

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E PERFIL FÍSICO-QUÍMICO DO KEFIR DE ÁGUA SABORIZADO COM SUCO DE UVA E MAÇÃ

Gabriele Estofeles Louzada, Samarha Pacheco Wichello, Maria Luiza Montenegro Secco, Marisa da Silva Corrêa, Sérgio Henriques Saraiva, Luciano José Quintão Teixeira.

Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, S/N, Guararema - 29500-000 - Alegre – ES, Brasil, gabrielelouzadanutri@gmail.com.

Resumo

O kefir de água é uma bebida fermentada consumida no Brasil e em todo o mundo devido a suas propriedades funcionais potencialmente probióticas que trazem diversos benefícios à saúde. O objetivo do presente estudo foi comparar a capacidade antioxidante e o perfil físico-químico do kefir de água saborizado com suco de frutas após os tempos de 24 horas (F₁) e 48 horas de fermentação (F₂). Foram realizadas análises da capacidade antioxidante por três métodos distintos, pH, análise de cor e dos compostos fenólicos totais presentes nas amostras. Foi realizada a análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste *Tukey* de comparação múltipla de médias, além disso, foi realizado o teste *Scheffé* para comparar os grupos 24 e 48h. Os resultados obtidos foram expressos pela média de três repetições. A adição de suco de frutas melhora o potencial biológico do kefir de água, porém o resultado é diferente para diferentes sabores empregados. A segunda fermentação promove um aumento significativo da capacidade antioxidante e do teor de compostos fenólicos no kefir de uva e de maçã. Além desses fatores sugerem-se estudos de aceitação sensorial e microbiológico para escolha dos sabores a serem utilizados nesses produtos.

Palavras-chave: Bebida fermentada. Kefir de água. Resveratrol. Compostos fenólicos.

Área do conhecimento: Ciências da Saúde – Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Introdução

Os alimentos com propriedades funcionais vêm ganhando destaque, em virtude disso, o kefir tem adquirido visibilidade por conter propriedades potencialmente probióticas que trazem benefícios para a saúde. O kefir é uma bebida fermentada por uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras sendo viscosa, levemente carbonatada e contendo baixo teor de álcool. Ele é muito consumido no Oriente Médio, e em todo o mundo (Otlés; Cagindi, 2003).

Os grãos de kefir são capazes de fermentar diversos alimentos, como leite de vaca, búfala, açúcar mascavo, sucos de frutas, extrato de soja, entre outros. Desse modo, o kefir tornou-se uma alternativa viável na produção de bebidas fermentadas por ser de baixo custo, fácil preparo, e ainda conter microrganismos potencialmente probióticos na sua composição (Urdaneta *et al.*, 2007). Além disso, o kefir de água tem propriedade antimicrobiana, anti-inflamatória e antioxidante. Em virtude disso, ele possui ação gastroprotetora, hepatoprotetora e é capaz de reduzir o colesterol e níveis de LDL (Lipoproteína de Baixa Densidade), uma vez que os microrganismos probióticos promovem a saúde intestinal por meio da formação de metabólitos (Esatbeyoglu *et al.*, 2023).

A adição de suco integral no kefir de água é uma forma estratégica de contribuir positivamente com as características sensoriais da bebida, potencializando o valor nutricional e características antioxidantes (Alsayadi *et al.*, 2013). Visto que, o suco integral de uva e maçã contém compostos fenólicos como o resveratrol e flavonoides, respectivamente, que são componentes que auxiliam na redução de espécies reativas de oxigênio, além de atuarem na ativação de enzimas antioxidantes no organismo.

Pensando nisso, o presente estudo tem como objetivo comparar a capacidade antioxidante e o perfil físico-químico do kefir de água em tempos de fermentação diferentes (24 e 48h), com três tipos de

formulações: sem adição de suco; com adição de suco integral de uva e com adição de suco integral de maçã.

Metodologia

O presente estudo foi realizado nos laboratórios de química de alimentos e de operações unitárias por mestrandos da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), campus de Alegre. Os grãos foram obtidos por doação. Os sucos utilizados foram adquiridos no supermercado da cidade. Na Figura 1 está ilustrado o fluxograma experimental do kefir de água.



Fonte: os autores (2024).

Para a caracterização da capacidade antioxidante das bebidas a base de kefir, foram utilizados os seguintes métodos de avaliação: ABTS, DPPH, FRAP e Fenólicos Totais. A capacidade antioxidante pelo método 2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS) teve seus resultados expressos em mg de equivalente de trolox/mL de bebida conforme proposto por Rufino *et al.* (2007). A captura do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) foi medida seguindo a metodologia adaptada da EMBRAPA por Silveira *et al.* (2018) e os resultados também foram expressos em mg de equivalente de trolox/mL de amostra. Já o método *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) foi feito segundo Rufino *et al.* (2006), e os resultados foram expressos em mg de sulfato ferroso/mL de amostra.

