

Produção de bebida fermentada kefir de quinoa (*Chenopodium quinoa*) saborizada com cacau (*Theobroma cacao*) em pó

Pedro Paulo Lordelo Guimarães Tavares¹, Márcia Regina Silva¹, Luís Fernandes Pereira Santos¹, Itaciara Larroza Nunes², Karina Teixeira Magalhães-Guedes¹

¹ Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Salvador, BA, Brasil. E-mail: pp.lordelo@gmail.com (ORCID: 0000-0002-3621-9640); marciaufba@gmail.com (ORCID: 0000-0002-2363-7907); luisfernandes@ufba.br (ORCID: 0000-0002-3541-6810); gt-magalhaes@uol.com.br (ORCID: 0000-0001-5775-9331)

² Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Florianópolis, SC, Brasil. E-mail: itaciara@yahoo.com (ORCID: 0000-0003-10987139)

RESUMO: O objetivo do presente trabalho foi avaliar o uso de grãos de kefir açucarados como uma cultura iniciadora para a produção de uma nova bebida funcional à base de quinoa (*Chenopodium quinoa*) saborizada com cacau (*Theobroma cacao*) em pó. A fermentação foi realizada inoculando os grãos de kefir em extrato de quinoa e açúcar mascavo a 5%. Os frascos contendo os grãos de kefir e substrato foram incubados estaticamente a 28 °C durante 24 h. A microbiota de grãos de kefir açucarados foram identificadas previamente como espécies bacterianas do gênero *Lactobacillus*, *Leuconostoc* e *Acetobacter*, bem como as leveduras *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Lachancea* e *Kazachstania*. Após a fermentação, a bebida foi saborizada com cacau em pó. O produto foi positivamente qualificado pela análise sensorial (~75% de aceitação). Este estudo é o primeiro a relatar a produção de bebida kefir à base de quinoa. Este resultado abre perspectivas para esta aplicação inovadora de grãos de kefir açucarados para o desenvolvimento de bebidas à base de cereais.

Palavras-chave: fermentação; intolerância alimentar; probiótico; vegetarianismo

Production of quinoa (*Chenopodium quinoa*) kefir fermented beverage flavored with cocoa (*Theobroma cacao*) powder

ABSTRACT: The aim of the present work was to evaluate the use of the sugary kefir grains as a starter culture for the production of a new quinoa-based (*Chenopodium quinoa*) kefir beverage flavored with cocoa (*Theobroma cacao*) powder. Fermentation was performed by inoculating kefir grains in quinoa extract and 5% brown sugar. Flasks containing kefir grains and substrates were statically incubated at 28 °C for 24 h. The microbiota of sugary kefir grains were genera *Lactobacillus*, *Leuconostoc* and *Acetobacter*, as well as yeasts *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Lachancea* and *Kazachstania*. After fermentation, the beverage was flavored with cocoa powder. The product was positively qualified by sensory analysis (~75% acceptance). This study is the first to report the production of quinoa-based kefir beverage. This result opens up perspectives for this innovative application of sugary kefir grains for developing cereal-based beverages.

Key words: fermentation; food intolerances; probiotic; vegetarianism

Introdução

O kefir é uma bebida fermentada probiótica oriunda das montanhas caucasianas europeias (Almeida et al., 2011; Magalhães et al., 2011abc; Guedes et al., 2014). Os grãos de kefir são definidos como uma agregação de leveduras, bactérias ácido-láticas e bactérias ácido-acéticas que crescem em simbiose e são envolvidas por uma matriz de polissacarídeos, o kefiran (Magalhães et al., 2010ab; Marsh et al., 2013).

Aos grãos inoculados em água, dá-se o nome de grãos de kefir açucarado. Já para os inoculados em leite, nomeiam-se grãos de leite. Eles podem apresentar algumas diferenças na proporção da microbiota, já que o leite, por apresentar lactose, favorece a multiplicação de bactérias do ácido lático. Já o açúcar mascavo, devido ao alto conteúdo de sacarose, leveduras do gênero *Saccharomyces* é o grupo dominante (Miguel et al., 2011; Garofalo et al., 2015).

Em termos gerais, os *Lactobacillus* representam a maior parte da microbiota do grão de kefir, correspondendo cerca de 65-80% do total de micro-organismos, seguidos das leveduras e bactérias do ácido acético (Miguel et al., 2011). Em um período de 24 horas de fermentação, a massa de grãos chega a aumentar em cerca de 25% (Farnworth, 2005). Este crescimento acelerado possibilita que o kefir seja doado entre os seus produtores. Esta prática é bastante comum, principalmente nos países onde sua produção industrial ainda é pequena, como no Brasil (Fiorda et al., 2017).

