

MODELAGEM DE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO KEFIR DE LEITE DE VACA USANDO UM PLANEJAMENTO CENTRAL COMPOSTO

Luan Gabriel Batista Costa¹, Ricardo Henrique de Lima Leite², Edna Maria Mendes Aroucha³

Resumo: Foram realizadas análises físico-químicas no kefir de leite com objetivo de estudar o comportamento de fatores que caracterizam a qualidade do kefir, como pH, acidez e lactose, em função de variáveis independentes como a concentração inicial de grãos (5%, 10% e 15%), tempo de fermentação (12h, 30h e 48h) e temperatura (15°C, 25°C e 35°C). O experimento foi conduzido segundo um delineamento central composto aplicável à metodologia de superfície de resposta. Os resultados foram tratados por análise de regressão múltipla para o ajuste de modelos matemáticos de segunda ordem. O experimento mostrou-se eficaz, atingindo modelos que podem vir a ser utilizados para prever o comportamento das variáveis de resposta em função dos fatores estudados. Foi determinado que temperaturas intermediárias de 22 a 28 °C são ideais para um maior crescimento celular dos grãos e a acidez aumenta na medida que a concentração, o tempo de fermentação e a temperatura aumentam, nos seus valores máximos a acidez atingiu 273,54 °D e nos mínimos 29,61 °D indicando uma maior produção de ácido láctico pelo consumo de lactose. O pH e a lactose tendem a reduzir com o aumento nos valores dos fatores estudados, apresentando valores de 2,90 a 5,02% de glicose. Concluiu-se que as variáveis independentes, principalmente a temperatura, possuem alta influência em fatores que caracterizam o kefir de leite.

Palavras-chave: Probiótico; Planejamento Experimental; Superfícies de Isorespostas; Lacticídeos.

1. INTRODUÇÃO

O kefir, também conhecido como quefir ou cogumelos tibetanos, é uma bebida fermentada tradicional, que tem origem nas montanhas do Cáucaso, e é amplamente consumida no leste europeu, na Rússia e no sudoeste da Ásia. O termo kefir é originário da palavra turca *keyif*, que significa “bem-estar” após a ingestão [1,2]. É relatado que houve um aumento significativo no consumo da bebida em muitos países, pois, a mesma, possui uma longa história de efeitos benéficos à saúde [1,3]. Dentre os benefícios associados à bebida, estão: a estimulação do sistema imunológico, equilíbrio da microbiota intestinal, atividade antimicrobiana, atividade antitumoral, atividade anti-inflamatória e propriedades antialérgicas [4,5,6].

Tradicionalmente, a produção de kefir é feita através da inoculação dos grãos de kefir no leite durante 18-24 h, fermentando a uma temperatura de 20 a 25 °C. No final do processo, após a fermentação, os grãos são recuperados por peneiração para serem reutilizados em uma nova fermentação [1,5]. O sabor azedo, a acidez, a efervescência e o baixo teor alcoólico que caracterizam o quefir, ocorrem devido à formação de uma série de compostos no processo fermentativo, incluindo ácido láctico, ácido acético, CO₂, etanol e compostos aromáticos. [1,5].

Os grãos de kefir, utilizados para produção da bebida, são compostos de uma matriz polissacarídica, denominada kefirana que é formada durante o crescimento celular em condições aeróbias, na qual uma complexa microbiota de várias espécies de leveduras, bactérias ácido-láticas e acetobactérias coexiste em uma relação simbiótica [4,7]. A sua composição microbiana varia conforme a região de origem, o tempo de utilização e as técnicas usadas na sua manipulação [8]. Os grãos (Figura 1) são elásticos, possuem uma textura viscosa e firme, apresentam tamanhos entre 0,5-3,5cm de diâmetro, e sua cor varia de branco a branco amarelado [1,8].



Figura 1. Estrutura macroscópica dos grãos de kefir [1]

No Brasil, os conhecimentos sobre essa bebida, bem como os benefícios de sua inclusão em uma dieta regular, não são muito difundidos, limitando-se sua utilização a residências particulares para fermentação de leite. Embora comercializadas em outros países, as culturas de kefir no Brasil não estão comercialmente disponíveis e são obtidas por doação de pessoa para pessoa [1,4].

Este trabalho teve como objetivo utilizar métodos físico-químicos de análise para estudar e determinar o comportamento de características que influenciam diretamente na qualidade do kefir de leite, como pH, acidez e teor de lactose, em relação a variação de temperatura, concentração e tempo de fermentação.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Tecnologia de Alimentos do Centro de Engenharias da Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

2.1. Matéria-prima

Os grãos de kefir que foram utilizados para produção do kefir são de uma única população, manipulados de forma tradicional e que foram obtidos através de doação. O leite utilizado foi o pasteurizado integral, obtido comercialmente, cujo as características físico-químicas, obtidas através de análises, estão descritas na Tabela 1.

Dados do leite utilizado (Ponto 0)			
Gordura (%)	2,50 ± 0,19	Sais (%)	0,72 ± 0,02
Sólidos não gordurosos (%)	8,57 ± 0,27	pH	6,79 ± 0,06
Densidade (Kg/m ³)	1031,50 ± 0,93	Acidez titulável (°D)	11,99 ± 1,24
Proteínas (%)	3,19 ± 0,22	Lactose (%)	5,19 ± 0,48
Ponto de Congelamento (°C)	0,56 ± 0,10		

Tabela 1. Características físico-químicas do leite utilizado (Autoria própria)

2.2. Metodologia

2.2.1. Preparação das amostras

As amostras foram preparadas em recipientes de vidro, previamente esterilizados, os grãos de kefir foram pesados e inoculados em 150g de leite pasteurizado integral, em diferentes concentrações (5%, 10% e 15%) e submetidos a tempos de fermentação diferentes (12h, 30h e 48h). Assim, foram preparados três bancos de amostras iguais, conforme a Figura 2, para serem tratados em temperaturas diferentes, um a 15 °C, outro a 25 °C e um terceiro a 35 °C, se adequando ao delineamento experimental planejado.

O leite utilizado para preparação do kefir foi previamente fervido e desnatado. Ambos os componentes, leite e grãos de kefir, foram pesados em balança analítica, antes e após o tempo de fermentação, e as amostras foram passadas através de peneiras para separar os grãos do kefir líquido para que fossem feitas as análises a posteriori.



Figura 2. Banco de amostras (Autoria própria)

2.2.2. Delineamento experimental

As concentrações de grãos de kefir (x_1), o tempo de fermentação (x_2) e a temperatura (x_3) foram estabelecidas como variáveis independentes estudadas em três níveis (-1,0,1), segundo um planejamento central composto. Os níveis de variação e as variáveis independentes estão apresentados na Tabela 2. No delineamento experimental foram realizados dezenove experimentos, com cinco repetições no ponto central, apresentados na Tabela 3 [8,9].

