

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO LEITE E
DERIVADOS

Livia Assis de Oliveira

**Desenvolvimento de leite fermentado de kefir com leite de cabra adicionado de
luteína e suco concentrado de cana**

Juiz de Fora

2024

Lívia Assis de Oliveira

Desenvolvimento de leite fermentado de kefir com leite de cabra adicionado de luteína e suco concentrado de cana

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados. Área de concentração: Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados.

Orientador: Dr. Junio César Jacinto de Paula

Coorientadora: Dr^a. Patrícia Aparecida Pimenta Pereira

Juiz de Fora

2024

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Oliveira, Lívia Assis de .

Desenvolvimento de leite fermentado de kefir com leite de cabra adicionado de luteína e suco concentrado de cana / Lívia Assis de Oliveira. -- 2024.

61 p. : il.

Orientador: Junio César Jacinto de Paula

Coorientadora: Patrícia Aparecida Pimenta Pereira

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, 2024.

1. Kefir de Leite de Cabra. 2. Luteína . 3. Suco Concentrado de Cana. 4. Atividade Antioxidante . I. Paula, Junio César Jacinto de, orient. II. Pereira , Patrícia Aparecida Pimenta , coorient. III. Título.

Lívia Assis de Oliveira

Desenvolvimento de leite fermentado de kefir com leite de cabra adicionado de luteína e suco concentrado de cana

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados. Área de concentração: Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados.

Aprovada em 30 de agosto de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Junio César Jacinto de Paula - Orientador
EPAMIG/ILCT

Profa. Dra. Patrícia Aparecida Pimenta Pereira - Coorientadora
Universidade Federal de Ouro Preto

Profa. Dra. Renata Golin Bueno Costa
EPAMIG/ILCT

Profa. Dra. Ana Flávia Coelho Pacheco

EPAMIG/ILCT

Profa. Dra. Denise Sobral

EPAMIG/ILCT

Profa. Dra. Alessandra Pereira Sant'Anna Salimena

EPAMIG/ILCT

Juiz de Fora, 15/08/2024.



Documento assinado eletronicamente por **Junio Cesar J. de Paula, Usuário Externo**, em 18/12/2024, às 10:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Patrícia Aparecida Pimenta Pereira, Usuário Externo**, em 18/12/2024, às 14:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renata Golin Bueno Costa, Usuário Externo**, em 19/12/2024, às 15:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Denise Sobral, Usuário Externo**, em 19/12/2024, às 16:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alessandra Pereira Sant Anna Salimena, Usuário Externo**, em 19/12/2024, às 17:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Flávia Coelho Pacheco Paiva, Usuário Externo**, em 20/12/2024, às 13:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1927032** e o código CRC **C357D844**.

AGRADECIMENTOS

Com o coração cheio de gratidão, agradeço a Deus pela presença constante em minha vida, concedendo-me força, sabedoria e serenidade para enfrentar os desafios e transformar meus sonhos em realidade.

Aos meus pais, cujo amor, apoio e incentivo foram fundamentais nessa jornada. Sou eternamente grata pela educação que vocês me deram, por me guiarem com sabedoria e por sempre acreditarem no meu potencial.

Ao meu irmão, por sempre me incentivar e por não medir esforços para me ajudar.

Ao meu orientador, Professor Dr. Junio César Jacinto de Paula, e à minha coorientadora, Professora. Dr^a. Patrícia Aparecida Pimenta Pereira, que, apesar da intensa rotina de suas vidas acadêmicas, aceitaram me orientar neste trabalho, dedicando-me seu tempo e conhecimento.

A Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – Instituto de Laticínios Cândido Tostes (EPAMIG-ILCT) e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), pela disponibilidade de recursos, infraestrutura e apoio técnico necessário para execução deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, agradeço por trazerem uma perspectiva única e enriquecedora, contribuindo significativamente para o meu aprendizado e crescimento.

Agradeço às Professoras: Dr^a. Renata Golin Bueno Costa, Dr^a. Ana Flávia Coelho Pacheco, Dr^a. Denise Sobral e a bolsista de Desenvolvimento em Ciência, Tecnologia e/ou Inovação (BDCTI), Dr^a. Alessandra Pereira Sant'Anna Salimena, membros da banca examinadora, por terem aceitado o convite, e ter dedicado seu tempo e conhecimento à análise deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio fundamental que viabilizou a realização deste projeto.

