CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO DE KEFIR DE ÁGUA: INFLUÊNCIA DO AÇÚCAR E DA TEMPERATURA NA ATIVIDADE MICROBIANA

Rafaela Ferreira Goulart, Jhennifer Capichoni Zampilli, Lorrayni Mendes do Carmo, Wallaf Costa Vimercati, Kamila Ferreira Chaves, Sérgio Henriques Saraiva, Luciano José Quintão Teixeira

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, rafaelaferreiragou@gmail.com, jhennifer.zampilli@edu.ufes.br, docarmolorrayni9@icloud.com, wallafcosta@hotmail.com, kamila.chaves@ufes.br, sergio.saraiva@ufes.br, luqteixeira@yahoo.com.br.

Resumo
O presente trabalho investigou a influência da concentração de açúcar e da temperatura na cinética de crescimento de láticas (LEV) e bactérias ba (BAL) durante a fermentação de kefir de água. Foram aplicados diferentes tratamentos experimentais, sendo empregado o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), com 2 fatores, variando a concentração de açúcar de 3 a 10 °Brix e temperatura de 20 °C a 30 °C, com monitoramento microbiológico ao longo de 72 horas. Os dados foram submetidos à análise de regressão e modelos matemáticos foram ajustados à cinética de fermentação. Os resultados revelaram que a atividade das LEV, facilitada pela hidrólise da sacarose, favoreceu o desenvolvimento das BAL, evidenciando uma relação simbiótica. Temperaturas de 25 a 28 °C e sólidos solúveis entre 6,5 e 9°Brix promoveram o maior crescimento de LEV. Os modelos matemáticos demonstraram bom ajuste, com destaque para os tratamentos 3, 4 e 5 para LEV, e 1, 2 e 4 para BAL. Conclui-se que a manipulação adequada das variáveis tecnológicas pode otimizar o crescimento microbiano e potencializar as propriedades funcionais do kefir de água.
Palavras-chave: Alimentos funcionais. Bebidas fermentadas. Potencial probiótico. Saborização.

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

Introdução

O kefir é uma bebida fermentada que tem origem na região do Cáucaso e cujo nome está associado ao bem-estar. Tradicionalmente, é produzido pela ação simbiótica de microrganismos presentes em grãos. Esses grãos contêm consórcios microbianos, como BAL, bactérias do ácido acético (BAA) e LEV, que atuam durante a fermentação (Ghedini *et al*., 2020). No caso do kefir de água, a preparação envolve adição de sacarose em água filtrada, inoculação dos grãos e fermentação entre 24 e 96 horas, geralmente entre 25 e 30°C. Durante esse processo, há produção de ácido lático, dióxido de carbono, etanol e compostos aromáticos voláteis, responsáveis pelas características sensoriais da bebida, como sabor levemente ácido, aroma frutado e aspecto efervescente (Kumar *et al*. 2021).

A composição e o perfil microbiológico do kefir podem variar conforme a origem dos grãos, o método de cultivo e o substrato utilizado (Alves, 2020; Diniz, 2023). Três tipos principais de fermentação ocorrem simultaneamente na elaboração da bebida: lática, alcoólica e acética. A fermentação lática é associada à acidez e estabilidade do produto, a alcoólica ocorre pela conversão de açúcares em etanol e dióxido de carbono pelas LEV, e as BAA contribuem com a formação de ácidos orgânicos voláteis, podendo impactar negativamente em excesso (Magalhães *et al*., 2011; Viana *et al*., 2017).

Os grãos de kefir de água apresentam uma matriz rica em dextrose, com ligações específicas que influenciam sua estrutura e comportamento durante a fermentação (Coma *et al*., 2019). Apesar dos benefícios associados ao consumo do kefir de água, ainda são escassos os estudos que investigam de forma sistemática os efeitos das variáveis tecnológicas, como concentração de açúcares e temperatura, sobre o crescimento microbiano e as características físico-químicas do produto final ao longo do tempo (Marques *et al*., 2018; Silva *et al*., 2023).

Diante disso, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a influência da temperatura de fermentação e do teor de sólidos solúveis sobre as características microbiológicas (LEV e BAL) do kefir de água, visando contribuir para o aprimoramento do processo de produção da bebida funcional.