Variáveis independentes	Níveis de variação		
	-1	0	1
x_1 - Concentração (%)	5	10	15
x_2 - Tempo de fermentação (h)	12	30	48
x_3 - Temperatura (°C)	15	25	35

Tabela 2. Variáveis independentes e níveis de variação (Autoria própria)

Variáveis independentes (x_i)			
Experimento	Concentração (%)	Tempo (h)	Temperatura (°C)
1	5 (-1)	12 (-1)	15 (-1)
2	5 (-1)	48 (+1)	15 (-1)
3	10 (0)	30 (0)	15 (-1)
4	15 (+1)	12 (-1)	15 (-1)
5	15 (+1)	48 (+1)	15 (-1)
6	5 (-1)	30 (0)	25 (0)
7	10 (0)	12 (-1)	25 (0)
8	10 (0)	48 (+1)	25 (0)
9	15 (+1)	30 (0)	25 (0)
10	5 (-1)	12 (-1)	35 (+1)
11	5 (-1)	48 (+1)	35 (+1)
12	10 (0)	30 (0)	35 (+1)
13	15 (+1)	12 (-1)	35 (+1)
14	15 (+1)	48 (+1)	35 (+1)
15	10 (0)	30 (0)	25 (0)
16	10 (0)	30 (0)	25 (0)
17	10 (0)	30 (0)	25 (0)
18	10 (0)	30 (0)	25 (0)
19	10 (0)	30 (0)	25 (0)

Tabela 3. Delineamento experimental para três variáveis e três níveis. (Autoria própria).

2.3. Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram feitas nas amostras de kefir e no leite usado para fermentação (ponto 0) de acordo com métodos oficiais brasileiros para análise de alimentos de origem animal, sendo eles, a acidez titulável e o pH pelo método potenciométrico e a lactose pelo método Lane-Eynon [11,12]. As amostras de kefir foram caracterizadas em relação ao pH, acidez, lactose e ganho de massa dos grãos.

Propriedades do leite fluido

O leite no ponto zero foi analisado de duas maneiras, seguindo os métodos para análise de alimentos, utilizando um potenciômetro para análise do pH e da acidez e o método de Lane-Eynon para análise de lactose, e pelo analisador de leite digital Master Mini, que analisa gordura pelo método de Gerber, o extrato seco desengordurado (ESD), dado pelo extrato seco total (obtido por gravimetria) menos a gordura, a densidade utilizando um Termolactodensímetro, a proteína, dada pelo ESD multiplicado a 0,367, os sais, obtido pelo ESD multiplicado a 0,083, a água adicionada e o ponto de congelamento, os resultados são emitidos conforme mostrado na Figura 3.



Figura 3. Analisador digital de leite (Autoria própria)

Sendo os resultados:

G: Gordura	P: Proteína
S: Sólidos-Não-Gordurosos	L: Lactose
D: Densidade	SI: Sólidos
PC: Ponto de congelamento	Ag: Água adicionada

pH

Para a análise do pH foram pesados 10 g da amostra em um béquer de 100 mL. A amostra foi então diluída em 50 mL de água destilada, posteriormente realizou-se a medida diretamente no pHmetro digital (Tecnal TEC-3MP).

Acidez em leite fluido e fermentado

Foram pesados 10g da amostra e diluídos em 50 mL de água destilada, titulou-se com solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L sob agitação magnética, até que se atingisse o ponto final de titulação, detectável pelo pH de 8,3 medido pelo pHmetro digital (Tecnal TEC-3MP). A acidez titulável foi determinada pela Equação 1.

$$\% \text{ ácido láctico} = \frac{(v \times f \times 0,9)}{m} \quad (1)$$

v = volume da solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L gasto, em mL;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1mol/L;

0,9 = fator de conversão para ácido láctico;

m= massa da amostra, em gramas.

Observação: Para expressar o resultado em graus Dornic, multiplicar a % de ácido láctico por 100.

Lactose em leite fluido e fermentado pelo método de Lane-Eynon

Antes da realização da análise, se faz necessária a padronização da solução do titulante, para a padronização, foi preparada uma solução 0,5 % de glicose (0,5 g glicose/ 100 mL água destilada) e colocada em uma bureta de 50 mL. Separadamente, foi preparada uma solução com 5 mL de solução de Fehling A, 5 mL de solução de Fehling B e 40 mL de água destilada. Aqueceu-se a solução até a ebulição e começou-se a titular com a solução de glicose, adicionou-se uma gota de solução de azul de metileno 1% e continuou-se titulando até ocorrer a mudança de cor do indicador, passando de azul para vermelho tijolo conforme as Figuras 5 e 6. O título da solução de Fehling é obtido pela Equação 2.

$$T = \frac{(V \times m)}{100} \quad (2)$$

T= Título da solução de Fehling;

V= volume gasto de glicose na titulação, em mL;

m= massa da glicose, em gramas

Para a análise do leite, pesou-se 10 g de amostra em um béquer de 100 mL e com auxílio de água destilada, transferiu-se para um balão de 250 mL, pipetou-se 5 mL de ferrocianeto de potássio a 15% e 5 mL de acetato de zinco a 30% e completou-se o volume do balão com água destilada. Após sedimentar e filtrar em papel filtro, o filtrado é transferido para uma bureta de 50 mL. Separadamente, foi preparada uma solução com 5 mL de solução de Fehling A, 5 mL de solução de Fehling B e 40 mL de água destilada. Aqueceu-se a solução até a ebulição e começou-se a titular com o filtrado, se adicionou uma gota de solução de azul de metileno 1% e continuou-se

titulando até que a mudança de cor do indicador ocorresse, passando de azul para vermelho tijolo, conforme as figuras 4 e 5.



Figura 4. Titulação, método Lane-Eynon (Autoria própria) Figura 5. Ponto final de titulação (Autoria própria)

A percentagem de glicídios redutores expressa em lactose é dada pela Equação 3.

$$\% \text{ glicídios redutores em lactose} = \frac{[100 \times 250 \times (T/2) \times 1,39]}{V \times m} \quad (3)$$

T = título da solução de Fehling;

V = volume de amostra gasto na titulação, em mL;

m = massa da amostra em gramas;

1,39 = fator de conversão da glicose para lactose

Ganho de massa dos grãos de kefir

A medida que a fermentação ocorre, os grãos de kefir vão se reproduzindo, aumentando sua massa. Logo, após serem separados do kefir, os grãos de kefir foram pesados, em uma balança analítica, antes e após a fermentação. O cálculo do ganho de massa é dado em porcentagem, pela Equação 4 [13].

$$\text{Ganho de massa}(\%) = \left(\frac{m_f - m_i}{m_i} \right) \times 100 \quad (4)$$

m_f = massa final pós fermentação

m_i = massa inicial pré fermentação

2.4. Análise estatística

Os resultados das variáveis independentes do experimento foram tratados por análise de regressão múltipla, para se obter os parâmetros a 5% de significância, relacionados às variáveis isoladas, às interações e aos termos quadráticos. Logo, tornando possível descrever os efeitos das variáveis independentes com modelos (equações) matemáticos de segunda ordem e fazer a análise das superfícies de respostas. As análises dos dados foram realizadas pelo software Statistica® 13.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O pH (y_1), a acidez (y_2), a lactose (y_3) e o ganho de massa (y_4) foram estabelecidas como variáveis dependentes, para as quais, por meio de análises físico-químicas, foram obtidos os respectivos valores em função das variáveis independentes x_1 (concentração de grãos), x_2 (tempo de fermentação) e x_3 (temperatura) a partir do delineamento

experimental. Os resultados estão apresentados na tabela 4.