À Professora e Pesquisadora Dr^a. Gisela de Magalhães Machado Moreira, ao funcionário Sebastião Afonso Filho, a M.Sc. Flaviana Coelho Pacheco e a M.Sc. Letícia Scafutto, por todas as contribuições.

Aos meus amigos, especialmente à Carla Gravel da Costa Osta, pela amizade e apoio constante durante essa jornada.

"Seja qual for o seu sonho, dedique-se inteiramente para alcançá-lo."

(Ayrton Senna)

RESUMO

O crescente interesse por alimentos com potencial funcional tem impulsionado o desenvolvimento de produtos que combinem valor nutricional e propriedades bioativas. Nesse contexto, o kefir destaca-se como uma bebida fermentada obtida a partir de um consórcio simbiótico de bactérias ácido lácticas e leveduras, associado a diversos benefícios à saúde. O presente estudo teve como objetivo desenvolver e caracterizar bebidas fermentadas de kefir elaboradas com leite de cabra adicionadas de luteína, avaliando o efeito da utilização de diferentes adoçantes (açúcar cristal e suco concentrado de cana) sobre as propriedades físico-químicas, microbiológicas e antioxidantes das formulações. Foram elaboradas três formulações: controle (sem adoçante), formulação com 10% de açúcar cristal e formulação com 10% de suco concentrado de cana. As bebidas foram avaliadas quanto à composição centesimal, pH, acidez titulável, cor instrumental (L^* , a^* e b^*), capacidade de retenção de água, sinérese, teor de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH, além de análises microbiológicas. Os resultados demonstraram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as formulações para diversos parâmetros físico-químicos e tecnológicos. A bebida contendo suco concentrado de cana apresentou maior capacidade de retenção de água e menor sinérese, indicando maior estabilidade estrutural da matriz do produto. Além disso, essa formulação apresentou os maiores teores de compostos fenólicos totais e maior atividade antioxidante nos ensaios ABTS e DPPH. As análises microbiológicas indicaram conformidade para bactérias ácido lácticas e ausência de coliformes, enquanto as contagens de leveduras apresentaram valores inferiores aos limites de referência descritos na legislação. Os resultados obtidos indicaram que a utilização de suco concentrado de cana pode contribuir para a melhoria de características tecnológicas e antioxidantes de bebidas fermentadas de kefir elaboradas com leite de cabra, demonstrando potencial para o desenvolvimento de produtos lácteos fermentados com propriedades funcionais.

Palavras-chave: Kefir de leite de cabra; luteína; suco concentrado de cana; atividade antioxidante.

ABSTRACT

The growing interest in functional foods has stimulated the development of products that combine nutritional value with bioactive properties. In this context, kefir stands out as a fermented beverage obtained from a symbiotic consortium of lactic acid bacteria and yeasts, which has been associated with several health benefits. The present study aimed to develop and characterize fermented kefir beverages produced with goat milk and supplemented with lutein, evaluating the effect of different sweetening agents (crystal sugar and concentrated sugarcane juice) on the physicochemical, microbiological, and antioxidant properties of the formulations. Three formulations were prepared: a control formulation (without sweetener), a formulation containing 10% crystal sugar, and a formulation containing 10% concentrated sugarcane juice. The beverages were evaluated for proximate composition, pH, titratable acidity, instrumental color (L^* , a^* , and b^*), water-holding capacity, syneresis, total phenolic compounds, antioxidant activity by ABTS and DPPH assays, and microbiological quality. The results showed significant differences ($p < 0.05$) among formulations for several physicochemical and technological parameters. The beverage containing concentrated sugarcane juice exhibited higher water-holding capacity and lower syneresis, indicating greater structural stability of the product matrix. In addition, this formulation showed the highest levels of total phenolic compounds and the greatest antioxidant activity in both ABTS and DPPH assays. Microbiological analyses indicated compliance with standards for lactic acid bacteria and absence of coliforms, while yeast counts were lower than the reference limits established in the legislation. The results indicate that the use of concentrated sugarcane juice may contribute to improving the technological and antioxidant properties of goat milk kefir beverages, demonstrating potential for the development of fermented dairy products with functional attributes.

