KEFIR DE ÁGUA SABORIZADO COM SUCO DE UVA: EFEITO DAS CONDIÇÕES DA SEGUNDA FERMENTAÇÃO E DO SUBSTRATO FERMENTATIVO

Rafaela Ferreira Goulart[1], Mateus Ribeiro Barreto[1], Lorrayni Mendes do Carmo[1], Wallaf Costa Vimercati[2], Kamila Ferreira Chaves[1], Luciano José Quintão Teixeira[1].

[1]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, mateus.riber894@gmail.com, docarmolorrayni9@icloud.com, kamila.chaves@ufes.br, luqteixeira@yahoo.com.br.

[2]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 presente trabalho avaliou a influência das condições da segunda fermentação (F2) e do tipo de substrato na produção de kefir de água saborizado com suco de uva. Foram avaliados quatro tratamentos, combinando F2 aberta ou fechada com açúcar cristal e mascavo. As fermentações foram realizadas a 25 °C por 24 horas, sendo a primeira fermentação (F1) em sistema aberto. As amostras foram avaliadas quanto ao pH, acidez total titulável, acidez total volátil e parâmetros de cor. Os resultados demonstraram que o tipo de açúcar e a condição da F2 influenciaram as características físico-químicas e colorimétricas das bebidas. As formulações produzidas com açúcar cristal apresentaram menor pH e maior acidez, destacando-se a combinação entre açúcar cristal e F2 aberta ($p<0,05$). O tipo de açúcar exerceu maior influência sobre os parâmetros de cor, enquanto a condição da F2 afetou principalmente o ângulo de tonalidade ($p<0,05$). Assim, concluiu-se que as condições da F2 e a escolha do substrato são determinantes para a obtenção das características físico-químicas e visuais desejadas no kefir de água saborizado com suco de uva.

Palavras-chave: bebida fermentada. fermentação secundária. saborização. colorimetria.

Área do Conhecimento: (Consulte área e subárea em que o trabalho será enviado no endereço https://www.univap.br/inic/areas_conhecimento.php).

Introdução

Os alimentos fermentados têm despertado crescente interesse devido às suas propriedades funcionais, potencial bioativo e à capacidade de contribuir para o equilíbrio da microbiota intestinal (Mojikon *et al.*, 2022; Manoj *et al*., 2023). Entre esses produtos, destaca-se o kefir de água, uma bebida fermentada reconhecida pelos seus diversos potenciais benéficos, atribuídos à diversidade de microrganismos presentes e aos metabólitos produzidos durante a fermentação, como ácidos orgânicos, vitaminas e outros compostos bioativos (Guzel-Seydim *et al*., 2021; Moretti *et al*., 2022; Almeida *et al*., 2025). Além disso, a fermentação contribui para a preservação das propriedades nutricionais e está associada a potenciais benefícios à saúde. A utilização de frutas na elaboração de bebidas fermentadas representa uma estratégia para reduzir perdas de matéria-prima e ampliar a oferta de novos produtos aos consumidores (Bueno *et al.*, 2021; Araújo *et al*., 2023). Assim, o uso de vegetais, como cenoura, maçã, abacaxi, uva e outros também é uma alternativa no processo fermentativo (Corona *et al.*, 2016; Randazzo *et al*., 2016; Fiorda *et al.*, 2017).

A composição do kefir de água é influenciada pela origem dos grãos, pelo substrato utilizado no processo fermentativo e pelas condições de fermentação, fatores que afetam a microbiota e, consequentemente, as características finais da bebida (Lynch *et al*., 2021). Tradicionalmente, o kefir de água é produzido pela incubação dos grãos em uma solução açucarada, em temperaturas entre 20 e 30 °C, durante um período de 24 a 72 horas, geralmente sob condições anaeróbias, embora também possa ocorrer em condições aeróbias (Laureys *et al*., 2018; Pendón *et al*., 2021). Nesse processo, o açúcar refinado e o açúcar mascavo constituem as principais fontes de carbono utilizadas na fermentação, desempenhando papel fundamental no crescimento e na atividade metabólica dos

microrganismos. Ademais, a presença ou ausência de oxigênio durante a fermentação também pode influenciar o desenvolvimento microbiano e as características da bebida obtida (Randazzo *et al*., 2016; Cufaoglu; Erdinc, 2023).