As fermentações resultantes da ação microbiana produzem ácidos lático, acético e glicônico, álcool, gás carbônico, vitamina B12 e polissacarídeos que proporcionam as características organolépticas únicas do kefir, além de favorecer uma melhor digestibilidade pela presença de β -galactosidase microbiana no kefir que auxilia na digestão da lactose no intestino (Garrote et al., 2001; Puerari et al., 2012; Fiorda et al., 2017).

Pereira Filho & Furlan (2004) identificaram uma prevalência de 44,11% de intolerância a lactose em 1088 indivíduos da Cidade de Joinville (SC), Brasil. Este valor é considerado muito elevado, visto que a hipolactasia apresenta como consequência uma série de sintomas gastrointestinais desconfortáveis que podem ser evitados com uma alimentação adequada (Moriwac & Matioli, 2000). Alguns artigos já discutem o uso do kefir como fator promotor da remissão dos sintomas da hipolactasia (Hertzler & Clancy, 2003). Por não possuírem lactose, os extratos vegetais hidrossolúveis poderiam ser indicados para estes casos. Exemplos de vegetais capazes de fornecer extratos hidrossolúveis de qualidade são o arroz integral, quinoa de arroz e a quinoa (Bento et al., 2002).

A qualidade da proteína da quinoa é proporcional ao do leite de vaca (Ranhotra et al., 1993). Além disso, a quinoa é rica em óleos vegetais benéficos ao organismo e em tocoferol (Repo-Carrasco-Valência et al., 2003), portanto, a fermentação do seu extrato vegetal pode resultar em um produto de elevado valor nutricional. Todavia, é importante

que sejam incorporados elementos para favorecer sua aceitação, já que se trata de um produto não muito comum na alimentação brasileira. Opções de flavorizantes são o cacau em pó ou frutas que não sejam cítricas (Repo-Carrasco-Valência et al., 2003).

Frente à elevada prevalência de intolerância à lactose na população e tendo em vista os efeitos benéficos da fermentação do kefir e o valor nutritivo da quinoa, este trabalho apresenta-se com o objetivo de avaliar a composição nutricional e aceitabilidade sensorial de extrato vegetal de quinoa inoculado com grãos kefir açucarados, e saborizado com cacau em pó.

Material e Métodos

Material

O trabalho proposto trata-se de um estudo exploratório de caráter experimental que tem por objetivo avaliar a aceitabilidade e a composição nutricional de extrato vegetal de quinoa, inoculado com grãos de kefir de água, aromatizado com cacau em pó.

As matérias-primas utilizadas no presente estudo foram: grãos de quinoa, cacau em pó, açúcar mascavo e açúcar cristal orgânico adquiridos no comércio local e grãos de kefir de água obtidos do Laboratório de Probióticos da Escola de Nutrição, da Universidade Federal da Bahia – UFBA.

Métodos

Extração de DNA e PCR-DGGE análise do kefir açucarado

A análise microbiológica de grãos de kefir açucarados e bebida fermentada produzida, foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Federal de Lavras, Brasil, de acordo com Puerari et al. (2012). Para análise, 1 g de amostra de grãos de kefir açucarado e 1 mL de amostra da bebida fermentada, foram transferidos para um tubo de plástico e foi submetido a extração de DNA usando um kit de tecido Nucle-oSpin (Macherey-Nagel, Duren, Alemanha). A extração de DNA foi realizada de acordo com as instruções do fabricante. O DNA da comunidade bacteriana foi ampliado com primers 338fgc e 518r abrangendo a região V3 do gene 16S do rDNA. O DNA da comunidade de leveduras foi ampliado usando os primers NS3 e YM951r. A amplificação foi realizada de acordo com Magalhães et al. (2010a). Os produtos de PCR foram analisados pela PCR-DGGE utilizando o Bio-Rad DCode (Bio-Rad, Richmond, CA, EUA). As amostras foram aplicadas em géis de poliacrilamida a 8% (p/v) em 0,59 TAE. A separação ótima foi obtida com um gradiente de desnaturação de uréia-formamida 15-55% para a comunidade bacteriana e um gradiente de 12-50% para a comunidade de leveduras. A electroforese foi realizada durante 3 h a 200 V a 60°C, e os géis foram corados com SYBR-Green I (Molecular Probes, Eugene, OR, EUA) (1: 10 000 v / v) durante 30 min. Os géis foram visualizados em transluminador (uv) e as imagens foram capturadas usando uma câmera (Concord, EUA). As bandas de PCR-DGGE foram excisadas dos géis de acrilamida e os fragmentos foram

purificados usando o kit de extração de gel QIAEX II (Qiagen, Chatsworth, CA, EUA). O DNA recuperado de cada banda do PCR-DGGE foi reamplificado usando os primers 338f (sem grampo GC) e 518r para bactérias e NS3 (sem grampo GC) e YM951r para leveduras. Os amplicons de PCR foram então sequenciados (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). Pesquisas no GenBank (<http://www.Ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) foram realizadas para determinar a similaridade com as sequências de DNA ribossômico obtidas.