Keywords: goat milk kefir; lutein; concentrated sugarcane juice; antioxidant activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da luteína.	19
Figura 2 - Fluxograma de fabricação das bebidas fermentadas de kefir	24
Figura 3 - Registro fotográfico do preparo das bebidas fermentadas de kefir. [A] leite em pó reconstituído, [B] homogeneização e adição dos ingredientes, [C] luteína, [D] suco concentrado de cana e [E] açúcar cristal.	25
Figura 4 - Registro fotográfico do preparo das bebidas fermentadas de kefir. [F] tratamento térmico, [G] fermentação [H] envase.	26
Figura 5 - Diagrama Tridimensional de Cores CIELab.	27
Figura 6 - Variação da acidez titulável (% de ácido láctico) das bebidas fermentadas de kefir durante o período de armazenamento refrigerado. Barras representam o desvio padrão das médias (n = 3).	35
Figura 7 - Variação do pH das bebidas fermentadas de kefir durante o período de armazenamento refrigerado. Barras representam o desvio padrão das médias (n = 3).	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Delineamento das análises físico-químicas e microbiológicas realizadas ao longo do período de armazenamento das bebidas fermentadas.....	23
Tabela 2 - Descrição das formulações das bebidas fermentadas de kefir	24
Tabela 3 - Composição centesimal (%) das bebidas fermentadas de kefir (média ± desvio padrão).....	32
Tabela 4 - Valores de acidez titulável (% de ácido láctico) das bebidas fermentadas de kefir ao longo do tempo de armazenamento (média ± desvio padrão).....	35
Tabela 5 - Valores de pH das bebidas fermentadas de kefir ao longo do período de armazenamento (média ± desvio padrão).	37
Tabela 6 - Parâmetros de cor instrumental (L^* , a^* e b^*) das bebidas fermentadas de kefir (média ± desvio padrão).	40
Tabela 7 - Capacidade de retenção de água e sinérese nas bebidas fermentadas de kefir (média ± desvio padrão).	42
Tabela 8 - Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante in vitro determinada pelos métodos ABTS e DPPH nas bebidas fermentadas de kefir (média ± desvio padrão).	44
Tabela 9 - Análise microbiológica das bebidas fermentadas de kefir ($UFC \cdot mL^{-1}$). ...	45

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos específicos	13
3 REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1 Desenvolvimento de produtos lácteos fermentados	14
3.2 Leite de cabra para elaboração da bebida fermentada kefir	16
3.3 Adição de ingredientes funcionais em produtos lácteos fermentados	17
3.3.1 Luteína	18
3.3.2 Suco concentrado de cana-de-açúcar	20
4 MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 Localização do experimento	22
4.2 Delineamento experimental	22
4.3 Elaboração das bebidas fermentadas de kefir	23
4.4 Análises físico-químicas	26
4.5 Análise de cor instrumental	26
4.6 Capacidade de retenção de água (CRA)	27
4.7 Sinérese	28
4.8 Compostos fenólicos totais	28
4.9 Atividade antioxidante <i>in vitro</i>	29
4.9.1 Ensaio DPPH	29
4.9.2 Ensaio ABTS	29
4.10 Análises microbiológicas	30
4.11 Análise estatística	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1 Composição centesimal das bebidas fermentadas de kefir	32
5.2 Análise de cor instrumental	39
5.3 Capacidade de retenção de água (CRA) e sinérese	42
5.4 Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante <i>in vitro</i>	43
5.5 Análises microbiológicas	45
6 CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

No mercado consumidor e na pesquisa científica tem aumentado nos últimos anos a busca por produtos com potencial funcional, capazes de associar valor nutricional a propriedades bioativas (Szydłowska; Sionek, 2022). Nesse sentido, leites fermentados, como o kefir, destacam-se como matrizes promissoras para o desenvolvimento de novos produtos, em razão de sua composição, aceitabilidade sensorial, viabilidade tecnológica e perfil associado a propriedades probióticas e benéficas à saúde (Peluzio *et al.*, 2021).

O kefir, é uma bebida fermentada obtida a partir da ação simbiótica de bactérias ácido lácticas, bactérias ácido acéticas e leveduras presentes nos grãos de kefir. Acredita-se que esse consórcio simbiótico possa abrigar até trinta e sete tipos diferentes de microrganismos. Dentre eles, inclui-se os gêneros pertencentes ao grupo das bactérias lácticas, bifidobactérias e leveduras *Kluyveromyces*, *Saccharomyces* e *Pichia* (Chen *et al.*, 2009).