Ademais, para a análise de fenólicos totais a determinação seguiu a metodologia de Folin-Ciocalteu (SINGLETON e ROSSI 1965) e os resultados foram expressos em mg de ácido gálico equivalente/mL de amostra.

O valor de pH foi obtido por meio de um pHmetro segundo Instituto Adolfo Lutz (2008), e a cor instrumental por meio de um colorímetro digital (Konica Minolta; CM-5) através da escala de cor CIELAB em que: L* (luminosidade), a* (intensidade de avermelhada e verde) e b* (intensidade de amarelo e azul). A análise estatística foi realizada por meio da análise de Variância (ANOVA) e Teste de Tukey. Além disso, foi realizado um contraste entre os tratamentos (T1, T2, T3) com (T4, T5, e T6) ao nível 5% de probabilidade pelo teste de Scheffé para indicar se a havia diferença de capacidade antioxidante entre a primeira fermentação F₁ com a segunda, F₂.

Resultados

O Contrastes entre os tratamentos (T1, T2, T3) com (T4, T5 e T6) foi significativo ao nível 5% de probabilidade pelo teste de Scheffé indicando que o tempo de fermentação influenciou na capacidade antioxidante do kefir de água sendo maior após a segunda fermentação quando comparada com a primeira fermentação.

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados obtidos para os três métodos de determinação da capacidade antioxidante, assim como a quantificação dos teores de fenólicos totais para os diferentes tratamentos propostos. Já a Tabela 2 traz a caracterização dos grupos em relação ao valor de pH e à cor instrumental avaliada.

Tabela 1- Ensaio das atividades antioxidantes ABTS, DPPH, FRAP e FENÓLICOS TOTAIS.

Tratamentos	ABTS Concentração (mg TE/ mL)	DPPH Concentração (mg TE/ mL)	FRAP Concentração (mg FeSO ₄ / mL)	FENÓLICOS TOTAIS Concentração (mg GAE/ mL)
T1	66,24a	61,44a	2,78a	0,02a
T2	99,52b	65,32b	3,03b	0,13b
T3	75,33a	62,07a	2,93a	0,03a
T4	104,27bc	65,61bc	4,43b	0,20bc
T5	117,38c	71,37d	10,46c	0,26c
T6	77,33a	66,98c	10,20c	0,20c

T1 – Água kefirada (fermentada por 24h / F₁); T2 - Água kefirada + suco de uva (tempo zero); T3 - Água kefirada + suco de maçã (tempo zero); T4 - Água kefirada (fermentada por 48h); T5 - Água kefirada + suco de uva + fermentação por 24h (F₂); T6 - Água kefirada + suco de uva + fermentação por 24h (F₂). F₁ + F₂ = 48h.

* Médias seguidas por uma mesma letra, em uma mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05).

**valores referem-se à média de três repetições.

Tabela 2- Ensaio de pH e colorimetria para os diferentes tratamentos.

Tratamentos	pH	L*	a*	b*
T1	3,34bc	41,84c	3.73a	21,89c
T2	3.65d	5.06a	20.83b	8.46a
T3	3.18a	38.40b	3.93a	29.19bc
T4	3.36bc	36.32b	4.35a	23.77b
T5	3.27ab	5.14a	20.69b	8.47a
T6	3.40c	37.11b	4.36a	24.11b

T1 – Água kefirada (fermentada por 24h / F₁); T2 - Água kefirada + suco de uva (tempo zero); T3 - Água kefirada + suco de maçã (tempo zero); T4 - Água kefirada (fermentada por 48h); T5 - Água kefirada + suco de uva + fermentação por 24h (F₂); T6 - Água kefirada + suco de uva + fermentação por 24h (F₂). F₁ + F₂ = 48h.

* Médias seguidas por uma mesma letra, em uma mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05)

**valores referem-se à média de três repetições.

Discussão

A adição de suco de uva à água kefirada (T2) proporcionou um aumento da capacidade antioxidante por todos os métodos e do teor de fenólicos totais (comparação entre T1 e T2). Por outro lado, a adição do suco de maçã (T3) não alterou estes parâmetros em relação ao T1. Este comportamento já era esperado devido a alta concentração de compostos fenólicos no suco de uva.