Obtenção do extrato vegetal de quinoa

O extrato de quinoa foi obtido por meio de adaptação da metodologia descrita por Bicudo et al. (2012) e Bento et al. (2012). A quinoa foi colocada de molho por um período de uma hora. Após isso, foi cozida por um período de dezessete minutos e em seguida os grãos foram lavados em água corrente e triturados com água filtrada em liquidificador na proporção de 1:2 (quinoa:água). O conteúdo sólido foi separado do líquido por meio de peneira fina plástica.

Cultivo dos grãos de kefir

Durante o período de sete dias (período de adaptação), os grãos foram adaptados em temperatura ambiente numa solução contendo extrato vegetal de quinoa e açúcar mascavo com troca de solução em um intervalo de vinte e quatro horas (Figura 1). Após o período de adaptação, os grãos foram inoculados (em triplicata) na proporção de 10% de uma solução contendo extrato vegetal de quinoa e açúcar mascavo a 5% para que pudessem fermentar por um período de vinte e quatro horas em temperatura ambiente.

Após o processo fermentativo, os grãos de kefir foram recuperados por uma peneira. O kefir pronto foi acrescido de cacau em pó na proporção de 1% do seu volume e

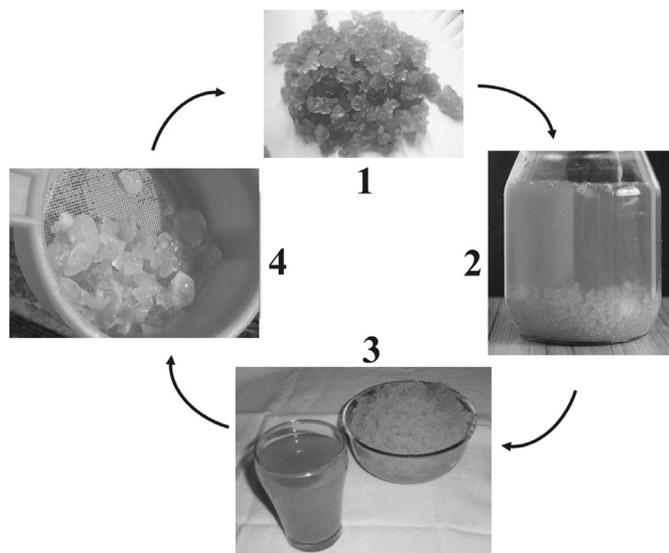


Figura 1. Cultivo do kefir. Os grãos de Kefir (1) são adicionados ao substrato e são deixados em repouso à temperatura ambiente para fermentação no período de 24 h (2). O substrato é então fermentado (3) após o qual são filtrados (4) e pronto para iniciar outro ciclo.

acondicionado em frascos de vidro para posterior análise físico-química e análise sensorial.

Análises químicas

Todas as análises físico-químicas foram realizadas de acordo com metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), exceto os lipídios, que foram analisados de acordo com metodologia adaptada de Bligh & Dyer (1959). O pH foi determinado por meio de potenciômetro (procedimento 017/IV), a acidez titulável foi realizada com solução alcalina de hidróxido de sódio 0,1 N e solução indicadora de fenolftaleína a 1% (procedimento 493/IV). A umidade foi realizada através de secagem direta da amostra em estufa a 105° Celsius (procedimento 012/IV). Para realização das cinzas, secou-se, inicialmente, a amostra para que pudesse ser incinerada em mufla a 550° Celsius (procedimento 018/IV). As proteínas foram avaliadas a partir do método kjedahl modificado (procedimento 037/IV), lipídios pelo método Bligh & Dyer (1959) e carboidratos por diferença dos demais componentes. As análises foram realizadas em triplicata no extrato de quinoa e no produto fermentado após 24h.

O valor calórico total foi calculado de acordo com a RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil, 2003).

Teste sensorial

O projeto deste artigo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia, sendo o número do parecer o seguinte: 1.759.169. O teste sensorial foi realizado com clientes (50 provadores não-treinados) de um comércio de produtos naturais da cidade de Salvador- Bahia. Os provadores não-treinados receberam uma amostra de 20mL de kefir de leite de quinoa fermentado por 24 horas, adicionado de cacau em pó a 1%. Os participantes receberam um formulário em que havia 4 atributos a serem avaliados: aparência, cor, textura e sabor, que deveriam ser pontuados de acordo com uma escala hedônica de 9 pontos (Teixeira, 2009).