Durante o processo fermentativo, esses microrganismos produzem ácido láctico, etanol, dióxido de carbono e outros metabólitos que contribuem para as características sensoriais e tecnológicas do produto final (Azizi *et al.*, 2021). Além disso, a diversidade microbiana do kefir pode favorecer a formação de compostos bioativos, despertando interesse quanto ao seu potencial funcional associado ao equilíbrio da microbiota intestinal e a possíveis efeitos imunomodulatórios (fortalecimento do sistema imunológico) (Peluzio *et al.*, 2021; Vieira, Carla, *et al.*, 2021).

No Brasil, a Instrução Normativa n° 46, de 23 de outubro de 2007, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), dispõe sobre o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, incluindo o kefir (Brasil, 2007). O regulamento estabelece critérios microbiológicos e físico-químicos que asseguram a identidade e qualidade do produto, além de definir microrganismos com potencial probiótico como aqueles que, quando administrados em quantidades adequadas, podem trazer benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2002; Hill *et al.*, 2014).

A incorporação de ingredientes bioativos em matrizes fermentadas representa uma estratégia tecnológica para agregação de valor ao produto, capacidade de modificar suas características físico-químicas e contribuir para o potencial funcional do produto (Montanuci *et al.*, 2012). Entre esses compostos, a luteína, um carotenoide

amplamente reconhecido por sua atividade antioxidante tem sido explorada em diferentes matrizes alimentares devido ao seu potencial de estabilidade em sistemas lipídicos. Em produtos lácteos, sua presença pode contribuir para o aumento da capacidade antioxidante do alimento, além de interferir em parâmetros como cor instrumental (Ozawa; Sasaki, 2014; Tassi *et al.*, 2023).

De forma complementar, o suco concentrado ou caldo de cana-de-açúcar, além de atuar como fonte de açúcares fermentescíveis, pode influenciar as características físico-químicas, estruturais e sensoriais da bebida fermentada (Prati; Moretti; Cardello, 2005). Fonte de açúcares e minerais, como ferro e potássio, conta com a presença de compostos fenólicos naturalmente associados à cana, que podem impactar a atividade antioxidante, bem como modificar parâmetros como sinérese e capacidade de retenção de água, em função de interações com a matriz proteica (Azizi *et al.*, 2021).

Considerando a potencial interação entre a matriz láctea fermentada, compostos antioxidantes e diferentes fontes de açúcares, torna-se relevante avaliar os efeitos tecnológicos e funcionais dessa combinação. Assim, este estudo teve como objetivo desenvolver bebida fermentada de kefir elaborada com leite de cabra adicionada de luteína e suco concentrado de cana, avaliando suas características físico-químicas, microbiológicas e capacidade antioxidante, bem como sua viabilidade tecnológica.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver e caracterizar bebidas fermentadas de kefir elaboradas a partir de leite de cabra adicionadas de luteína, avaliando o efeito da substituição do ingrediente adoçante por suco concentrado de cana sobre as propriedades físico-químicas, microbiológicas e capacidade antioxidante, bem como a viabilidade tecnológica da formulação.

2.2 Objetivos específicos

- Elaborar três formulações de bebidas fermentadas de kefir, variando o ingrediente adoçante (controle, açúcar cristal e suco concentrado de cana).
- Caracterizar as bebidas fermentadas quanto à composição físico-química (gordura, proteína, umidade, extrato seco total, resíduo mineral fixo (cinzas) e carboidratos).
- Avaliar os parâmetros de acidez titulável e pH ao longo do período de estocagem.
- Avaliar o efeito do tipo de adoçante sobre a cor instrumental, teor de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* pelos métodos ABTS e DPPH.
- Avaliar a capacidade de retenção de água e a ocorrência de sinérese.
- Avaliar a qualidade microbiológica das bebidas fermentadas por meio da contagem de bactérias ácido lácticas, leveduras e coliformes a 30 °C e 45 °C.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Desenvolvimento de produtos lácteos fermentados