Metodologia

Os grãos de kefir foram cultivados em água, em concentração de 5% de grãos e 6,5% de açúcar mascavo, com trocas de água a cada 24 horas para ativação dos grãos. Para avaliar a curva de crescimento microbiano, foi utilizado o DCCR, avaliando a temperatura de fermentação entre 20 e 30 °C e teores de açúcar de 3 a 10 °Brix, conforme detalhado na Tabela 1. As variáveis resposta incluíram contagem de LEV e BAL. A concentração de grãos de kefir foi de 5% em relação à solução aquosa, com monitoramento microbiológico em intervalos de 0, 24, 36, 48 e 72 horas.

Tabela 1 - DCCR para os ensaios de fermentação de kefir de água, com variação de temperatura e teor de açúcares.

Ensaio	X1 (temperatura codificada)	X2 (SS codificado)	Temperatura (°C)	SS (°Brix)
1	-1	-1	21,50	4,02
2	-1	1	21,50	8,97
3	1	-1	28,50	4,02
4	1	1	28,50	8,98
5	-1,4142	0	20,00	6,50
6	1,4142	0	30,00	6,50
7	0	-1,4142	25,00	3,00
8	0	1,4142	25,00	10,00
9	0	0	25,00	6,50
10	0	0	25,00	6,50
11	0	0	25,00	6,50

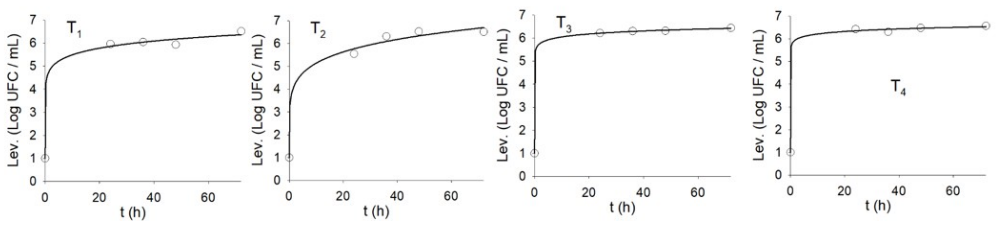
Fonte: elaborado pelo próprio autor.

. Para as análises microbiológicas, foram realizadas diluições seriadas a partir de 25 mL da amostra em água peptonada a 0,1% esterilizada (Silva *et al*., 2021). A contagem de LEV viáveis foi feita em câmara de Neubauer, conforme descrito por Lucarini *et al*. (2004). A contagem total de BAL foi realizada por meio de plaqueamento em profundidade e sobrecamada utilizando o meio MRS, incubado a 35 °C, conforme a metodologia descrita por Silva *et al*. (2021). As análises foram realizadas em duplicata e os resultados foram expressos como log de UFC/mL.

Resultados

O crescimento de LEV ao longo do tempo para os tratamentos encontra-se representado na Figura 1, e o ajuste dos modelos matemáticos que descrevem a cinética de crescimento das LEV, bem como os coeficientes de determinação estão apresentados na Tabela 2.

Figura 1 - Crescimento de LEV ao longo do tempo de fermentação para os tratamentos (log UFC/mL).



Fonte: elaborado pelo próprio autor.