Variáveis independentes (xi)				Variáveis dependentes (yi)			
Experimento	Concentração (%)	Tempo (h)	Temperatura (°C)	pH	Acidez (°D)	Lactose (%)	Ganho de massa (%)
1	5 (-1)	12 (-1)	15 (-1)	6,06	29,61	5,02	0,993
2	5 (-1)	48 (+1)	15 (-1)	4,67	83,31	4,32	6,554
3	10 (0)	30 (0)	15 (-1)	4,75	72,72	4,54	8,019
4	15 (+1)	12 (-1)	15 (-1)	4,72	73,47	4,87	2,388
5	15 (+1)	48 (+1)	15 (-1)	4,35	117,21	4,2	8,448
6	5 (-1)	30 (0)	25 (0)	4,17	106,83	4,37	11,401
7	10 (0)	12 (-1)	25 (0)	4,72	70,31	4,71	12,185
8	10 (0)	48 (+1)	25 (0)	3,9	142,43	3,81	16,656
9	15 (+1)	30 (0)	25 (0)	3,87	146,07	3,84	10,5
10	5 (-1)	12 (-1)	35 (+1)	4,36	76,3	3,67	4,941
11	5 (-1)	48 (+1)	35 (+1)	3,68	207,95	3,27	10,8
12	10 (0)	30 (0)	35 (+1)	3,76	180,96	3,31	6,222
13	15 (+1)	12 (-1)	35 (+1)	3,83	141,39	3,17	2,393
14	15 (+1)	48 (+1)	35 (+1)	3,49	273,54	2,9	6,246
15	10 (0)	30 (0)	25 (0)	3,99	128,7	4	15,264
16	10 (0)	30 (0)	25 (0)	3,97	129,72	4,19	10,302
17	10 (0)	30 (0)	25 (0)	3,9	130,19	4,3	10,809
18	10 (0)	30 (0)	25 (0)	3,98	127,16	4,11	8,222
19	10 (0)	30 (0)	25 (0)	3,99	126,81	4,11	13,66

Tabela 4. Delineamento experimental para duas variáveis e três níveis com os respectivos resultados encontrados para as respostas (Autoria própria).

Análise do pH

Nas figuras 6, 7 e 8 é apresentada, na forma de gráficos de superfícies de resposta, a variação do pH em função da concentração de grãos (x_1), do tempo (x_2) e da temperatura (x_3).

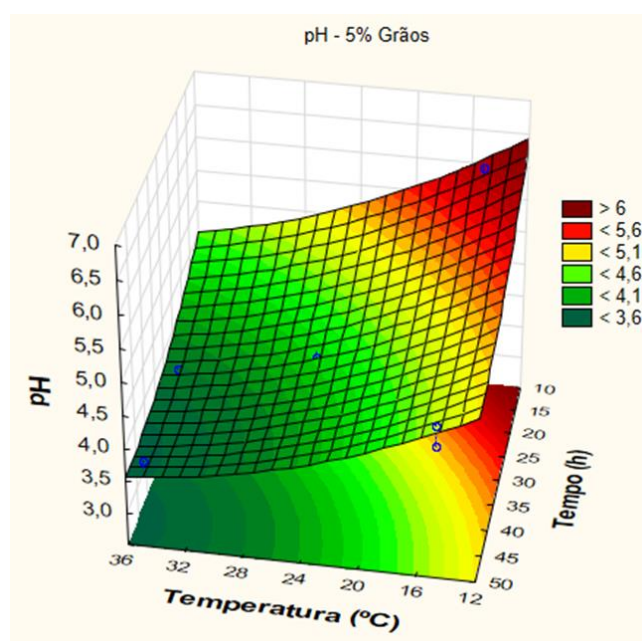


Figura 6. Efeito das variáveis x_2 e x_3 no pH quando $x_1=5\%$. (Autoria própria)

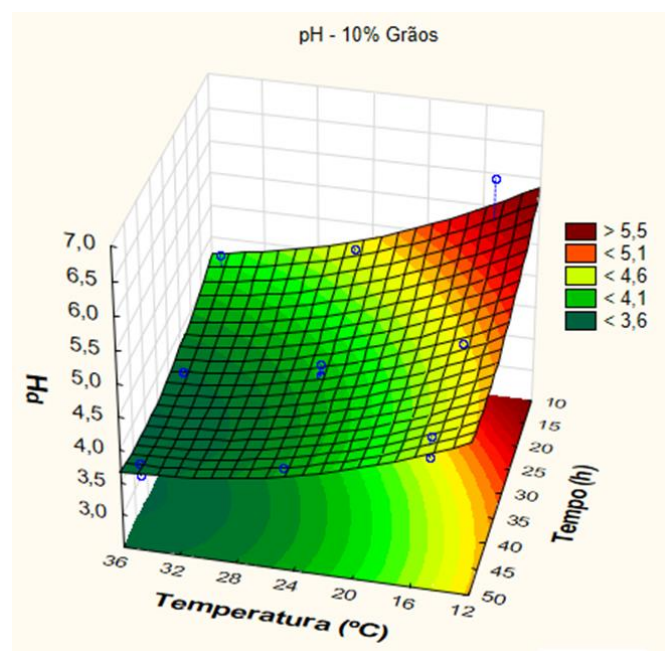


Figura 7. Efeito das variáveis x_2 e x_3 no pH quando $x_1=10\%$. (Autoria Própria)

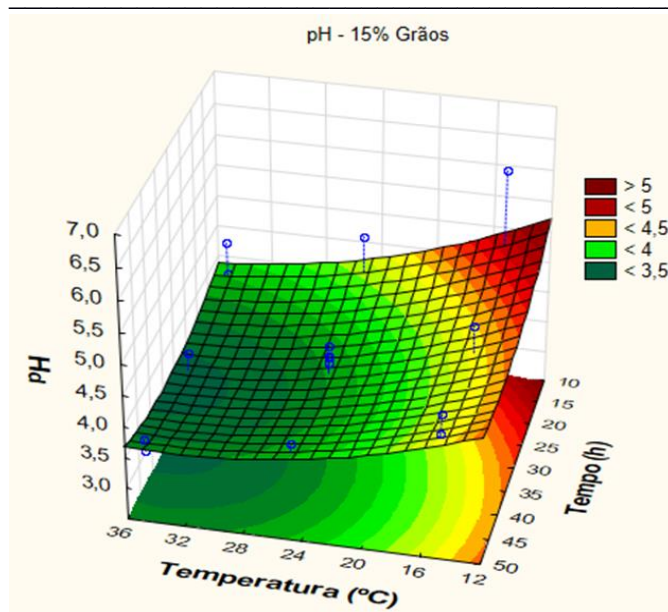


Figura 8. Efeito das variáveis x_2 e x_3 no pH quando $x_1 = 15\%$. (Autoria própria)

É notado que os comportamentos dos gráficos são semelhantes, em todas as concentrações de grãos, o pH diminui à medida que o tempo de fermentação aumenta. O comportamento se assemelha aos relatados por Magalhães et al [4], em que o pH de 6,61 diminuiu para 4,42, após 24 h e por Nogueira et al [13], cujo o pH diminuiu de 6,5 para 5,1, após 24 h. Assim como o tempo, o aumento da temperatura auxilia na diminuição do pH, chegando a um pico mínimo de pH quando a temperatura e o tempo de tratamento são máximos.