O desenvolvimento de produtos lácteos fermentados tem se destacado como uma área de inovação crucial e desafiadora dentro da indústria alimentícia, uma vez que ela procura satisfazer os interesses dos consumidores que buscam por produtos que conciliem benefícios nutricionais, sensoriais e funcionais (Tunick; Van Hekken, 2015). Produtos lácteos tais como iogurtes, coalhadas, kefir e outras bebidas fermentadas são resultantes da ação de culturas específicas de microrganismos, por exemplo bactérias do ácido láctico e leveduras, que transformam as características sensoriais dos produtos, mas também aumentam suas propriedades benéficas à saúde (Sousa *et al.*, 2022). Os produtos finais do catabolismo de carboidrato pelas bactérias lácticas, como ácidos orgânicos, contribuem não somente para a preservação, mas também para o sabor, aroma e textura, ajudando a manter as características próprias do produto (Mathur; Beresford; Cotter, 2020). Além do papel nas características tecnológicas do produto, algumas bactérias lácticas produzem compostos bioativos e enzimas que proporcionam benefícios na digestão, fortalecimento do sistema imunológico e na prevenção de diversas doenças gastrointestinais (Nascimento; Almeida; Martins, 2022). Esse fator é especialmente relevante para indivíduos com intolerância à lactose, já que a fermentação láctica converte a lactose em ácido láctico, reduzindo a quantidade de lactose presente no produto (Mathur; Beresford; Cotter, 2020). Algumas espécies de bactérias do ácido láctico produzem acetoína e diacetil, que têm uma acentuada colaboração nas características sensoriais, como aroma e sabor do produto (Ibrahim *et al.*, 2021).

No que diz respeito ao desenvolvimento de novos produtos lácteos fermentados, a escolha das culturas microbianas é um dos fatores mais importantes (Gänzle *et al.*, 2023). Bactérias do ácido láctico, leveduras e outros microrganismos podem ser combinados de diferentes formas para criar uma ampla gama de perfis sensoriais e funcionais (Gänzle *et al.*, 2023, Mathur; Beresford; Cotter, 2020).

Um exemplo é o kefir, também conhecido como Hippe, Kepi, Quefir e Kiaphir (Otlés; Cagindi, 2003), uma bebida fermentada originária das montanhas do Cáucaso, cujo substrato mais comum é o leite (caprino, bovino ou de ovelha) (Farag *et al.*, 2020). Essa bebida pode ser produzida por meio da submersão dos chamados “grãos de

kefir” em um substrato, que pode ser o leite, água açucarada, leite de coco, sucos de fruta, dentre outros (Puerari; Magalhães; Schwan, 2012). Esses grãos contêm uma microbiota complexa, que atuam promovendo a fermentação, composta por bactérias do ácido láctico, leveduras e bactérias acéticas, que conferem ao kefir propriedades probióticas únicas (Gül *et al.*, 2019). No entanto, os microrganismos presentes nos grãos variam de acordo com o local em que foram produzidos, por isso, nem sempre a bebida final apresenta o mesmo padrão (Abatemarco Júnior, 2014). Normalmente, os microrganismos que predominam no grão de kefir são *Lactobacillus*, espécies dos gêneros *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Acetobacter*, leveduras que fermentam a lactose, como *Kluyveromyces marxianus*, e leveduras que não fermentam a lactose, como *Saccharomyces omnisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces exiguus*. Além disso, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium sp.*, *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus* e *Torula kefir* (Santana *et al.*, 2021). O metabolismo desses microrganismos presentes nos grãos de kefir consome a lactose e reduz os níveis de caseína, albumina e outras proteínas, liberando aminoácidos no meio externo e, melhorando, assim, sua digestibilidade (Azizi *et al.*, 2021, Chen *et al.*, 2009, Vieira, Carla, *et al.*, 2021). Ainda, são capazes de modificar os sais de cálcio para formas mais facilmente absorvidas pelo organismo humano (Vieira, Carla, *et al.*, 2021).

Assim, devido a sua composição bioquímica e microbiológica, o kefir apresenta características similares aos alimentos funcionais, uma vez que apresentam substâncias com distintas funções biológicas, denominadas componentes bioativos, capazes de modular a fisiologia do organismo, garantindo a manutenção da saúde (Farag *et al.*, 2020, Peluzio *et al.*, 2021).

