ESTABILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DURANTE O ARMAZENAMENTODE KEFIR DE ÁGUA SABORIZADO COM SUCO DE UVA

Pedro Emanuel Catein Sales[1], Jhennifer Capichoni Zampilli[2], Lorrayni Mendes do Carmo[2], Wallaf Costa Vimercati[3], Kamila Ferreira Chaves[2], Luciano José Quintão Teixeira[2]

[1] Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde/Departamento de Farmácia e Nutrição, Alto Universitário, s/n, Guararema - 29500-000 - Alegre-ES, Brasil, pedrocatein27@gmail.com
[2] Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias/Departamento de Engenharia de Alimentos, Alto Universitário, s/n, Guararema - 29500-000 - Alegre-ES, Brasil, jhennifer.zampilli@edu.ufes.br, docarmolorrayni9@icloud.com, kamila.chaves@ufes.br, luqteixeira@yahoo.com.br
[3] Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Nutrição/Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Avenida Fernando Corrêa da Costa, 2367, Boa Esperança - 78060-900- Cuiabá, MT, Brasil, wallafcosta@hotmail.com

Resumo
O kefir de água é uma bebida fermentada produzida pela atividade metabólica de microrganismos presentes nos grãos de kefir. A incorporação de ingredientes vegetais pode contribuir para o aumento de compostos bioativos, como os compostos fenólicos, metabólitos associados à capacidade antioxidante e à qualidade funcional dos alimentos. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar a estabilidade dos compostos fenólicos totais durante o armazenamento refrigerado de kefir de água saborizado com suco de uva. A bebida foi obtida por duas etapas fermentativas, com primeira fermentação em solução de açúcar mascavo, seguida da adição de 20% de suco de uva integral e segunda fermentação sob refrigeração. As análises de fenólicos totais foram realizadas nos tempos de 0, 14 e 28 dias, utilizando o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. Observou-se aumento significativo dos compostos fenólicos entre o período inicial e o 14º dia, seguido de manutenção dos valores até o 28º dia. Os resultados indicaram a presença e conservação de compostos fenólicos na bebida durante o armazenamento avaliado.
Palavras-chave: bebidas fermentadas. antioxidantes. alimentos funcionais.folin-ciocalteu.

Área do Conhecimento: Ciências da Saúde - Ciência e Tecnologia de Alimentos

Introdução

O crescente interesse por alimentos funcionais tem impulsionado o desenvolvimento de produtos fermentados associados à presença de microrganismos benéficos e compostos bioativos. Nesse contexto, o kefir de água destaca-se como uma bebida fermentada obtida pela atividade metabólica de uma comunidade microbiana composta principalmente por bactérias ácido-láticas, bactérias ácido-acéticas e leveduras presentes nos grãos de kefir. Durante a fermentação, esses microrganismos metabolizam açúcares e produzem metabólitos como ácidos orgânicos, dióxido de carbono, etanol e compostos aromáticos, contribuindo para a composição química e funcional da bebida. Além disso, a incorporação de ingredientes vegetais ao kefir de água tem sido estudada como uma estratégia para aumentar a concentração de compostos bioativos e ampliar seu potencial funcional (Almeida *et al*., 2025; Wichello *et al*., 2025).

Entre os compostos bioativos presentes em alimentos de origem vegetal, destacam-se os compostos fenólicos, metabólitos secundários caracterizados pela presença de estruturas químicas capazes de atuar na neutralização de espécies oxidantes. Esses compostos apresentam elevada atividade antioxidante e estão associados à redução de processos oxidativos, contribuindo para o potencial funcional dos alimentos (Vieira *et al*., 2021). Devido à sua relevância na caracterização de matrizes alimentares, a determinação de compostos fenólicos totais é amplamente utilizada em estudos envolvendo alimentos e bebidas com potencial antioxidante, sendo o método de Folin-Ciocalteu uma

das técnicas espectrofotométricas mais empregadas devido à sua sensibilidade, simplicidade e aplicabilidade em diferentes matrizes alimentares (Pérez; Domínguez-López; Lamuela-Raventós, 2023).