A disponibilidade de oxigênio pode exercer influência direta sobre o comportamento dos microrganismos do kefir de água e sobre a produção de metabólitos durante o processo fermentativo. Em estudo conduzido por Laureys *et al.* (2018), a maior exposição ao oxigênio favoreceu o desenvolvimento de bactérias ácido-acéticas, resultando em maiores concentrações de ácido acético e, consequentemente, em menores valores de pH, quando comparada à condição com menor disponibilidade de oxigênio. As condições com maior exposição ao oxigênio promoveram alterações no perfil de compostos voláteis, sendo observadas maiores concentrações de acetato de etila e menores concentrações de ésteres superiores. Esses resultados demonstram que a disponibilidade de oxigênio durante a fermentação do kefir de água pode modificar a composição microbiana e o perfil metabólico da bebida, podendo refletir em alterações físico-químicas principalmente na acidificação (Laureys *et al.*, 2018). O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da condução da segunda fermentação (F2 aberta ou fechada) e do tipo de açúcar utilizado como substrato fermentativo (cristal ou mascavo), bem como a interação entre esses fatores, sobre as características físico-químicas e colorimétricas do kefir de água saborizado com suco de uva.

Metodologia

Os grãos de kefir foram previamente ativados em solução contendo 5% de grãos e teor de sólidos solúveis de 8,5 °Brix, com substituição diária da solução a cada 24 horas durante um período de 7 dias (Araújo; Macedo; Teixeira, 2023; Almeida *et al.*, 2024). Para a produção do kefir de água saborizado, foram utilizados dois substratos fermentativos, açúcar cristal e açúcar mascavo. A primeira fermentação (F1) foi conduzida em sistema aberto por 24 horas a 25 °C e 8,5 °Brix, para obtenção da água kefirada, sendo posteriormente realizada a filtração dos grãos de kefir e separação da água kefirada. Para a segunda fermentação (F2), 30% de suco de uva foi adicionados à água kefirada, e a bebida foi incubada em sistema aberto ou fechado por 24 horas a 25 °C, conforme os tratamentos experimentais descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Tamanho e estilo das fontes.

Tratamento	F2	Substrato
T1	Aberta	Açúcar cristal
T2	Fechada	Açúcar cristal
T3	Aberta	Açúcar mascavo
T4	Fechada	Açúcar mascavo