Análise estatística

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada com o software Statistics Package for Social Science (SPSS), versão 24.0, com posterior aplicação do teste t Student, utilizando-se o nível de confiança de 95%.

Resultados e Discussão

Para determinar a composição total da microbiota nos grãos de kefir açucarados e bebida fermentada produzida, utilizou-se a análise PCR-DGGE. A região V3 para o gene 16S do rDNA em bactérias e região NS3 do gene 18S do rDNA em levedura foram amplificadas. Para determinar a composição da microbiota, as bandas individuais observadas nos perfis PCR-DGGE foram excisadas do gel de acrilamida e re-amplificadas para fornecer um modelo para sequenciamento. Após a análise no banco de dados

BLAST, os resultados das sequências mostraram 99-100% de identidade com as sequências obtidas no GenBank (Figura 2). A população microbiana identificada dos grãos e bebidas kefir de quinoa saborizada com cacau em pó, é representada por *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus parabuchneri*, *Lactobacillus kefir*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Leuconostoc citreum*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerantes*, *Lactobacillus buchneri*, *Acetobacter lovaniensis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis*, *Lachancea meyersii* e *Kazachstania aerobia*. Estudos anteriores mostraram que uma variedade de diferentes espécies de bactérias foram isoladas e identificadas em grãos de kefir de todo o mundo (Simova et al., 2002; Magalhães et al., 2010ab, Nalbantoglu et al., 2014; Peyer et al., 2016). A espécie *Acetobacter pasteurianus* também foi descrita em bebidas de kefir (Jianzhong et al., 2011). Leveduras contribuem para o aumento da qualidade organoléptica das bebidas kefir, promovendo um sabor refrescante e pungente (Simova et al., 2002; Magalhães et al., 2010ab; Jianzhong et al., 2011). A microbiota do kefir, bactérias e leveduras, são classificadas como probióticas e ajudam na manutenção da microbiota intestinal do indivíduo consumidor (Simova et al., 2002;

Magalhães et al., 2010ab, Jianzhong et al., 2011, Nalbantoglu et al., 2014; Peyer et al., 2016; Fiorda et al., 2017). A bebida de kefir à base de quinoa, apresenta a microbiota probiótica do kefir, e portanto pode ser considerada uma nova bebida com potencial probiótico. Além de a técnica de PCR-DGGE ter mostrado o controle microbiológico após o processo fermentativo, onde se pode observar, que não houve alteração da microbiota, portanto não apresentou micro-organismos indesejáveis e/ou patogênicos na bebida produzida.

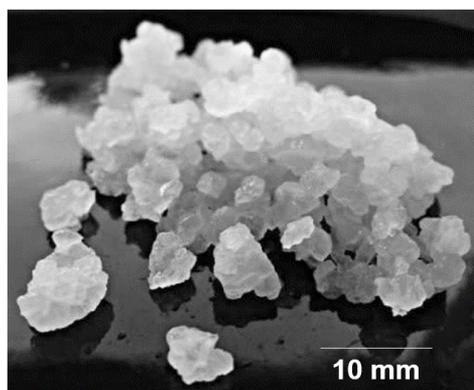
O extrato hidrossolúvel de quinoa obtido apresentou coloração clara, de aspecto opaco e consistência pouco densa. Após o período de fermentação de 24 horas, observou-se crescimento médio de 64% da massa dos grãos de kefir. Isto pode indicar que os grãos de kefir apresentaram boa adaptação ao substrato em que foram inoculados, possivelmente, devido à riqueza nutricional da quinoa (Repo-Carrasco-Valência et al., 2003).

Em relação aos valores médios de pH e acidez das amostras exibidos na Tabela 1, houve diferença significativa entre o extrato vegetal e o produto pronto fermentado por 24 horas. As mudanças no pH e acidez do extrato vegetal estão relacionadas com a formação de compostos orgânicos, como o ácido lático e o acético durante a fermentação, que são capazes de conferir proteção antimicrobiana ao produto (Farnworth, 2005).

Não foram encontrados artigos em relação à produção de kefir de extrato vegetal de quinoa em literatura para realizar comparação direta entre resultados. Otles & Cagindi (2003) indicam que o pH normal do kefir varia de 4,2 a 4,6, valores semelhantes ao encontrado neste estudo. Januário et al. (2016) sugerem que o pH abaixo de 4,0 pode comprometer aceitação do produto pelo consumidor. A acidez encontrada para o produto fermentado no presente trabalho esteve dentro da recomendação da legislação brasileira para leites fermentados, entre 0,5% a 1,5% (Brasil, 2000).

A determinação de cinzas ou resíduo mineral fixo é importante pois fornece informação sobre a riqueza em minerais do produto (Brasil, 2000). O valor médio encontrado de cinzas para o extrato vegetal foi próximo do descrito por Repo-Carrasco-Valência et al. (2003) em aproximadamente 0.30%.