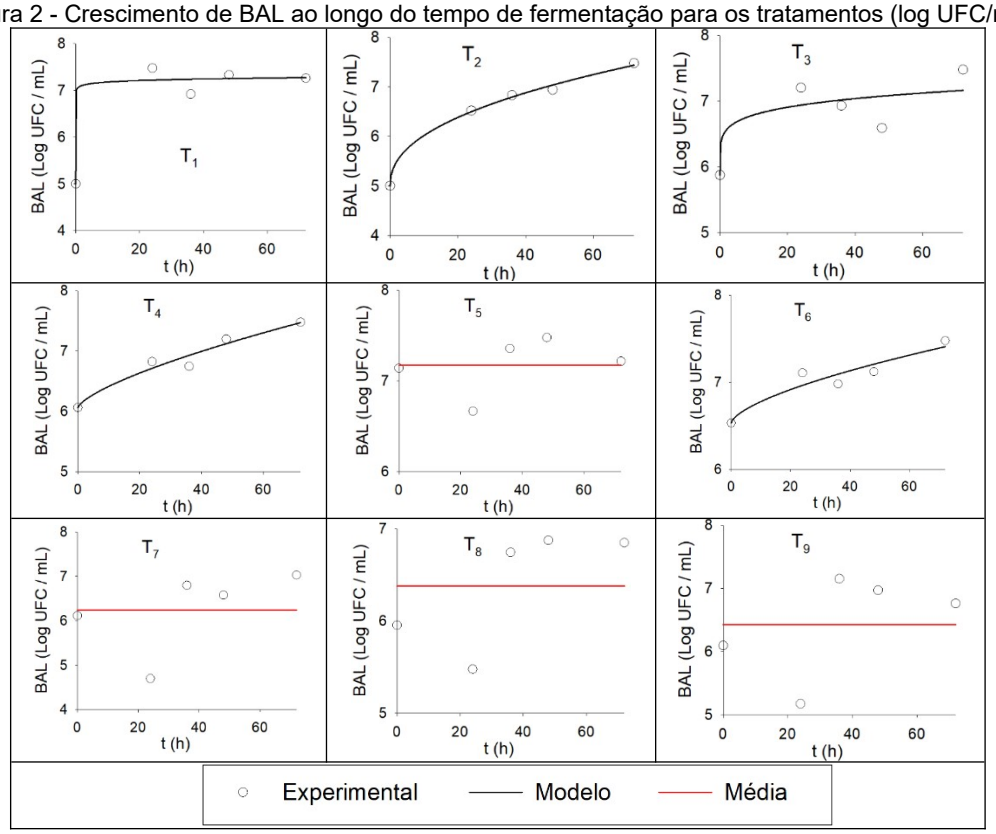
Tabela 2 - Modelos ajustados e valores do coeficiente de determinação para as cinéticas de variação de LEV para os tratamentos.

Tratamento	Modelo	R^2
1	$y = 1 + 3{,}6510\ t^{0{,}08998}$	0,9958
2	$y = 1 + 2{,}8545$ t0,1616	0,9925
3	$y = 1 + 4{,}6483\ t^{0{,}03605}$	0,9999
4	$y = 1 + 4{,}8633\ t^{0{,}03016}$	0,9992
5	$y = 1 + 4{,}4037\ t^{0{,}04868}$	0,9999
6	$y = 5{,}5441 + 0{,}4330$ $t^{0{,}2251}$	0,9126
7	$y = 1 + 3{,}0051\ t^{0{,}1154}$	0,9684
8	$y = 1 + 3{,}7675\ t^{0{,}06425}$	0,9909
9	$y = 1 + 4{,}2049\ t^{0{,}04352}$	0,9789

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

O crescimento de BAL ao longo do tempo para os tratamentos encontra-se representado na Figura 2, e o ajuste dos modelos matemáticos que descrevem a cinética de crescimento das LEV, bem como os coeficientes de determinação estão apresentados na Tabela 3.

Figura 2 - Crescimento de BAL ao longo do tempo de fermentação para os tratamentos (log UFC/mL).



Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Tabela 2 - Modelos ajustados e valores do coeficiente de determinação para as cinéticas de variação de BAL para os tratamentos.

Tratamento	Modelo	R^2
1	$y=1+3,6510\ t^{0,08998}$	0,9585
2	$y=5+2,0746\ t^{0,02132}$	0,9965
3	$y=5+0,3669\ t^{0,4427}$	0,7330
4	$y=6,0607+0,07045\ t^{0,7008}$	0,9550
5	Não significativo	Não se aplica
6	$y=6,5315+0,0563\ t^{0,6420}$	0,9021
7	Não significativo	Não se aplica
8	Não significativo	Não se aplica
9	Não significativo	Não se aplica

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Discussão

A análise da cinética de crescimento das LEV e das BAL durante a fermentação do kefir de água evidenciou uma interação simbiótica fundamental para a estabilidade e o equilíbrio da microbiota. O metabolismo das LEV, impulsionado principalmente pela ação da enzima invertase, promove a hidrólise da sacarose em glicose e frutose, açúcares prontamente assimiláveis pelas BAL, favorecendo sua multiplicação (Lucarini *et al*., 2004; Silva *et al*., 2021).