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

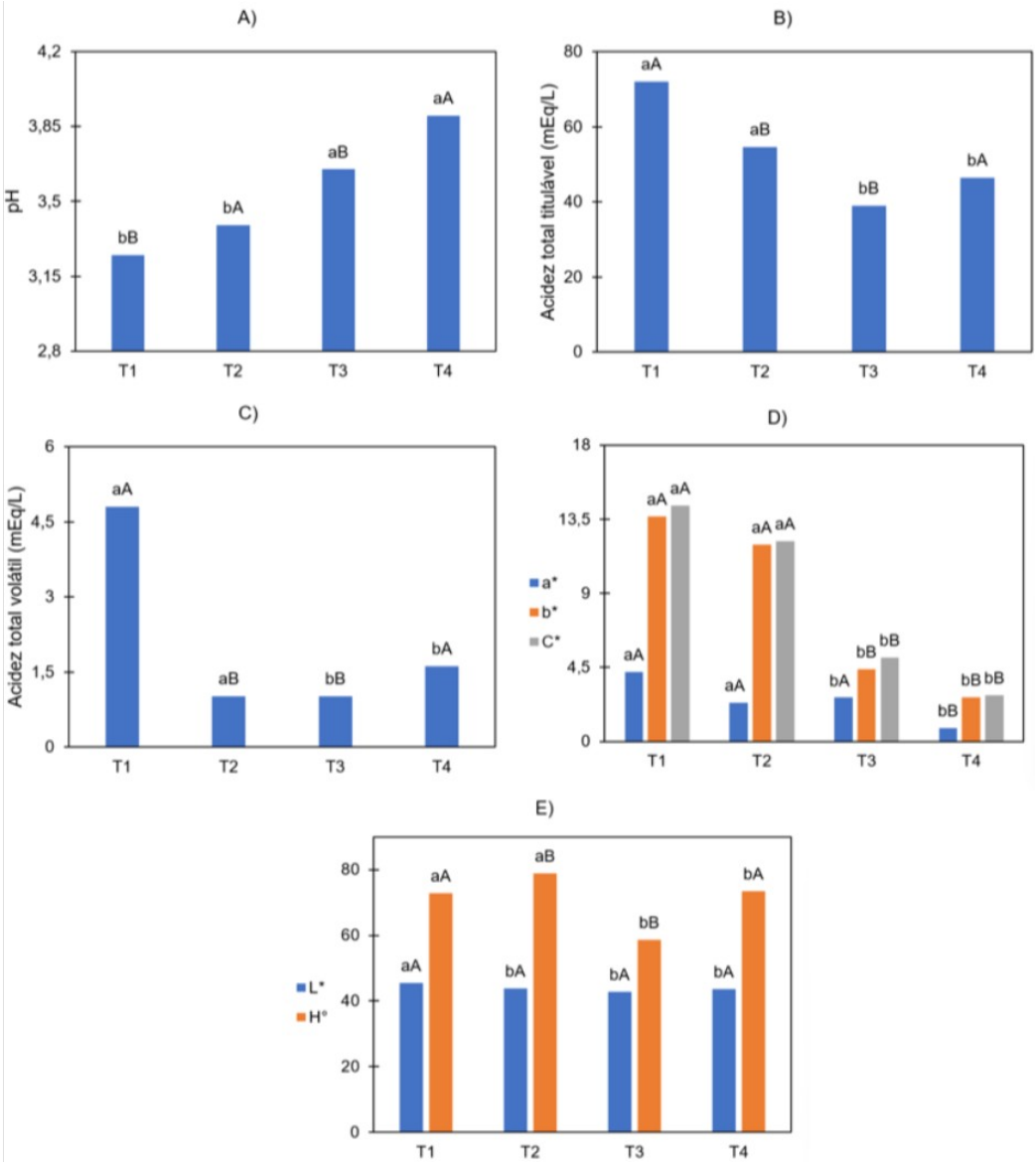
Os parâmetros físico-químicos, tais como pH, acidez total titulável e acidez total volátil foram determinados conforme a metodologia da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2000). Os parâmetros colorimétricos L*, a* b*, C* e h°, foram obtidos por um colorímetro (Konica Minolta, Spectrophotometer CM-5) (Vimercati *et al.,* 2020).

Os dados obtidos nas análises físico-químicas e de colorimetria foram submetidos à análise de variância (ANOVA), segundo um delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2 × 2 (dois substratos fermentativos x duas condições de F2), seguido por teste de tukey ao nível de 5% de significância, com três repetições, totalizando 12 unidades experimentais. Todas as análises laboratoriais foram realizadas em triplicata, utilizando o software GENES, conforme descrito por Cruz (2013).

Resultados

A Figura 1 apresenta os parâmetros físico-químicos, pH, acidez total titulável e volátil, e as características de cor do kefir de água saborizado com suco de uva nos diferentes tratamentos.

Figura 1 - Parâmetros físico-químicos e colorimétricos do kefir de água saborizado com suco de uva nos diferentes tratamentos.



Fonte: elaborado pelos próprios autores.

Legenda: T1: F2 aberta e açúcar cristal; T2: F2 fechada e açúcar cristal; T3: F2 aberta e açúcar mascavo; T4: F2 fechada e açúcar mascavo. As letras maiúsculas comparam os tratamentos com diferentes condições de F2 e as letras minúsculas comparam os substratos fermentativos.

A avaliação dos parâmetros de pH, acidez total (titulável e volátil) e cor evidenciou que a condição da F2 e o tipo de açúcar influenciaram significativamente ($p<0,05$) as características finais da bebida. Em relação ao pH (Figura 1A), as bebidas produzidas com açúcar cristal apresentaram menor valor em relação às produzidas com o açúcar mascavo (letra minúscula), para ambos os tipos de F2 (aberta e fechada) ($p<0,05$), com os valores de pH variando de 3,25 a 3,65. A condição de F2 fechada apresentou valores de pH significativamente ($p<0,05$) maiores que a F2 aberta, com valores de 3,39 e 3,90 (letra maiúscula).