As diferenças apontadas pelos gráficos, ocorrem por causa da variação da concentração de grãos, à medida que a concentração aumenta, é notado que o pH diminui. Vemos que a Figura 6 apresenta valores máximos de pH maiores que a Figura 7, que possui valores maiores que a Figura 8, sendo eles maiores que 6, que 5,5 e que 5 respectivamente. Porém a medida que a temperatura e o tempo aumentam, as figuras vão apresentando valores de pH semelhantes, igual a 3,5

Para melhor visualização da significância estatística do efeito de cada variável, a Figura 9, apresenta um gráfico de Pareto, para a análise dos efeitos das variáveis independentes na resposta, e confirma a significância da temperatura, do tempo, da concentração e das interações entre eles.

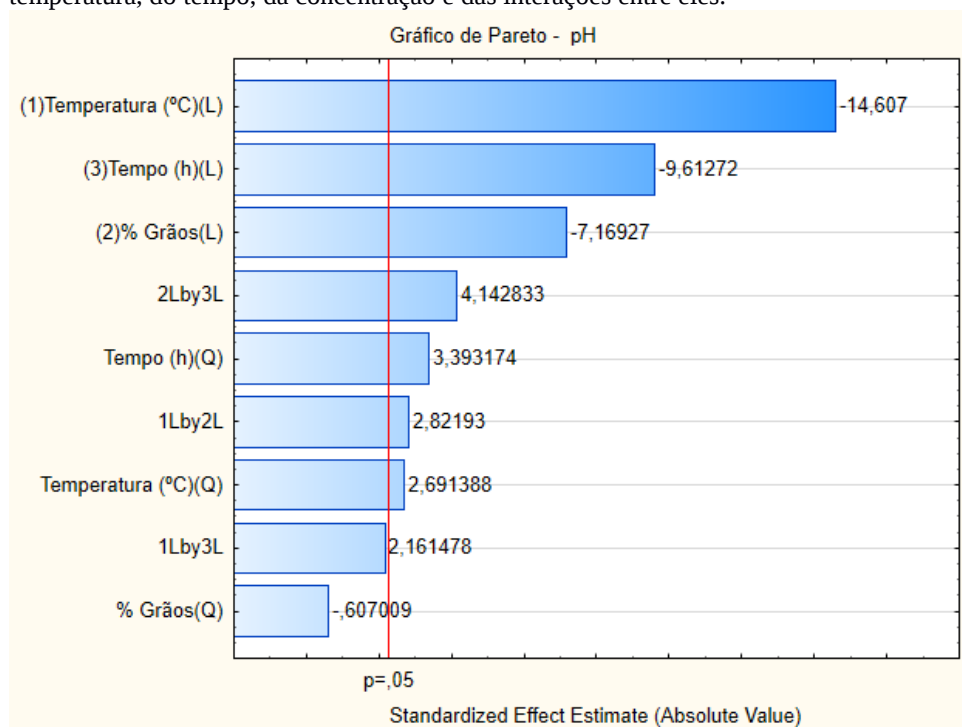


Figura 9. Gráfico de Pareto do pH (Autoria própria)

A equação obtida por regressão múltipla para representar a variação do pH em função das variáveis independentes da concentração de grãos (x_1), do tempo (x_2) e da temperatura (x_3) é dada pela Equação 5, na qual,

os coeficientes que estão em negrito, são aqueles que apresentaram significância.

$$y_{pH} = 4,02 - 0,53x_1 - 0,72x_2 - 1,09x_3 - 0,086x_1^2 + 0,48x_2^2 + 0,38x_3^2 + 0,23x_1x_3 + 0,18x_2x_3 + 0,34x_1x_2 \quad (5)$$

A Equação 5 possui coeficiente de determinação $R^2 = 0,9795$. Esse valor indica, que 97,95% da variabilidade dos dados de pH são explicados pela equação.

A queda no pH pode ser justificada pela degradação da lactose, resultante da ação das bactérias presentes nos grãos, e pelo acúmulo de ácidos orgânicos que caracteriza o processo fermentativo [3,4,8]. O aumento pela temperatura, pode ser justificado pelo aceleramento do metabolismo dos micro-organismos presentes nos grãos.

Análise da acidez

Nas figuras 10, 11 e 12 é apresentada, na forma de gráficos de superfícies de resposta, a variação da acidez titulável (°D) em função da concentração de grãos (x_1), do tempo (x_2) e da temperatura (x_3).

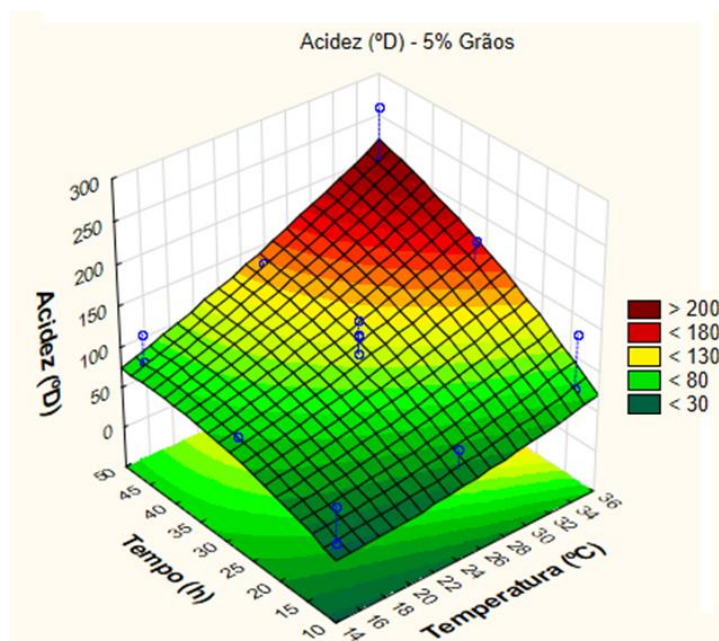


Figura 10. Efeito das variáveis x_2 e x_3 na acidez quando $x_1=5\%$. (Autoria própria)