Conforme observado nas Figuras 1 e 2, a cinética de crescimento microbiano das LEV e BAL ao longo do tempo de fermentação aumentou até um valor máximo e depois, em alguns tratamentos, permaneceu constante. Portanto, um modelo matemático potencial de 3 parâmetros (Equação 1) foi ajustado aos dados.

$$y = y_0 + ax^B \quad \text{Equação (1)}$$

em que: y_0 representa o valor inicial de levedura ou BAL, a e b são constantes do modelo e t corresponde ao tempo de fermentação. Para a cinética de crescimento de LEV (Figura 1), os modelos matemáticos apresentaram bom ajuste para todos os tratamentos ($R^2 > 0,91$), sendo que os tratamentos 3, 4 e 5 apresentaram os melhores ajustes ($R^2 \geq 0,999$) (Tabela 2), indicando que temperaturas próximas de 28,5 °C e teores de sólidos solúveis entre 6,5 e 9 °Brix favoreceram o maior crescimento de LEV. O crescimento intenso das LEV contribui para maior produção de etanol e CO_2, compostos que reduzem a competição microbiana e criam um ambiente propício à atuação das BAL (Ghedini *et al*., 2020).

A cinética de fermentação caracterizada pela variação do pH ao longo do tempo demonstrou, conforme observado na Figura 1, que o valor de pH reduziu progressivamente durante o período de fermentação, seguindo um modelo exponencial modificado. Este tipo de modelo é caracterizado pela sua capacidade de expressar uma taxa de decaimento que não é constante, mas que se altera ao longo do tempo, o que é comum em sistemas biológicos como a fermentação. Foi ajustado o modelo é o descrito na Equação 4. E os parâmetros ajustados estão apresentados na Tabela 3.

$$pH = A * e^{-kt^B} \quad \text{(equação 4)}$$

Os melhores ajustes dos modelos matemáticos foram verificados nos tratamentos 1, 2 e 4 ($R^2 > 0,95$) para as BAL (Tabela 3). Condições de maior teor de sólidos solúveis (aproximadamente 9 °Brix) promoveram o maior desenvolvimento das BAL, independentemente da temperatura mais baixa (21,5 °C/Tratamento 2) ou mais elevada (28,5 °C/Tratamento 4). O Tratamento 1 (21,5 °C/4,02 °Brix) evidenciou que temperaturas amenas são capazes de sustentar uma multiplicação bacteriana satisfatória, mesmo em condições de menor disponibilidade de açúcares. O modelo matemático

também apresentou um bom ajuste (R^2 = 0,9021) para o tratamento 6 (30,0 °C / 6,50 °Brix), indicando que a temperatura mais alta foi bem tolerada na concentração média de açúcar. Por outro lado, os tratamentos 5, 7, 8 e 9 não apresentaram ajustes significativos.

O tratamento 4 (28,5 °C/8,98 ° Brix) destacou-se como a combinação mais equilibrada, pois apresentou os melhores ajustes de modelo de crescimento para ambos grupos microbianos simultaneamente (R^2 = 0,9992 para LEV e R^2 = 0,955 para BAL). Esta combinação favoreceu um ambiente ideal para o metabolismo das LEV, garantindo a hidrólise da sacarose e fornecendo o substrato necessário para a multiplicação das BAL. Assim, esse tratamento não apenas otimizou individualmente cada população microbiana, como também potencializou sua interação simbiótica.

Assim, os resultados confirmam que a interação funcional entre LEV e BAL depende de combinações equilibradas de temperatura e teor de sólidos solúveis, capazes de potencializar a atividade metabólica e manter o equilíbrio simbiótico durante a fermentação. Esses achados corroboram estudos anteriores (Magalhães *et al*., 2011; Viana *et al*., 2017) e reforçam a importância da padronização de parâmetros tecnológicos para otimizar a qualidade microbiológica e funcional do kefir de água.