Entre as fontes vegetais utilizadas para o enriquecimento de bebidas fermentadas, a uva (*Vitis vinifera* L.) destaca-se por apresentar elevada concentração de compostos fenólicos, incluindo antocianinas, flavonoides, ácidos fenólicos, catequinas e estilbenos, compostos relacionados à sua capacidade antioxidante. O suco de uva integral constitui uma matriz rica nesses compostos bioativos, especialmente devido à presença de substâncias fenólicas provenientes da casca e da polpa da fruta, apresentando potencial para aumentar o valor funcional de produtos alimentícios. Dessa forma, sua incorporação ao kefir de água representa uma alternativa promissora para a obtenção de bebidas fermentadas enriquecidas com compostos antioxidantes. Estudos recentes demonstram que a adição de frutas e derivados vegetais ao kefir de água pode modificar a composição bioativa da bebida, aumentando o teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante (Araújo *et al*., 2023; Wichello *et al*., 2025).

Apesar do crescente interesse na utilização de frutas como fontes de compostos bioativos para formulação de bebidas fermentadas, ainda são necessários estudos que avaliem a estabilidade desses compostos em kefir de água enriquecido com suco de uva durante o armazenamento. Alterações no teor de compostos fenólicos podem ocorrer em função de processos oxidativos e interações entre os constituintes da matriz alimentar, tornando importante o acompanhamento desses compostos ao longo da vida útil do produto. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a estabilidade do teor de compostos fenólicos totais em kefir de água enriquecido com suco de uva integral durante armazenamento refrigerado, utilizando o método de Folin-Ciocalteu.

Metodologia

Os grãos de kefir de água foram ativados em solução de açúcar mascavo (8,97 °Brix), utilizando 5% (m/v) de grãos, incubados a 25 °C por 24 horas, conforme condições pré-estabelecidas em estudos anteriores. A solução fermentada foi renovada diariamente durante sete dias, por meio da filtração da água kefirada e transferência dos grãos para uma nova solução açucarada nas mesmas condições (Wichello *et al*., 2025).

Para a produção da bebida fermentada, realizou-se uma primeira fermentação (F1) utilizando 5% (m/v) de grãos de kefir em solução de açúcar mascavo (8,97 °Brix), a 25 °C por 24 horas. Após esse período, os grãos foram removidos por filtração e adicionou-se 20% de suco de uva integral à água kefirada. Em seguida, a segunda fermentação (F2) foi conduzida em recipientes fechados sob refrigeração (7 °C), sendo as amostras armazenadas e avaliadas nos tempos de 0, 14 e 28 dias.

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada pelo método espectrofotométrico utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu, conforme descrito por Waterhouse (2002). Inicialmente, foi preparado o extrato das amostras conforme metodologia descrita por Rufino *et al*. (2010). Para isso, 5 g da amostra foram adicionados de 40 mL de metanol 50%, permanecendo em repouso por 60 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 15.000 rpm por 15 minutos, sendo o sobrenadante transferido para balão volumétrico de 100 mL. Ao resíduo da primeira extração foram adicionados 40 mL de acetona 70%, repetindo-se as etapas de repouso e centrifugação. O segundo sobrenadante foi reunido ao primeiro, completando-se o volume para 100 mL com água destilada, obtendo-se o extrato utilizado nas análises. A curva analítica foi construída utilizando solução padrão de ácido gálico (200 µg/mL), a partir da qual foram preparadas soluções padrão nas concentrações de 20, 40, 60, 80, 120 e 160 µg/mL. A relação entre a absorbância e a concentração de ácido gálico foi descrita pela Equação 1.