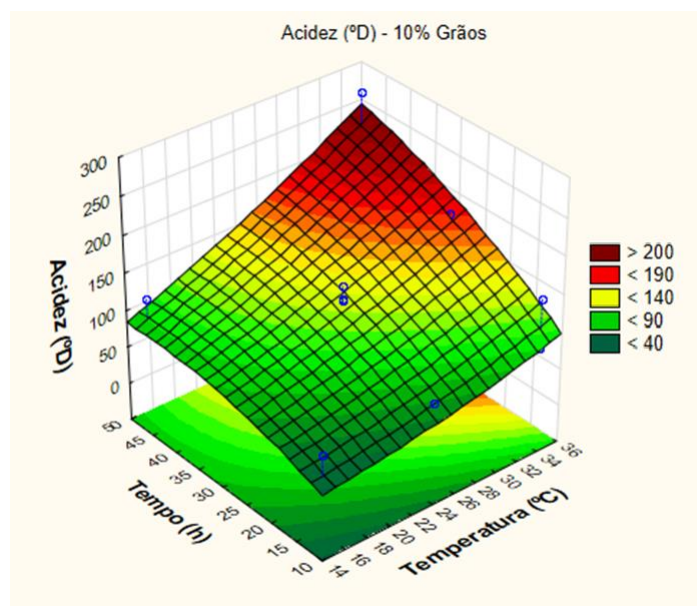


Figura 11. Efeito das variáveis x_2 e x_3 na acidez quando $x_1=10\%$. (Autoria própria)

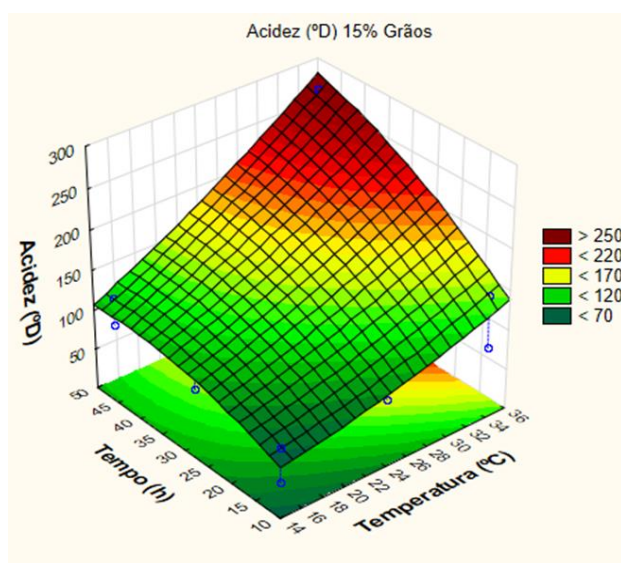


Figura 12. Efeito das variáveis x_2 e x_3 na acidez quando $x_1=15\%$. (Autoria própria)

Os gráficos relacionados à acidez se assemelham, porém, diferentemente do pH, mostram que a temperatura e o tempo são diretamente proporcionais à acidez titulável. Isso significa que ao aumentarmos a temperatura e o tempo de fermentação, a acidez aumenta. E o pico máximo de acidez é obtido quando há valores máximos de tempo e temperatura, mostrando alta significância da correlação entre eles. Esse comportamento também foi observado por outros autores, como Magalhães et al [4] que após 24 h de fermentação, a acidez passou de 26 °D a 93 °D.

Em relação à concentração de grãos, se pode notar que a medida que a concentração de grãos aumenta, a acidez também aumenta, chegando a um pico de acidez na Figura 12, passando de 250 °D.

Para melhor visualização da significância estatística do efeito de cada variável, a Figura 13, apresenta um gráfico de Pareto, para a análise dos efeitos das variáveis independentes na resposta, e confirma a significância da temperatura, do tempo, da concentração e das interações entre eles.

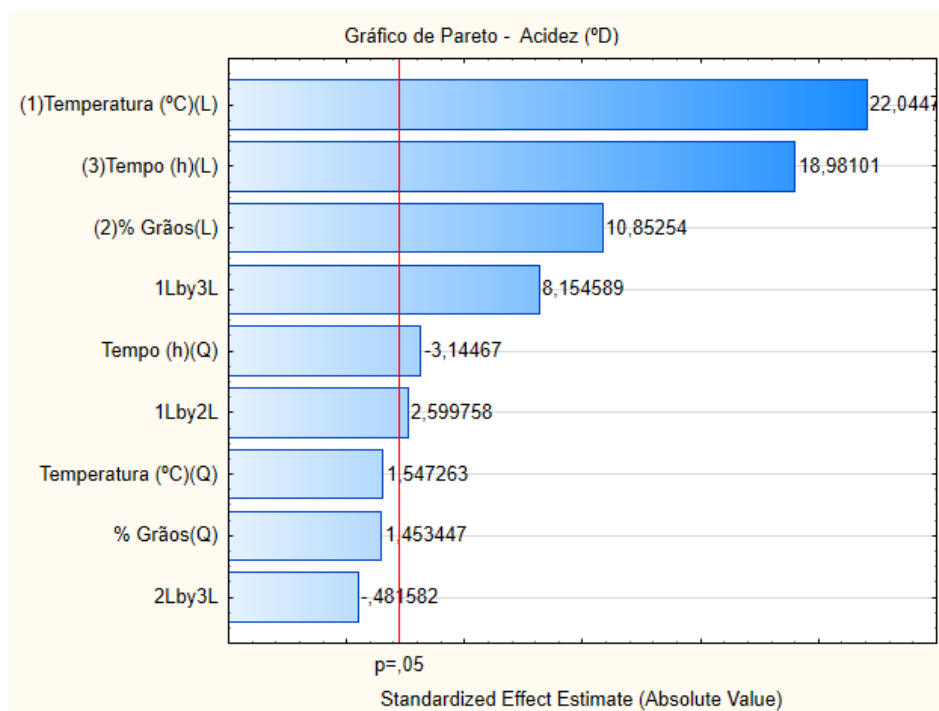


Figura 13. Gráfico de Pareto da Acidez (Autoria própria)

A equação obtida por regressão múltipla para representar a variação da acidez em função das variáveis independentes de concentração de grãos (x_1), do tempo (x_2) e da temperatura (x_3) é dada pela Equação 6, na qual, os coeficientes que estão em negrito, são aqueles que apresentaram significância.

$$y_{Act.} = 124,78 + 49,58x_1 + 86,72x_2 + 100,72x_3 + 12,70x_1^2 - 27,49x_2^2 + 13,52x_3^2 + 13,28x_1x_3 + 41,65x_2x_3 - 2,46x_1x_2 \quad (6)$$

A Equação 6 possui coeficiente de determinação $R^2 = 0,9914$. Esse valor mostra, que 99,14% da variabilidade dos dados de acidez titulável são explicados pela equação.

De acordo com os padrões de identidade e qualidade para leites fermentados, a acidez do kefir a altas temperaturas e tempo de fermentação, ultrapassou o determinado pela legislação, acidez < 100 °D. [14].