Conclusão

A cinética de crescimento microbiano no kefir de água demonstrou que a interação entre LEV e BAL é influenciada pelas condições de fermentação, como temperatura e teor de sólidos solúveis. Os resultados indicam que faixas intermediárias desses parâmetros favorecem o metabolismo simbiótico entre os microrganismos, promovendo um ambiente fermentativo mais eficiente. A compreensão desses efeitos contribui para a otimização de processos biotecnológicos voltados à produção de bebidas fermentadas com qualidade microbiológica, funcional e sensorial aprimorada.

Referências

ALVES, V. **Desenvolvimento de bebida fermentada com kefir de água em extrato vegetal hidrossolúvel de coco *(Cocos nucifera* L.*)* com adição de inulina**. 2020. Dissertação (Mestrado do programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Fronteira Sul, Laranjeiras do Sul, 2020.

COMA, E.; PELTZER, M. A.; DELGADO, J. F.; SALVAY, A. G. Water kefir grains as an innovative source of materials: Study of plasticiser content on film properties. **European Polymer Journal**, v. 120, p. 109-234, 2019.

DINIZ, L. G. T. **Desenvolvimento de bebida fermentada vegana com kefir de água**. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Centro Tecnológico, Universidade Federal da Fronteira Sul, Laranjeiras do Sul, 2023.

GHEDINI, T. G. M.; BENTO, L. V.; MIOTO, L. S.; DE OLIVEIRA, L. C.; AMBROSIO, M. A. L. V.; MARTINS, C. H. G.; CARRIJO, M. G. M. de S.; MAGRIN, T. F. Qualidade microbiológica do kefir / Microbiological quality of kefir. **Brazilian Journal of Development**, *[S. l.]*, v. 6, n. 1, p. 4336–4349, 2020. DOI: 10.34117/bjdv6n1-309.

Kumar, M.R.; Yeap, S.K.; Lee, H.C.; Mohamad, N.E.; Nazirul Mubin Aziz, M.; Khalid, M.; Masarudin, M.J.; Leow, A.T.C.; Abdullah, J.O.; Alitheen, N.B. Selected Kefir Water from Malaysia Attenuates Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Stress by Upregulating Endogenous Antioxidant Levels in SH-SY5Y Neuroblastoma Cells. **Antioxidants**, v. 10, n. 6, p. 940, 2021.

LUCARINI, Adriana C.; SILVA, La Da; BIANCHI, Reinaldo Ac. Um sistema para a contagem semi-automática de microorganismos. **Revista pesquisa e tecnologia FEI**, n. 26, p. 36-40, 2004.

MAGALHÃES, K. T.; PEREIRA, G. V. de M.; CAMPOS, C. R.; DRAGONE, G.; SCHWAN, F. Kefir brasileiro: estrutura, comunidades microbianas e composição química. **Revista Brasileira de Microbiologia**, v. 42, p. 693-702, 2011.

MARQUES, C. G.; ALVES R. T.; Lee C. J. Y. P.; QUARESMA M. V. L. dos S.. Efeito do consumo de Kefir sobre parâmetros bioquímicos relacionados ao Diabetes Mellitus: uma revisão de literatura. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n. 19, p. 214-214, 2018.

DA SILVA, L. M.; SANTOS, M. F.; MORAES, J. A. de A.; DA SILVA, B. L.; SARAIVA, S. H.; MARADINI FILHO, A. M.; TEIXEIRA, L. J. Q.; VIDIGAL, J. G.; DE OLIVEIRA, E. R. M. Cinética de fermentação de bebida à base de grãos de kefir e extrato de malte Pilsen. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 6, n 4, p. 15194–15202, 2023.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; GOMES, R.A.R.; OKAZAKI, M.M; IAMANAKA, B. T. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. Editora Blucher: 2021.

VIANA, R. O.; MAGALHAES-GUEDES, K. T.; GRAGA, R. A.; DIAS, D. R.; SCHWAN, R. F. Processo de fermentação para produção de vinagre de kefir à base de maçã: análises microbiológicas, químicas e sensoriais. **Revista Brasileira de Microbiologia**, v. 48, p. 592-601, 2017.

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).