$y = 0{,}0060x - 0{,}0172$ ($R^2=0{,}9980$) (Equação 1)

em que: y representa a absorbância e x a concentração de ácido gálico (µg/mL). Para a determinação dos compostos fenólicos totais, foram adicionados 0,5 mL da amostra ou das soluções padrão, em triplicata, em tubos de ensaio protegidos da luz, seguidos da adição de 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu a 10% v/v. Após repouso de quatro minutos, foram adicionados 2 mL de solução de carbonato de sódio a 4% m/v. As amostras foram homogeneizadas e mantidas em repouso por cerca de duas horas no escuro e, ao término do período de reação, as leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro a 720 nm. A concentração equivalente de ácido gálico das amostras foi determinada por meio da Equação 1, sendo utilizada para o cálculo do teor de compostos fenólicos totais. Os

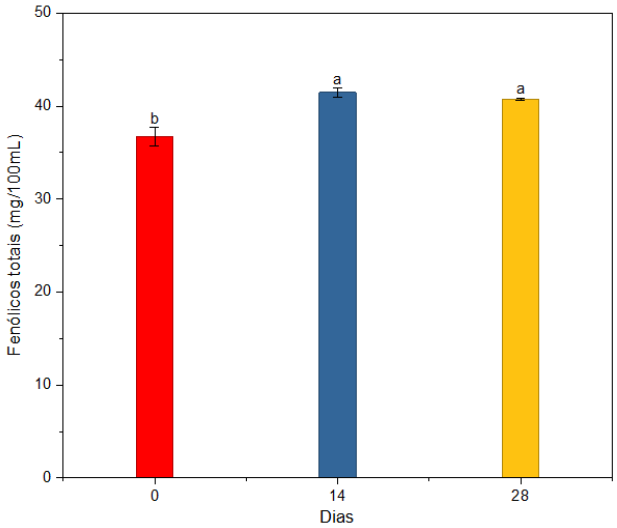
resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por 100 g de amostra (mg AGE/100 g).

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando observada diferença significativa entre os tempos de armazenamento, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, adotando-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$), utilizando o software Statistica versão 13.3 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

Resultados

Os teores de compostos fenólicos totais do kefir de água saborizado com suco de uva variaram ao longo do período de armazenamento (Figura 1).

Figura 1 - Teor de compostos fenólicos totais (mg AGE/100 mL) em kefir de água saborizado com suco de uva integral ao longo de 0,14 e 28 dias de armazenamento.



Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Observou-se aumento dos compostos fenólicos totais entre o tempo inicial e o 14º dia de armazenamento, com os valores médios passando de 36,73 ± 1,00 para 41,46 ± 0,52 mg AGE/100 mL, seguido de estabilidade até o 28º dia (40,76 ± 0,13 mg AGE/100 mL). A análise de variância, seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$), indicou diferença significativa entre o tempo inicial e os demais períodos de armazenamento, enquanto os tratamentos dos dias 14 e 28 não diferiram estatisticamente entre si.

Discussão

O aumento do teor de compostos fenólicos totais ($p<0,05$) entre o tempo inicial e o 14º dia de armazenamento pode estar relacionado à continuidade da atividade metabólica residual dos microrganismos presentes no kefir de água, mesmo sob refrigeração. Durante esse período, enzimas produzidas por bactérias e leveduras podem promover a biotransformação da matriz da bebida, favorecendo a liberação de compostos fenólicos anteriormente ligados e aumentando sua disponibilidade para quantificação pelo método de Folin-Ciocalteu (Acosta-Estrada *et al*., 2014). Após esse período, a ausência de diferenças significativas ($p>0,05$) entre os dias 14 e 28 sugere que o armazenamento refrigerado foi suficiente para preservar esses compostos, reduzindo a intensidade das reações de degradação e mantendo a estabilidade do perfil fenólico da bebida.

Comportamento semelhante foi observado por Chomphoosee *et al*. (2025), que verificaram aumento dos compostos fenólicos durante a fermentação de kefir de água elaborado com *coffee cascara* e apenas pequenas reduções após quatro semanas de armazenamento refrigerado, indicando elevada estabilidade desses compostos ao longo do período avaliado. De forma semelhante, Wichello *et al*. (2025) observaram aumento do teor de compostos fenólicos em kefir de água saborizado com suco de uva durante 42 dias de armazenamento refrigerado e atribuíram esse comportamento à atividade

metabólica residual dos microrganismos, capaz de promover a degradação de taninos e a liberação de compostos fenólicos ligados à matriz da bebida, aumentando sua disponibilidade e contribuindo para a manutenção do potencial antioxidante.