A acidez resulta da transformação da lactose pelos microrganismos, com a formação de ácido lático conferindo a acidez característica ao produto, além da acidez contribuir para o sabor da bebida, previne a proliferação de microrganismos indesejáveis ou patogênicos [4,8].

Análise da Lactose

Nas Figuras 14, 15 e 16 é apresentada, na forma de gráficos de superfícies de resposta, a variação da lactose em função da concentração de grãos (x_1), do tempo (x_2) e da temperatura (x_3).

As curvas apresentadas são semelhantes, ambas mostram a degradação da lactose conforme o tempo de fermentação e a temperatura aumentam, porém é notado um maior efeito por parte da temperatura. A diminuição da lactose à medida que ocorre a fermentação foi relatado por outros autores, como Magalhães et al [4] em que após 24 h, a lactose do kefir estudado passou de 4,6 % a 3,2 % e Leite et al [3] em que após 24 h, a lactose foi de 4,63% a 3,24%.

O aumento na concentração dos grãos, gerou uma maior degradação de lactose, devido à existência de um maior número de micro-organismos consumindo a mesma. A medida que a concentração foi aumentando, a lactose foi diminuindo, porém, em ambas as concentrações, a lactose em temperaturas e tempo baixos, foram muito semelhantes.

É notória uma maior influência da temperatura em relação às outras variáveis independentes, indicando que houve um aumento no metabolismo dos grãos. Influenciando também, no aumento da acidez e na diminuição do pH.

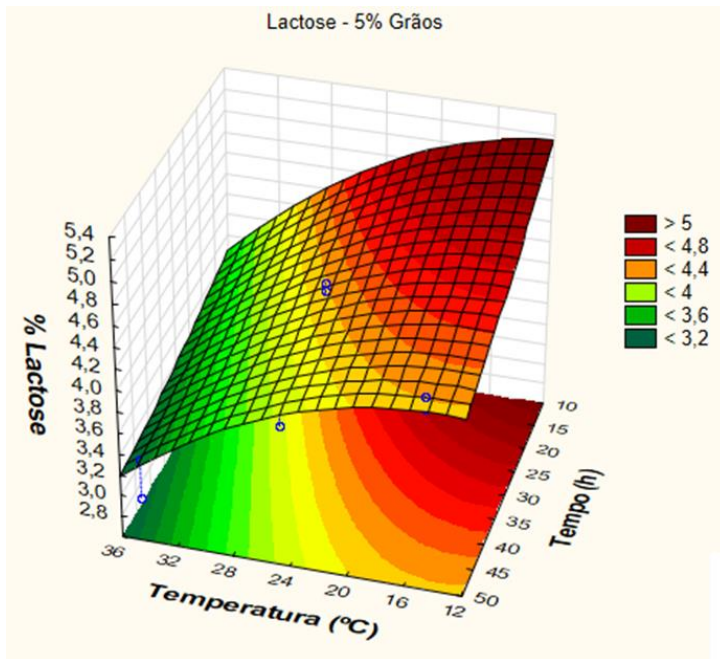


Figura 14. Efeito das variáveis x_2 e x_3 na lactose quando $x_1=5\%$. (Autoria própria)

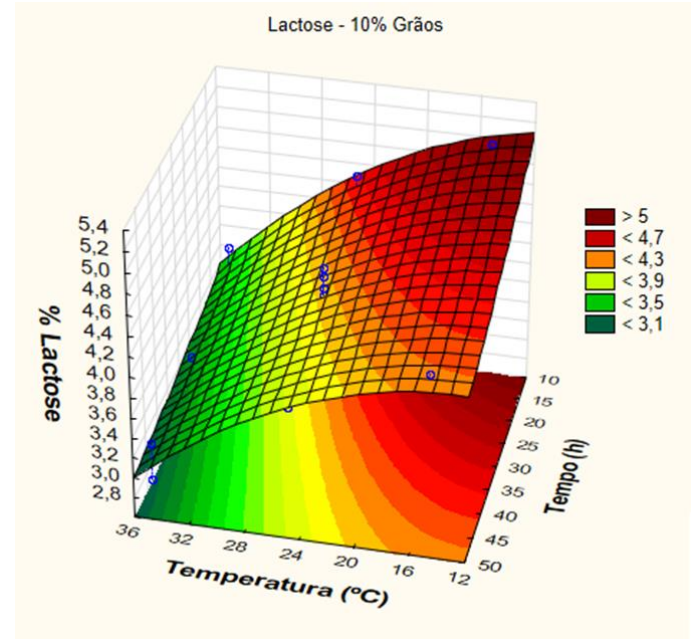


Figura 15. Efeito das variáveis x_2 e x_3 na Lactose quando $x_1=10\%$. (Autoria própria)

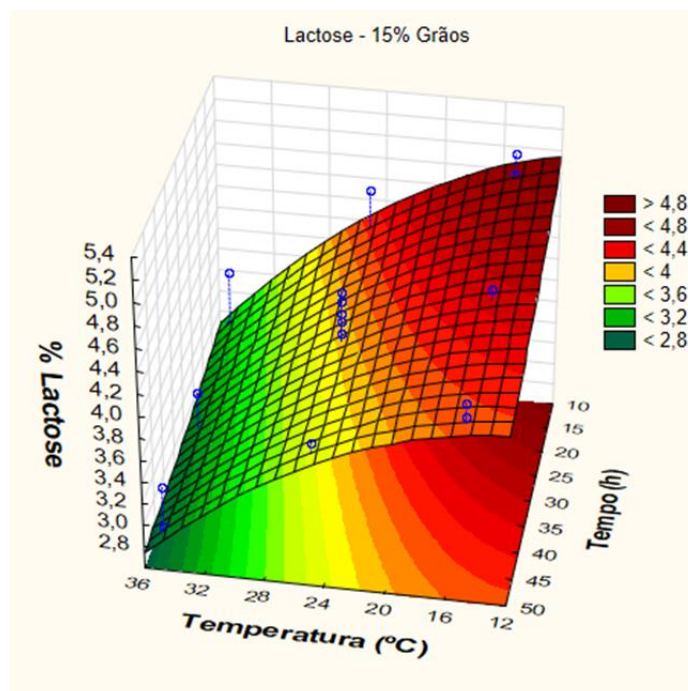


Figura 16. Efeito das variáveis x_2 e x_3 na lactose quando $x_1=15\%$. (Autoria própria)

Para melhor visualização da significância estatística do efeito de cada variável, a Figura 17, apresenta um gráfico de Pareto, para a análise dos efeitos das variáveis independentes na resposta, e confirma a significância da temperatura, do tempo e da concentração. Além de confirmar uma maior influência da temperatura.