Para avaliar o efeito da segunda fermentação devemos comparar os tratamentos: (1 com 4; 2 com 5; e 3 com 6). Nota-se que o aumento do tempo de fermentação, ou seja, após a F₂, teve um aumento significativo na capacidade antioxidante para todos os métodos (com exceção do ABTS na comparação de T3 com T6). Isso indica que a segunda fermentação influenciou de forma positiva no potencial biológico desses produtos, sendo que o maior efeito foi observado quando foi adicionado suco de uva. Esse resultado está em consonância com o estudo de Arro *et al.* (2012) que relataram que quanto maior a fermentação do kefir de água, maior é o potencial antioxidante da bebida. Desta forma, a segunda fermentação além de promover a carbonatação da bebida, também melhora seu valor funcional. Alsayadi *et al.* (2013) avaliaram o kefir de água em diferentes tempos de fermentação, e foi demonstrado que quanto maior o tempo de fermentação maior a capacidade antioxidante corroborando com os resultados obtidos nesse trabalho, além disso, eles demonstraram que a adição de suco melhora ainda mais o perfil de antioxidantes e a aceitação sensorial da bebida.

A adição de suco de maçã por si (T1 com T4) não alterou a concentração de compostos fenólicos, mas mesmo nesse sabor, após a segunda fermentação (T3 com T6) houve aumento significativo ($p < 0,05$) da concentração de compostos fenólicos. Assim a saborização com maçã seguida de uma segunda fermentação também teve efeitos positivos em relação ao teor de compostos fenólicos. O efeito da fermentação no teor de compostos fenólicos é corroborado pelos estudos feitos por Du *et al.* (2023). Eles fizeram uma fermentação utilizando suco de *Gojiberry* com grãos de kefir tibetanos (TKG), e observaram um aumento significativo no teor de compostos fenólicos solúveis que passou de 196,30 para 309,17 mg GAE/100 mL após as primeiras 36 horas de fermentação ($p < 0,01$). Este aumento pode ser atribuído à liberação de compostos fenólicos das paredes celulares por ação enzimática com o aumento do tempo de fermentação.

Por outro lado, os pesquisadores, (SEPTEMBRE-MALATERRE; REMIZE; POUCHERET, 2018) expõem que também pode ocorrer à diminuição de fenólicos totais em bebidas fermentadas, porque essa mudança depende das bactérias lácticas presentes na bebida, e ainda atribuíram essas diminuições devido à degradação metabólica de compostos fenólicos por diferentes cepas de bactérias lácticas envolvidas no processo de fermentação. Esse efeito não foi observado no presente trabalho, mas recomendam-se novos estudos com diferentes sabores e diferentes tempos de fermentação.

O valor de pH dos diferentes tratamentos variou de 3,18 a 3,65, indicando tratar-se de um produto de alta acidez e, portanto, sem condições para crescimento de bactérias patogênicas. Como se trata de uma fermentação de grãos diferentes espera-se variação dos resultados. Ainda assim, os resultados de Randazzo *et al.* (2016) foram semelhantes ao do presente estudo, pois eles encontraram valores de (pH < 4) obtidos em kefir de água produzido a partir de suco de fruta mediterrânea.

Não houve diferença significativa do valor de pH em relação ao tempo de fermentação da água kefirada (T1 comparado com T4). Por outro lado, ao adicionar suco de uva (T2) houve um pequeno aumento (de 3,34 para 3,65) do valor de pH quando comparado aos demais, mesmo assim continua sendo um produto de alta acidez. Além disso, após a F₂, ocorreu a redução do pH dessa preparação. Porém, pode-se observar que com a adição do suco de maçã na formulação (T3 e T6), houve aumento do pH entre os tratamentos que evidencia que ao adicionar o suco no kefir é possível aumentar o pH da bebida. No trabalho de Esatbeyoglu *et al.* (2023) encontrou resultado semelhante quando avaliaram o pH do kefir de água encontraram o pH de (3,39) e ao adicionar o suco, o pH aumentou ligeiramente ($3,59 \pm 0,01$).

Segundo os resultados da colorimetria o parâmetro L*, nota-se que houve redução da luminosidade devido à adição de sucos de frutas. Isso está relacionado à presença de pigmentos nos sucos. Como esperado, a redução foi maior para a adição do suco de uva em relação ao suco de maçã. Os parâmetros a* e b* foram positivos, indicando um produto vermelho e/ou amarelado. Conforme o esperado a adição de suco de uva causou um aumento da cor vermelha (T2 comparado a T1, mas não foi afetado pela segunda fermentação (T2 comparado a T5). A adição de suco de maçã por sua vez intensificou a cor amarela (T1 comparado a T3) e também não sofreu influência da F₂ (T3 comparado a T6). Segundo o trabalho de Esatbeyoglu *et al.* (2023), que avaliou o kefir de água não fermentado e fermentado com bagaço e suco, os valores dos parâmetros L*, a* e b* do kefir de água feito com suco

aumentou significativamente após a fermentação ($p < 0,05$) resultado distinto ao deste trabalho. Corona *et al.* (2016) relatam que a diferença de cor no kefir de água com a adição de suco de cenoura e erva-doce era de 2,94 e 11,55, respectivamente com a adição de suco com pigmento maior luminosidade e intensidade de cor quando comparado com kefir sem adição de suco.