Assim, os resultados obtidos no presente estudo corroboram com a literatura ao demonstrar que o armazenamento refrigerado não comprometeu a estabilidade dos compostos fenólicos do kefir de água saborizado com suco de uva durante o período avaliado.

Conclusão

O kefir de água saborizado com suco de uva apresentou aumento do teor de compostos fenólicos totais até o 14º dia de armazenamento refrigerado, seguido de estabilidade até o 28º dia. Esses resultados indicam que a bebida manteve a estabilidade dos compostos fenólicos durante o período avaliado, evidenciando o potencial do kefir de água saborizado com suco de uva como uma bebida fermentada rica em compostos bioativos.

Referências

ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Bound phenolics in foods: a review. **Food Chemistry**, v. 152, p. 46–55, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.093. Acesso em: 06 ago. 2026.

ALMEIDA, K. V.; SANT' ANA, C. T.; WICHELLO, S. P.; LOUZADA, G. E.; VERRUCK, S.; TEIXEIRA, L. J. Q. Water kefir: review of microbial diversity, potential health benefits, and fermentation process. **Processes**, v. 13, n. 3, p. 885, 2025. Disponível em: https://doi.org/10.3390/pr13030885. Acesso em: 06 ago. 2026.

ARAÚJO, C. S.; MACEDO, L. L.; TEIXEIRA, L. J. Q. Evaluation of mid-infrared spectra associated with chemometrics for the determination of physicochemical properties during fermentation of a new strawberry-based beverage with water kefir grains. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 123, p. 105490, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105490. Acesso em: 06 ago. 2026.

CHOMPHOOSEE, T.; SEESURIYACHAN, P.; WATTANUTCHARIYA, W.; TIPBUNJONG, C.; THERDTATHA, P.; TECHAPUN, C.; INSOMPHUN, C.; PANTI, N.; MOUKAMNERD, C. A novel beverage of coffee cherry (cascara) water kefir rich in antioxidants, bioactive compounds, and exhibiting promising antibacterial and sensory qualities. **LWT**, v. 219, p. 117539, 2025. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.117539. Acesso em: 06 ago. 2026.

PÉREZ, M.; DOMÍNGUEZ-LÓPEZ, I.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. The chemistry behind the Folin–Ciocalteu method for the estimation of (poly)phenol content in food: total phenolic intake in a Mediterranean dietary pattern. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 71, n. 46, p. 17543–17553, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04022. Acesso em: 06 ago. 2026.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, F. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996–1002, 2010. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.037. Acesso em: 06 ago. 2026.

VIEIRA, C. P.; ROSARIO, A. I. L. S.; LELIS, C. A.; REKOWSKY, B. S. S.; CARVALHO, A. P. A.; ROSÁRIO, D. K. A.; ELIAS, T. A.; COSTA, M. P.; FOGUEL, D.; CONTE-JUNIOR, C. A. Bioactive compounds from kefir and their potential benefits on health: a systematic review and meta-analysis. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2021, Article ID 9081738, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1155/2021/9081738. Acesso em: 06 ago. 2026.

WATERHOUSE, A. L. Determination of total phenolics. In: WROLSTAD, R. E. (ed.). **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York: John Wiley & Sons, 2002. Unit I1.1. Disponível em: https://doi.org/10.1002/0471142913.fai0101s06. Acesso em: 06 ago. 2026.

WICHELLO, S. P.; CHAVES, K. F.; VIMERCATI, W. C.; SARAIVA, S. H.; TEIXEIRA, L. J. Q. Development, Characterization, and Stability of Flavored Water Kefir: Impact of Fermentation and Storage. **Fermentation**, v. 11, n. 9, p. 513, 2025. Disponível em: https://doi.org/10.3390/fermentation11090513. Acesso em: 06 ago. 2026.

Agradecimentos

Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001 e Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (Fapes nº 12/2024; Termos de outorga 420/2025). Os autores gostariam de expressar sua gratidão ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).