 2005.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 1 ed digital. São Paulo. 2008. 1020 p. Disponível em: <[http://www.crq4.org.br/sms/files/file/analisealimentosial\\_2008.pdf](http://www.crq4.org.br/sms/files/file/analisealimentosial_2008.pdf)>. Acesso em: 18 de mar. 2016.
- LOPITZ-OTSOA, F et al. Kefir: a symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. **Rev Ibero americana de Micología**. Spain, v.23, n.2, p.67-74, 2006.
- MONTANUCI, FS. **Bebidas de Kefir com e sem inulina em versões integral e desnatada: elaboração e caracterização química, física, microbiológica e sensorial**. 2010. 142f. Dissertação (Pós-graduação em Ciências de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.
- OTLES, S; CAGINDI, O. Kefir: a probiotic dairy-composition nutritional and therapeutic aspects. **Pakistan Journal of Nutrition**. Turkey, v.2, n.2, p.54-59, 2003.
- SANTOS, FL. (Org.). **Kefir – Propriedades Funcionais e Gastronômicas**. Cruz das Almas/Bahia: Editora UFRB, 2015.123p.
- \_\_\_\_\_. Kefir: uma nova fonte alimentar funcional? **Diálogos & Ciência**, Salvador, v.10, p.1-14, 2012. Disponível em <http://www.dialogos.ftc.br/>. Acesso em: 10 fev. 2016.
- SCHNEEDORF, JM. Kefir d'aqua and its probiotic properties. In: Everlon Rigo-belo. (Org.). **Probiotics in Animals**. 1ed. Croácia: InTech, 2012, v. 1, p. 53-76.
- SILVA, TB. **Kefir como adjuvante dietoterápico nas doenças crônicas não transmissíveis: Um estudo de revisão**. 18f. TCC (Graduação em Nutrição) – Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia, Salvador-BA, 2013.
- SOARES JUNIOR, MS et al. Bebidas saborizadas obtidas de extratos de quinoa de arroz, de arroz integral e de soja. **Ciênc Agrotec**. Lavras, v.32 n.2, p.407-413, mar/abr 2010.
- TERRA, FM. **Teor de lactose em leites fermentados por grãos de kefir**. 62f. Monografia (Especialização em Tecnologia de Alimentos) - Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2007.
- WESCHENFELDER, S et al. Caracterização físico-química e sensorial de kefir tradicional e derivados. **Arq Bras Med Vet Zootec**. Porto Alegre, v.63, n.2, p.473-480, mar. 2011.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Food and Agriculture Organization for United Nations. **Codex Standard for Fermented Milks #243**. Adopted in 2003. Revision 2008, 2010. Disponível em: <<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/list-of-standards/en/>>. Acesso em: 12 de fev. 2016.

# Leia e assine a Revista Higiene Alimentar

UMA PUBLICAÇÃO DEDICADA AOS PROFISSIONAIS E EMPRESÁRIOS DA ÁREA DE ALIMENTOS

**Redação:**

Rua das Gardênia, nº 36 - Mirandópolis CEP 04047- 010 - São Paulo - SP  
 Fone: (15) 3527-1749 / (11) 5589-5732 e-mail: [redacao@higienealimentar.com.br](mailto:redacao@higienealimentar.com.br)  
[www.higienealimentar.com.br](http://www.higienealimentar.com.br)