A quinoa é considerada fonte de zinco, magnésio, cobre, ferro, manganês e potássio (Lopes et al., 2009). Por outro lado, houve aumento significativo do resíduo mineral fixo no produto fermentado por 24 horas, provavelmente, devido a adição do cacau em pó. Em relação ao teor de proteínas, houve diferença significativa entre as amostras (Tabela 1). Esta diferença significativa era esperada no presente estudo pois o kefir analisado foi acrescido de cacau em pó, que apresenta um valor proteico considerável, além do teor de proteína presente no kefir. Pellegrini et al. (2012) encontraram valores de proteína no leite bovino semelhantes aos verificados neste estudo para a bebida kefir de quinoa fermentada por 24 horas, o que pode indicar a viabilidade no que se refere a substituição de leites e derivados por kefir de



Grãos de kefir

Micro-organismos	Identidade (%)	Número de acesso
Bactérias		
<i>Lactobacillus paracasei</i>	98	AB368902.1
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	99	AB368914.1
<i>Lactobacillus kefir</i>	99	AB362680.1
<i>Lactobacillus lactis</i>	99	EU194346.1
<i>Lactobacillus casei</i>	99	EU626005.1
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	99	NR025880.1
<i>Leuconostoc citreum</i>	99	FJ378896.1
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	98	AB181950.1
<i>Lactobacillus buchneri</i>	99	FJ867641.1
<i>Acetobacter lovaniensis</i>	98	AB308060.1
Leveduras		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	100	EU649673.1
<i>Kluyveromyces lactis</i>	99	AJ229069.1
<i>Lachancea meyersii</i>	99	AY645661.1
<i>Kazachstania aerobia</i>	99	AY582126.1

Figura 2. Comunidade microbiana dos grãos de kefir e bebida fermentada kefir de quinoa com cacau, identificada por PCR-DGGE.

Tabela 1. Características físico-químicas da bebida kefir de quinoa, saborizada com cacau em pó a 1% e açúcar a 7,5%.

Amostras	Ph	Acidez	Características físico-químicas					Valor energético (kcal 100mL ⁻¹)
			Umidade (%)	Cinzas	Carboidratos	Lipídios (g 100mL ⁻¹)	Proteínas	
Extrato vegetal de quinoa	6,49 ^a ± 0,02	0,06 ^a ± 0,01	93,49 ^a ± 1,01	0,14 ^a ± 0,01	4,46 ^a ± 0,74	0,53 ^a ± 0,07	1,93 ^a ± 0,48	28,13 ^a ± 4,51
Bebida kefir de quinoa, saborizada com cacau em pó a 1% e açúcar a 7,5%	4,54 ^b ± 0,03	0,74 ^b ± 0,02	92,24 ^a ± 0,56	0,30 ^b ± 0,02	3,90 ^a ± 0,19	0,79 ^b ± 0,03	2,91 ^b ± 0,48	32,38 ^a ± 2,98

Valores representados por Médias ± Desvio Padrão das amostras em triplicata.

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre valores ($p < 0,05$), de acordo com o teste t student.

extrato vegetal de quinoa em relação ao teor proteico, visto que a qualidade da proteína da quinoa é semelhante ao do leite de vaca (Repo-Carrasco-Valência et al., 2003).

Em relação ao teor de carboidratos, houve um consumo destes pelos micro-organismos do kefir. O produto fermentado apresentou valores semelhantes de carboidratos, aos encontrados por Bicudo et al. (2012).

O extrato vegetal apresentou teor lipídico semelhante ao encontrado na bebida de quinoa produzida por Lopes et al. (2009). O óleo de quinoa é constituído, em grande parte, por ácido oleico, linoleico e α -linolênico (Lopes et al., 2009). Estes são elementos que apresentam modulação importante na resposta inflamatória do organismo. O tocoferol, presente no óleo deste vegetal, confere à quinoa um potencial antioxidante importante (Repo-Carrasco-Valência et al., 2003). Houve aumento estatisticamente significativo através da fermentação e adição de cacau em pó, produto que apresenta valor considerável de gordura em sua composição (Afoakwa et al., 2013). O teor lipídico da bebida kefir de quinoa fermentada por 24 horas está dentro do padrão de identidade para leites semi-desnatados (BRASIL, 2000).

Em relação ao valor energético, a bebida kefir de quinoa fermentada por 24 horas apresentou resultado discretamente maior que o extrato de quinoa e proporcional ao leite bovino desnatado (Repo-Carrasco-Valência et al., 2003).