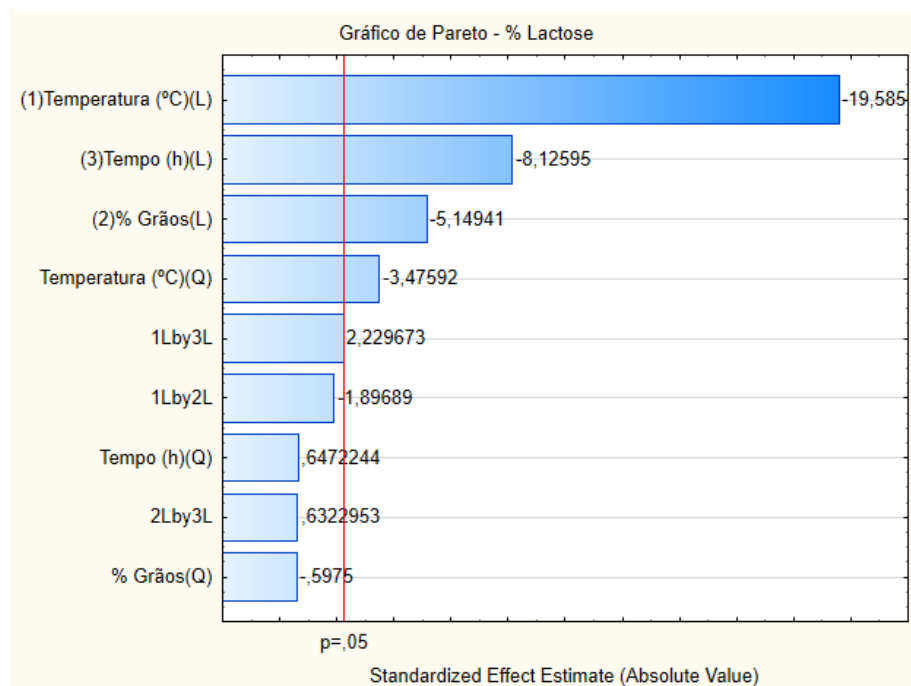


Figura 17. Gráfico de Pareto da Lactose (Autoria própria)

O resultado da regressão múltipla para representar a variação da lactose em função das variáveis independentes de concentração de grãos (x_1), do tempo (x_2) e da temperatura (x_3) é dado pela Equação 7, na qual, os coeficientes que estão em negrito, são aqueles que apresentaram significância.

$$y_{Lac} = 4,14 - 0,35x_1 - 0,55x_2 - 1,32x_3 - 0,077x_1^2 + 0,083x_2^2 - 0,45x_3^2 - 0,14x_1x_3 + 0,17x_2x_3 + 0,047x_1x_2 \quad (7)$$

A Equação 7 possui coeficiente de determinação $R^2 = 0,9825$. Esse valor indica que 98,25% da variabilidade dos dados de lactose são explicados pela equação.

A diminuição dos teores de lactose é esperada devido à composição química da bebida de kefir, pois a lactose é prontamente hidrolisada em glicose e galactose por *Lactococcus* spp., *Lactobacillus* spp. E por algumas cepas de *Kluyveromyces* spp. [3,4].

Ganho de massa (%)

Na Figura 18 é apresentada, na forma de gráfico de superfície de resposta, a variação do ganho de massa (%) em função da concentração de grãos (x_1), do tempo (x_2) e da temperatura (x_3). Diferentemente das demais variáveis, o ganho de massa não apresentou diferença significativa entre a variação dos grãos, apresentando comportamentos idênticos.

É possível ver, que ao decorrer do tempo de fermentação ocorre um maior ganho de massa, devido a um maior intervalo de tempo para a reprodução celular dos grãos. Em relação a temperatura, a reprodução de grãos não é favorecida por temperaturas baixas ou altas, e sim por valores intermediários entre 22 e 28 °C.

Para melhor visualização da significância estatística do efeito de cada variável, a figura 19, apresenta um gráfico de Pareto, para a análise dos efeitos das variáveis independentes na resposta, e confirma a significância da temperatura e do tempo, confirmando também que a variação de concentração não possui significância.

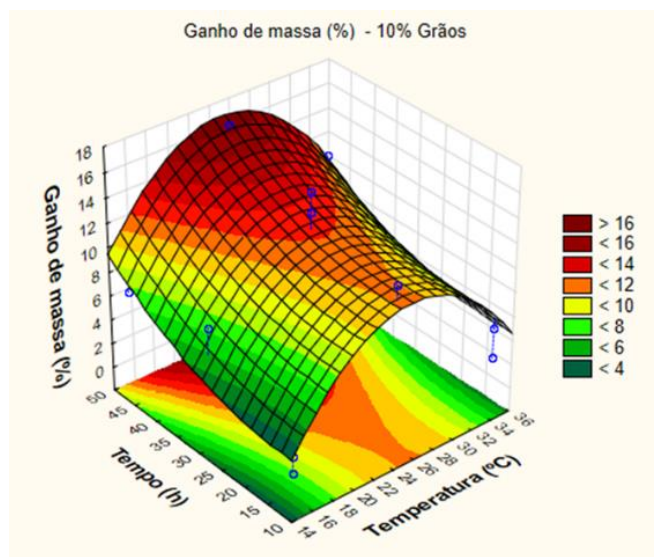


Figura. 18 . Efeito das variáveis x_2 e x_3 no ganho de massa, quando $x_1=10\%$. (Autoria própria)

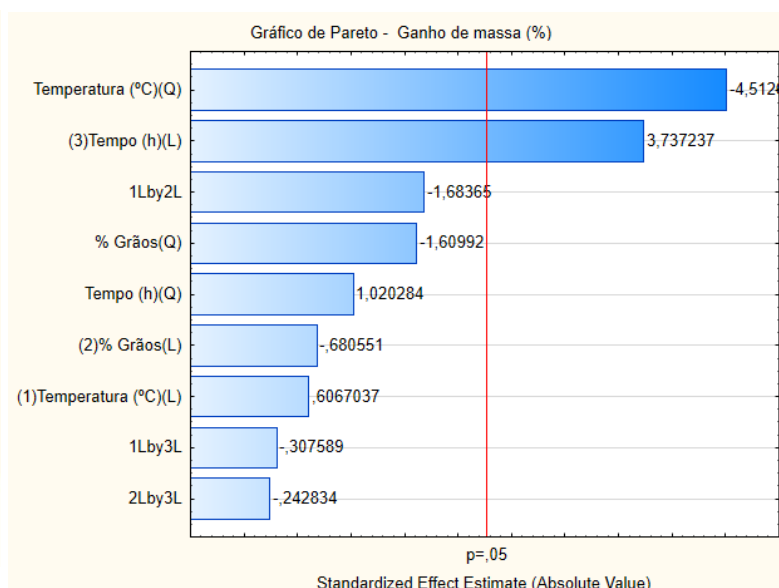


Figura 17. Gráfico de Pareto do ganho de massa. (Autoria própria)

A equação obtida por regressão múltipla para representar a variação do ganho de massa em função das variáveis independentes de concentração de grãos (x_1), do tempo (x_2) e da temperatura (x_3) é dada pela Equação 8, na qual, os coeficientes que estão não em negrito, são aqueles que não apresentaram significância.

$$y_{massa} = \mathbf{12,28} - 0,94x_1 + \mathbf{5,16x_2} + 0,84x_3 - 4,25x_1^2 + 2,70x_2^2 - \mathbf{11,92x_3^2} - 2,6x_1x_3 - 0,47x_2x_3 - 0,37x_1x_2 \quad (8)$$

A Equação 8 possui coeficiente de determinação $R^2 = 0,8722$. Esse valor indica que 87,22% da variabilidade dos dados de ganho de massa dos grãos são explicados pela equação.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que as variáveis independentes estudadas possuem grande influência nas características físico-químicas do kefir de leite, influenciando na redução do pH, reprodução de grãos e principalmente na redução da lactose, possibilitando que intolerantes consumam a bebida, e no aumento da acidez, caracterizando o sabor e prevenindo a proliferação de patogênicos no kefir.