Conclusão

O kefir saborizado com suco de uva apresentou maior capacidade antioxidante em relação à água kefirada e também no que se refere à adição de suco de maçã. A segunda fermentação promoveu um aumento da capacidade antioxidante para os dois sabores testados indicando que além de promover a carbonatação da bebida ocorre a produção de compostos bioativos.

Em relação à caracterização físico-química, observou-se que o pH do kefir de água é abaixo de 3,7 caracterizando-se como uma bebida de alta acidez. O valor de pH aumentou ligeiramente com a adição de suco de uva, porém continuou abaixo de 3,70 e foi reduzido após a segunda fermentação.

No que se refere à cor do produto ele se tornou menos luminoso e mais avermelhado com a adição de suco de uva e mais amarelado com a adição de suco de maçã.

Finalmente conclui-se que a adição de suco melhora o potencial biológico do produto, porém o resultado é diferente para diferentes sabores. Além desses fatores sugerem-se estudos de aceitação sensorial e microbiológico para escolha dos sabores a serem utilizados.

Referências

ALSAYADI, M. S. M.; AL, JAWFI, Y.; BELARBI, M.; Z. SABRI, F. ANTIOXIDANT POTENCY OF WATER KEFIR. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, v. 2, n. 6, p. 2444–2447, 2013.

ARRO, S.; BRANDELLI, A. Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay. *Food Res Int.*, v. 48, p. 322 - 329, 2012.

CONSTANTIN, EA.; POPA-TUDOR, I.; MATEI, F.; CONSTANTINESCU-ARUXANDEI, D.; OANCEA, F. Avaliação do conteúdo de polifenóis e atividade antioxidante do kefir de água padrão. *Chemistry Proceedings*, v. 13, n. 1, 2023.

CORONA, O.; RANDAZZO, W.; MICELI, A.; GUARCELLO, R.; FRANCESCA, N.; ERTEN, H.; MOSCHETTI, G.; SETTANNI, L. Characterization of kefir-like beverages produced from vegetable juices. *LWT-Food Science and Technology*, v. 66, p. 572–581, 2016.

DU, G.; QING, Y.; WANG, H.; WANG, N.; YUE, T.; YUAN, Y. Effects of Tibetan kefir grain fermentation on the physicochemical properties, phenolics, enzyme activity, and antioxidant activity of Lyciumbarbarum (Goji berry) juice, *Food Bioscience*, v. 53, 2023.

ESATBEYOGLU, T.; FISCHER, A.; LEGLER, A. D.S.; ONER, M. E.; WOLKEN, H.F.; KÖPSEL, M.; OZOGUL, Y.; ÖZYURT, G.; BIASE, D.D.; OZOGUL, F. Physical, chemical, and sensory properties of water kefir produced from Aronia melanocarpa juice and pomace, *Food Chemistry: X*, v.18, n. 100683, 2023.

GÜLHAN, A. Use of ice teas formulated with black teas prepared with different infusion methods and grape juice in the production of water kefir beverages, *Food and Humanity*, v. 2, 2024.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*. 4 ed. São Paulo: IMESP, 2008.

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.

RANDAZZO, W.; CORONA, O.; GUARCELLO, R.; FRANCESCA, N.; GERMAN A, M. A.; ERTEN, H.; SETTANNI, L. Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. *Food Microbiology*, v. 54, p. 40–51, 2016.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; JIMENES-PEREZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**, p. 4, 2006.

RUFINO, M. do S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. de; MORAIS, S. M. de; SAMPAIO, C. de G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS, **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2007.

SEPTEMBRE-MALATERRE. A.; REMIZE, F.; POUCHERET, P. Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation. **Food Research International**. v. 104, p. 86-99, 2018.

SILVEIRA, A. C. da; KASSUIA, Y. S.; DOMAHOVSKI, R. C.; LAZZAROTTO, M. Método de DPPH adaptado: uma ferramenta para analisar atividade antioxidante de polpa de frutos da erva-mate de forma rápida e reprodutível. **Embrapa Florestas**, 2018.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

URDANETA, E.; BARRENETXE, J.; ARANGUREN, P.; IRIGOYEN, A.; MARZO, F.; IBÁÑEZ, F. C. Intestinal beneficial effects of kefir-supplemented diet in rats. **Nutrition Research**, v. 27, n. 10, p. 653-658, 2007.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES-ALEGRE), com o apoio das unidades de fomento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).