A Figura 3 apresenta os resultados obtidos da análise sensorial da bebida kefir de quinoa saborizada com cacau em pó a 1% e açúcar a 7,5%. A bebida apresentou uma aceitação boa, com média dos atributos de 7,60 ($\pm 1,38$), de um total de 9 pontos, localizando-se entre os valores descritos na escala hedônica “gostei regularmente” e “gostei muito”. Este resultado foi semelhante ao encontrado por Montanuci & Garcia (2010) ao analisarem a aceitabilidade da bebida kefir de leite de vaca integral.

As adições de cacau em pó a 1% além do açúcar a 7,5% podem ter auxiliado na melhor aceitação do produto uma vez que o kefir apresenta sabor ácido, decorrente da ação de bactérias e leveduras (Otles & Cagindi, 2015), que pode não ser apreciado por aqueles que nunca tiveram contato prévio. Os flavonoides do cacau, além de conferir características sensoriais próprias, são responsáveis por alguns efeitos positivos no organismo, tais como elevação dos níveis de óxido nítrico e HDL séricos; diminuição da agregação de

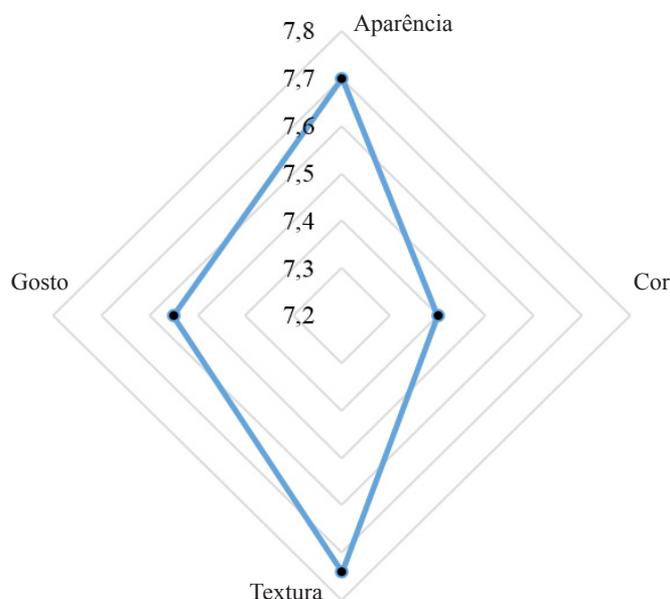


Figure 3. Características sensoriais da bebida kefir de quinoa, saborizada com cacau em pó a 1%, e açúcar a 7,5%.

plaquetas; além de função antioxidante e anti-inflamatória (Puerari et al., 2012). No entanto, pode se sugerir substituir o cacau em pó por outro aromatizante. Alternativas para melhorar o sabor podem se dar através da adição de frutas ao kefir, como realizado por Yilmaz et al. (2006).

A cor foi o atributo que apresentou menor pontuação para a bebida. A coloração escura conferida pelo cacau em pó pode ser um elemento que cause reação negativa entre os consumidores.

Conclusões

Os resultados alcançados indicaram que gêneros de bactérias, como *Lactobacillus*, *Leuconostoc* e *Acetobacter*, bem como leveduras, como *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Lachancea* e *Kazachstania*, foram os micro-organismos presentes nos grãos de kefir açucarados.

Os grãos de kefir açucarados foram capazes de fermentar o extrato de quinoa e produzir bebidas kefir com potencial funcional, que satisfaz condições relacionadas à nutrição, como alergias e má absorção, intolerâncias alimentares e opções de estilo de vida, por exemplo o vegetarianismo.

O uso de kefir como culturas iniciadoras oferece uma ferramenta promissora para inovação e diversificação de produção de bebidas fermentadas à base de cereais.

A bebida kefir de quinoa saborizada com cacau em pó, produzida neste estudo, apresenta nova opção de mercado.

Agradecimentos

Os autores agradecem as agências brasileiras de fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Literatura Citada