Pelos resultados dos experimentos realizados, foi visto que a adequabilidade dos modelos (equações) apresentados foi verificada pelos coeficientes de determinação (R^2), que explicam entre 0,8722 e 0,9914 da variância total das respostas. Sendo assim, pode se tornar possível prever o comportamento das respostas dentro do intervalo de variação estudado.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] LEITE, Machado de Oliveira et al. Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. Braz. J. Microbiol., São Paulo, v. 44, n. 2, p. 341-349, 2013. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822013000200001&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 10 jan. 2020.
- [2] SANTOS, F.L. et al. Kefir: uma nova fonte alimentar funcional? Diálogos & Ciência, Salvador, v.10, p.1-14, 2012.
- [3] LEITE, A.M.O. et al. Microbiological and chemical characteristics of Brazilian kefir during fermentation and storage processes. Journal of Dairy Science, Volume 96, Issue 7, 4149 – 4159, 2013. Disponível em: <<https://www.journalofdairyscience.org/action/showCitFormats?pii=S0022-0302%2813%2900307-X&doi=10.3168%2Fjds.2012-6263>> . Acesso em 10 Jan 2020.
- [4] MAGALHAES, Karina Teixeira et al. Brazilian kefir: structure, microbial communities and chemical

- composition. *Braz. J. Microbiol.*, São Paulo , v. 42, n. 2, p. 693-702, Junho 2011 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822011000200034&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 10 Jan. 2020.
- [5] ROCHA, Daniela Mayumi Usuda Prado et al . Labneh with probiotic properties produced from kefir: development and sensory evaluation. *Food Sci. Technol (Campinas)*, Campinas , v. 34, n. 4, p. 694-700, Dec. 2014 .Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612014000400008&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 10 Jan. 2020
- [6] DIAS, Priscila Alves et al . Antimicrobial properties of kefir. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo , v. 83, e0762013, 2016 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-16572016000100403&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 10 Jan. 2020.
- [7] MONTANUCI, Flávia Daiana et al . Effect of starter culture and inulin addition on microbial viability, texture, and chemical characteristics of whole or skim milk Kefir. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas , v. 32, n. 4, p. 580-865, Dec. 2012. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612012000400031&lng=en&nrm=iso>. acesso em 10 Jan. 2020.
- [8] WESCHENFELDER, S. et al . Caracterização físico-química e sensorial de kefir tradicional e derivados. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte , v. 63, n. 2, p. 473-480, Abr. 2011 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352011000200027&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 10 Jan. 2020
- [9] GUTKOSKI, Luiz Carlos et al . Influence of oat and fat levels in technological and functional characteristics of cakes. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* Campinas, v. 29, n. 2, p. 254-261, June 2009 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612009000200003&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 23 Jan. 2020.
- [10] GUTKOSKI, Luiz Carlos et al. Development of oat based cereal bars with high dietary fiber content. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* Campinas, v. 27, n. 2, p. 355-363, June 2007. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000200025&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 23 Jan. 2020.
- [11] BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos laboratórios nacionais agropecuários. *Diário Oficial [da] República Federativa da União*, 14 dez. 2006. Seção 1, p.8.
- [12] BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem animal. 1º ed. Revisada. 2018
- [13] NOGUEIRA, Lara Kozlowski et al. Milk and açaí berry pulp improve sensorial acceptability of kefir-fermented milk beverage. *Acta Amaz.*, Manaus, v. 46, n. 4, p. 417-424, Dec. 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672016000400417&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 30 Jan. 2020.
- [14] BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução - nº 46 de 23 de outubro de 2007. REGULAMENTO TÉCNICO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE LEITES FERMENTADOS. Disponível em: <http://www.lex.com.br/doc_1206402_INSTRUCAO_NORMATIVA_N_46_DE_23_DE_OUTUBRO_DE_2007.aspx>. Acessado em: 30 jan. 2020



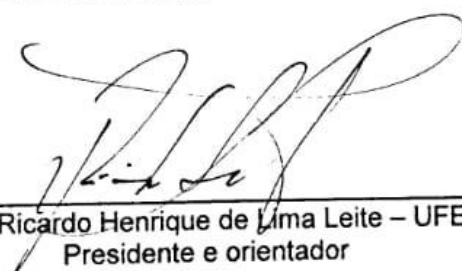
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA
Centro de Ciências Exatas e Naturais – CCEN

ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

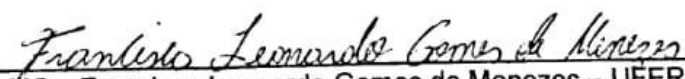
Às oito horas do dia sete de fevereiro de dois mil e vinte, na sala de aula do prédio do Laboratório de Tecnologia de Alimentos – Centro de Engenharias da UFERSA – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, reuniu-se a Banca Examinadora de defesa de trabalho de conclusão de curso de autoria do aluno **Luan Gabriel Batista Costa** aluno do curso de Bacharelado em Ciência e Tecnologia desta universidade, N° de matrícula **2016010310**, com o título **“MODELAGEM DE CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO KEFIR DE LEITE DE VACA USANDO UM PLANEJAMENTO CENTRAL COMPOSTO”**. A Banca Examinadora ficou assim constituída por três membros: Prof. Dr. Ricardo Henrique de Lima Leite, presidente da banca e orientador do Trabalho de Conclusão de Curso; MSc. Francisco Leonardo Gomes de Menezes e Dr. José Gustavo Lima de Almeida, como membros. Concluída a defesa, procedeu-se o julgamento pelos membros da banca examinadora, tendo o aluno obtido as seguintes notas: 10,0 ; 9,5 ; 9,5. Apuradas as notas verificou-se que o aluno foi aprovado com média geral 9,7. E para constar, eu, Ricardo Henrique de Lima Leite, lavrei a presente ata que, após lida e aprovada pelos membros da banca examinadora, será assinada por todos.

Mossoró, 07 de fevereiro de 2020.

Assinatura dos membros da Banca Examinadora.



Prof. Dr. Ricardo Henrique de Lima Leite – UFERSA
Presidente e orientador



MSc. Francisco Leonardo Gomes de Menezes – UFERSA
Primeiro Membro



Dr. José Gustavo Lima de Almeida – UFERSA
Segundo Membro