A acidez total titulável e acidez total volátil (Figura 1B e 1C) apresentaram comportamento inverso ao observado para o pH, sendo significativamente ($p<0,05$) maior nas bebidas produzidas com açúcar cristal, sendo o maior valor observado no T1 elaborado com açúcar cristal e F2 aberta. Para as formulações elaboradas com açúcar cristal, foram obtidos valores de 72,0 mEq/L e 54,6 mEq/L nas condições de F2 aberta e fechada, respectivamente para acidez titulável, enquanto as bebidas produzidas com açúcar mascavo apresentaram valores de 39,0 mEq/L na F2 aberta e 46,5 mEq/L na F2 fechada. A acidez volátil obteve 4,8 mEq/L para T1, e os demais tratamentos apresentaram valores entre 1,02 e 1,62 mEq/L.

Os parâmetros colorimétricos (Figuras 1D e 1E) demonstraram que o tipo de açúcar influenciou estatisticamente ($p<0,05$) nas características das bebidas. Para o parâmetro a*, observou-se diferença estatística ($p<0,05$) entre os açúcares (letra minúscula), com maior valor para o T1. Para os parâmetros b* e C*, foram observadas diferenças entre os tipos de açúcar (letra minúscula) nas duas condições de F2 (letra maiúscula). A luminosidade (L*) foi influenciada significativamente ($p<0,05$) pelo tipo de açúcar entre T1 e T3 (letra minúscula), com maior valor para T1 elaborado com açúcar cristal. O tipo de açúcar (letra minúscula) e o efeito da condição de F2 (letra maiúscula) apresentaram diferença significativa ($p<0,05$) no parâmetro h°. Os maiores valores de h° foram observados em T1 e T2, elaborados com açúcar cristal.

Discussão

As bebidas produzidas com açúcar cristal apresentaram valores de pH inferiores aos daquelas elaboradas com açúcar mascavo (Figura 1A), indicando uma acidificação mais intensa. Essa menor acidificação proporcionada pelo açúcar mascavo sugere diferenças na sua composição que influenciam a atividade metabólica dos grãos de kefir durante a fermentação. Os resultados obtidos corroboram com os encontrados por Lima *et al*. (2024), que ao avaliarem a influência de diferentes fontes de açúcar (coco, mascavo e refinado) na fermentação do kefir de água, observaram uma redução nos valores de pH, mais acentuada com o açúcar refinado.

Quanto à acidez total titulável e volátil (Figura 1B e 1C), observou-se que a combinação de F2 aberta e açúcar cristal (T1) proporcionou uma acidificação mais intensa, indicando maior produção de ácidos orgânicos. Tavares *et al.* (2023) também avaliaram diferentes substratos açucarados na produção de kefir de água e verificaram um aumento da acidez em decorrência da produção de ácidos orgânicos pelos microrganismos. Contudo, diferentemente do observado por esses autores, que encontraram maior acidez em bebidas com açúcar mascavo, nossos resultados destacaram o açúcar cristal como o substrato que favoreceu a maior acidificação, reforçando que a resposta fermentativa é influenciada tanto pela condição da F2 quanto pela composição do substrato utilizado.

Santos et al. (2023), ao utilizarem suco de uva integral como matriz fermentativa, observaram que não houve variação significativa para luminosidade (L*), mas que os parâmetros a* e b* foram influenciados. Resultados semelhantes foram observados no presente estudo, pois a condição da F2 (letra maiúscula) também não afetou significativamente ($p>0,05$) a luminosidade (Figura 1E) das bebidas. Entretanto, o tipo de açúcar (letra minúscula) exerceu maior influência sobre os parâmetros b* e C* (Figura 1D), enquanto a F2 (letra maiúscula) influenciou o h°. Essas diferenças podem ser atribuídas às diferentes metodologias utilizadas no processamento, visto que Santos *et al*. (2023) utilizaram o suco de uva como base fermentativa, enquanto nesta pesquisa, a adição do suco de uva ocorreu apenas na segunda etapa (F2).

Conclusão

Os resultados demonstraram que o tipo de açúcar e a condição da F2 influenciaram significativamente as características de pH, acidez total titulável, acidez total volátil e de cor das bebidas

de kefir de água saborizadas com suco de uva. As formulações elaboradas com açúcar cristal apresentaram menores valores de pH e maiores valores de acidez total titulável, com destaque para a combinação entre o açúcar cristal e a F2 aberta, que apresentou os maiores valores de acidez total titulável e volátil. Esses resultados indicam que essa condição favoreceu maior acidificação e maior formação e acúmulo de compostos ácidos durante o processo fermentativo. Em relação aos parâmetros colorimétricos, o tipo de açúcar exerceu maior influência sobre a luminosidade, intensidade da cor amarela e saturação da cor, enquanto a condição da F2 influenciou principalmente o ângulo de tonalidade. Dessa forma, a escolha do substrato e das condições de F2 mostrou-se essencial para as características finais do produto de acordo com as desejadas para o kefir de água saborizado com suco de uva, evidenciando que essas características têm importância para determinar o processo fermentativo.