- Afoakwa, E.O.; Quao, J.; Takrama, J.; Budu, A.S. Chemical composition and physical quality characteristics of ghanaiian cocoa beans as affected by pulp pre-conditioning and fermentation. *Journal of Food Science and Technology*, v. 6, n. 50, p. 1097-1105, 2013. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0446-5>.
- Almeida, F.A.; Ângelo, F.F.; Silva, S.L.; Silva, S.L. Análise sensorial e microbiológica de kefir artesanal produzido a partir de leite de cabra e leite de vaca. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 66, n. 378, p. 51-56, 2011. <https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/155/163>. 22 Jun. 2017.
- Bento, R.S.; Scarpim, M.R.S.; Ambrosio-Ugri, M.C.B. Desenvolvimento e caracterização de bebida achocolatada à base de extrato hidrossolúvel de quinoa e de arroz. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 71, n. 2, p. 317-323, 2012. http://www.ial.sp.gov.br/resources/insituto-adolfo-lutz/publicacoes/rial/rial71_2_completa/1470.pdf. 10 Jun. 2017.
- Bicudo, M.O.P.; Vasques, É.C.; Zuim, D.R.; Candido, L.M.B. Elaboração e caracterização de bebida fermentada à base de extrato hidrossolúvel de quinoa com polpa de frutas. *B. CEPPA*, v. 30, n. 1, p. 19-26, 2012. <https://doi.org/10.5380/cep.v30i1.28468>.
- Bligh, E.G.; Dyer, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, v. 37, n.8. 1959. <https://doi.org/10.1139/o59-099>.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e da Reforma Agrária. Resolução nº 5, de 13 de novembro de 2000. Oficializa os padrões de identidade e qualidade (PIQ) de leites fermentados. *Diário Oficial da União*, v. 139, n.1-E, seção 1, p.19-24, 2001.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova o regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. *Diário Oficial da União*, v. 140, n. 251, seção 1, p. 33-44, 2003.
- Farnworth, E.R. Kefir: a complex probiotic. *Food Science and Technology, Bulletin: Functional Foods*, v. 2, n. 1, p. 1-17, 2005. <https://doi.org/10.1616/1476-2137.13938>.
- Fiorda, F.A.; de Melo Pereira, G. V.; Thomaz-Soccol, V.; Rakshit, S.K.; Pagnoncelli, M.G.B.; Vandenberghe, L.P.S.; Soccol, C.R. Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation - A review. *Food Microbiology*, v. 66, p. 86-95, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.04.004>.
- Garofalo, C.; Osimani, A.; Milanovic, V.; Aquilanti, L.; De Filippis, F.; Stellato, G.; Di Mauro, S.; Turchetti, B.; Buzzini, P.; Ercolini, d. Bacteria and yeast microbiota in milk kefir grains from different Italian regions. *Food Microbiology*, v. 49, p. 123-133, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.01.017>.
- Garrote, G.L.; Abraham, A.G.; De Antoni, G.L. Chemical and microbiological characterization of kefir grains. *Journal of Dairy Research*, v. 68, n. 4, p. 639-652, 2001. <https://doi.org/10.1017/S0022029901005210>.
- Guedes, J.D.S.; Magalhães-Guedes, K.T.; Dias, D.R.; Schwan, R.F.; Braga-Jr., R.A. Assessment of biological activity of kefir grains by laser biospeckle technique. *African Journal of Microbiology Research*, v. 8, n. 27, p. 2639-2642, 2014. <https://doi.org/10.5897/AJMR2014.6852>.
- Hertzler, S.R.; Clancy, S.M. Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. *Journal of the American Dietetic Association*, v. 103, n. 5, p. 582-587. 2003. <https://doi.org/10.1053/jada.2003.50111>.
- Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.
- Januário, J.G.B.; Lima, T.M.; Portella, D.A.C.; Januário, C.B.; Klososki, S.J.; Pimentel, T.C. Desenvolvimento de bebidas kefir: padronização dos parâmetros de processo. *Brazilian Journal of Food Research*, v. 7, n. 2, p. 80-95, 2016. <https://doi.org/10.3895/rebrapa.v7n2.3630>.
- Jianzhong, Z.; Xiaoli, L.; Hanhu, J.; Mingsheng, D. Analysis of the microflora in Tibetan kefir grains using denaturing gradient gel electrophoresis. *Food Microbiology*, v. 26, n. 8, p. 770-775, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.04.009>.
- Lopes, C.O.; Dessimoni, G.V.; Silva, M.C.; Vieira, G.; Pinto, N.A.V.D. Aproveitamento, composição nutricional e antinutricional da farinha de quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Alimentos e Nutrição*, v. 20, n. 4, p. 669-675, 2009. <https://www.researchgate.net/publication/49600204>. 12 Jun. 2017.
- Magalhães, K.T.; Dias, D.; Pereira, G.V.M.; Oliveira, J.M.; Domingues, L.; Teixeira, J.Á.; Silva, J.B.A.; Schwan, R.F. Chemical composition and sensory analysis of cheese whey-based beverages using kefir grains as starter culture. *International Journal of Food Science Technology*, v. 46, n. 4, p. 871-878, 2011a. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02570.x>.
- Magalhães, K.T.; Dragone, G.; Pereira, G.V.M.; Oliveira, J.M.; Domingues, L.; Teixeira, J.Á.; Silva, J.B.A.; Schwan, R.F. Comparative study of the biochemical changes and volatile compounds during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. *Food Chemistry*, v. 126, n. 1, p. 249-253, 2011b. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.012>.
- Magalhães, K.T.; Pereira, G.V.M.; Campos, C.R.; Dragone, G.; Schwan, R.F. Brazilian kefir: structure microbial communities and chemical composition. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 42, n. 2, p. 693-702, 2011c. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000200034>.
- 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 and Biotechnology*, v. 26, n. 7, p. 1241-1250, 2010a. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0294-x>.

- Magalhães, K.T.; Pereira, M.A.; Nicolau, A.; Dragone, G.; Domingues, L.; Teixeira, J.A.; Silva, J.B.A.; 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, n. 22, p. 8843-8850. 2010b. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.083>.
- Marsh, A.J.; O'Sullivan, O.; Hill, C.; Ross, R.P.; Cotter, P.D. Sequencing-Based Analysis of the Bacterial and Fungal Composition of Kefir Grains and Milks from Multiple Sources. *PLoS ONE*, v. 8, n. 7, p. 1-11, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069371>.
- Miguel, M.G.C.P.; Cardoso, P.G.; Magalhães, K.T.; Schwan, R.F. Profile of microbial communities present in tibico (sugary kefir) grains from different Brazilian states. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 27, n. 8, p. 1875-1884, 2011. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0646-6>.
- Montanuci, F.D.; Garcia, S. Caracterização sensorial e aceitação de kefir adoçado integral e desnatado com inulina. *Brazilian Journal of Food Technology*, 6^o SENSIBER, p.79-80, 2010. <https://doi.org/10.4260/BJFT201114E000110>.
- Moriwac, C.; Matioli, G. Influência da β -galactosidase na tecnologia do leite e na má digestão da lactose. *Arquivo de Ciências da Saúde da Unipar*, v. 4, n. 3, p. 283-290, 2000. <http://revistas.unipar.br/index.php/saude/article/view/1042>. 22 Jun. 2017.
- Nalbantoglu, U.; Cakar, A.; Dogan, H.; Abaci, N.; Ustek, D.; Sayood, K.; Can, H. Metagenomic analysis of the microbial community in kefir grains. *Food Microbiology*, v. 41, p. 42-51, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.01.014>.
- 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. <https://doi.org/10.3923/pjn.2003.54.59>.
- Pellegrini, L.G.; Cassanego, D.B.; Gusso, A.P.; Mattanna, P.; Silva, S.V. Características físico-químicas de leite bovino, caprino e ovino. *Revista Synergismus scyentifica*, v. 7, n. 1, 2012. <http://revistas.utfpr.edu.br/pb/index.php/SysScy/article/view/1512/974>. 02 Jul. 2017.
- Pereira Filho, D.; Furlan, S.A. Prevalência de intolerância à lactose em função da faixa etária e do sexo: experiência do Laboratório Dona Francisca, Joinville (SC). *Revista Saúde e Ambiente*, v. 5, n. 1, p. 24-30, 2004. http://antigo.univille.br/arquivos/1572_V5n1Prevalencia.pdf. 12 Jun. 2017.
- Peyer, L.C.; Zannini, E.; Arendt, E. Lactic acid bacteria as sensory biomodulators for fermented cereal-based beverages. *Trends in Food Science & Technology*, v. 54, p. 17-25, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.05.009>.
- Puerari, C.; Magalhães, K.T.; Schwan, R.F. New cocoa pulp-based kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. *Food Research International*, v. 48, n.2, p. 634-640, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.06.005>.
- Ranhotra, G.S.; Gelroth, J.A.; Glaser, B.K.; Lorenz, K.J.; Johnson, D.L. Composition and protein nutritional quality of quinoa. *Cereal Chemistry*, v. 70, n. 3, p. 303-305, 1993. https://www.aacnet.org/publications/cc/backissues/1993/Documents/70_303.pdf. 22 Jun. 2017.
- Repo-Carrasco-Valência, R.A.M.; Espinoza, C.; Jacobsen, S.E. Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*). *Food Reviews International*, v. 19, n.1-2, p. 179-189, 2003. <https://doi.org/10.1081/FRI-120018884>.
- Simova, E.; Beshkova, D.; Angelov, A.; Hristozova, T.S.; Frengova, G.; Spasov, Z. Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, v. 28, n. 1, p. 1-6, 2002. <https://doi.org/10.1038/sj/jim/7000186>.
- Teixeira, L.V. Análise sensorial na indústria de alimentos. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 64, n. 366, p. 12-21, 2009. <https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/70/76>. 01 Jul. 2017.
- Yilmaz, L.; Yilsay, T.O.; Bayazit, A.A. The sensory characteristics of berry-flavoured kefir. *Czech Journal of Food Sciences*, v. 24, n. 1. p. 26-32. 2006. <https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/50140.pdf>. 29 Jun. 2017.