Referências

ALMEIDA, K. V. de *et al*. Powdered water kefir: effect of spray drying and lyophilization on physical, physicochemical, and microbiological properties. **Food Chemistry Advances**, v. 5, n. 1, p. 100759, 2024.

ALMEIDA, K. V. de *et al*. Water kefir: review of microbial diversity, potential health benefits, and fermentation process. **Processes**, v. 13, n. 3, p. 885, 2025.

AOAC. Official methods of analysis. 17. ed. Gaithersburg: AOAC International, 2000.

BUENO, R. S. *et al*. Quality and shelf life assessment of a new beverage produced from water kefir grains and red pitaya. **LWT**, v. 140, p. 110770, 2021.

CORONA, O. *et al*. Characterization of kefir-like beverages produced from vegetable juices. LWT - **Food Science and Technology**, v. 66, p. 572-581, 2016.

CRUZ, C. D. Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013

CUFAOGLU, G.; ERDINC, A. N. An alternative source of probiotics: Water kefir. **Food Frontiers**, v. 4, n. 1, p. 21-31, 2023.

FIORDA, F. A. *et al*. Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation: a review. **Food Microbiology**, v. 66, p. 86-95, 2017.

GUZEL-SEYDIM, Z. B.; GÖKIRMAKLI, Ç.; GREENE, A. K. A comparison of milk kefir and water kefir: physical, chemical, microbiological and functional properties. **Trends in Food Science & Technology**, v. 113, p. 42-53, 2021.

LAUREYS, D.; AERTS, M.; VANDAMME, P.; DE VUYST, L. Oxygen and diverse nutrients influence the water kefir fermentation process. **Food Microbiology**, v. 73, p. 351-361, 2018.

LIMA, A. L. B. C. *et al*. Different sources of sucrose in water kefir fermentation. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 27, p. e2024012, 2024.

LYNCH, K. M. *et al*. An update on water kefir: microbiology, composition and production. **International Journal of Food Microbiology**, v. 345, n. 1, p. 109128, 2021.

MANOJ, P. M. *et al.* Fruit based probiotic functional beverages: a review. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 14, p. 100729, 2023.

MOJIKON, F. D. *et al.* Probiotication of nutritious fruit and vegetable juices: an alternative to dairy-based probiotic functional products. **Nutrients**, v. 14, n. 17, p. 3457, 2022.

MORETTI, A. F. *et al.* Water kefir, a fermented beverage containing probiotic microorganisms: from ancient and artisanal manufacture to industrialized and regulated commercialization. **Future Foods**, v. 5, p. 100123, 2022.

PENDÓN, M. D *et al*. Water kefir: factors affecting grain growth and health-promoting properties of the fermented beverage. **Journal of Applied Microbiology**, v. 133, n. 1, p. 162-180, 2022.

RANDAZZO, W. *et al*. Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. **Food Microbiology**, v. 54, p. 40-51, 2016.

SANTOS, S. A. dos *et al*. Probiotification of whole grape juice by water kefir microorganisms. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 66, p. e23210475, 2023.

SILVA ARAÚJO, C. da; MACEDO, L. L.; TEIXEIRA, L. J. Q. Use of mid-infrared spectroscopy to predict the content of bioactive compounds of a new non-dairy beverage fermented with water kefir. **LWT**, v. 176, p. 114514, 2023.

TAVARES, P. P. L. G. *et al.* Non-conventional sucrose-based substrates: development of non-dairy kefir beverages with probiotic potential. **Fermentation**, v. 9, n. 4, p. 384, 2023.

VIMERCATI, W. C. *et al*. Physicochemical, rheological, microbiological and sensory properties of newly developed coffee flavored kefir. **LWT**, v. 123, p. 109069, 2020.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (Fapes nº 12/2024; Termos de outorga 420/2025 e Fapes/CNPq nº 06/2024, Termos de outorga 245/2025). Os autores agradecem ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Espírito Santo.