Dessa forma, o desenvolvimento de produtos lácteos fermentados representa uma interação vital entre a inovação tecnológica e a crescente demanda por alimentos funcionais, que atendam às necessidades de um público cada vez mais consciente e exigente (Guneser *et al.*, 2019).

Nesse contexto, é crucial considerar diversos aspectos além da formulação inicial, como a aceitação sensorial pelos consumidores, a estabilidade microbiológica durante a vida útil do produto e a eficácia dos ingredientes funcionais adicionados (Abatemarco Júnior, 2014). A contínua pesquisa e desenvolvimento nessa área é essencial para explorar novas combinações de ingredientes e culturas fermentativas (Da Anunciação *et al.*, 2024). Isso permitirá a criação de produtos inovadores que não só proporcionem experiências sensoriais únicas, mas também ofereçam benefícios

amplamente reconhecidos à saúde. Em um cenário onde a alimentação saudável se torna cada vez mais uma prioridade global, o papel dos produtos lácteos fermentados como promotores de saúde está destinado a crescer, impulsionando avanços tanto na ciência quanto na tecnologia de alimentos (Figueiredo; Castro; Mascarenhas, 2023).

3.2 Leite de cabra para elaboração da bebida fermentada kefir

A utilização do leite de cabra para produção de derivados tem aumentado nos últimos anos, com a inserção de leite longa vida e leite em pó, como uma alternativa para pessoas intolerantes ao leite de vaca (Delgado-Júnior; Siqueira; Stock, 2020). O leite de cabra é um alimento diferenciado em relação ao leite de vaca, por apresentar propriedades como: altos teores de determinados ácidos graxos, melhor digestibilidade, alcalinidade, teor de proteínas de alto valor nutritivo e hipoalergenicidade (Delgado-Júnior; Siqueira; Stock, 2020). Além disso, o leite de cabra e seus derivados são reconhecidos por serem ricos em proteínas de alto valor biológico, cálcio biodisponível, riboflavina e vitamina B12 (Santana *et al.*, 2021; Simon; Gorbach, 1995). Quando comparado ao leite de vaca, a vitamina A é a que apresenta maior diferença a favor do leite de cabra (0,2 mg/kg de leite) (Cruz *et al.*, 2016). O leite de cabra contém importantes minerais, que juntamente com as vitaminas representam um percentual pequeno, porém são essenciais, tanto para os processos tecnológicos de derivados lácteos, quanto aos aspectos nutricionais (Delgado-Júnior; Siqueira; Stock, 2020).

Devido às suas características nutricionais distintas, o leite de cabra tem despertado interesse na fabricação de produtos derivados fermentados com propriedades funcionais, como por exemplo o kefir (Azizi *et al.*, 2021, Delgado-Júnior; Siqueira; Stock, 2020). A produção da bebida fermentada kefir ocorre diretamente pela inoculação dos grãos no substrato tais como, leite de vaca, ovelha, cabra ou búfala (Farag *et al.*, 2020), o qual fermenta a temperatura ambiente por 24 horas. Após a fermentação, os grãos são coados e o líquido resultante é o kefir (bebida fermentada), que pode ser consumido fresco ou maturado à temperatura de 10°C (Puerari; Magalhães; Schwan, 2012). A olho nu, os grãos são gelatinosos, porosos e brancos amarelados constituídos por uma colonização de microrganismos simbióticos imersa em uma matriz composta por um polissacarídeo denominado Kefiran (Azizi *et al.*, 2021, Chen *et al.*, 2009). O Kefiran é uma matriz de exopolissacarídeo (EPS) e

proteínas que facilita a colonização da microbiota característica na forma de biofilme (Azizi *et al.*, 2021).

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o kefir é definido como um leite fermentado, que pode conter ou não outras substâncias alimentícias. Ele é obtido pela coagulação e diminuição do pH do leite, que pode ser reconstituído e enriquecido com outros produtos lácteos (Brasil, 2007). A bebida fermentada apresenta uma efervescência natural, gaseificada e textura espumosa devido à presença de bactérias heterofermentativas do gênero *Leuconostoc* e *Acetobacter*, que produzem ácido lático, álcool etílico e gás carbônico (Mansson; Schimidt, 2023). Ao final do processo, obtém-se uma bebida viscosa, acidificada e levemente alcoólica (Farag *et al.*, 2020).

O kefir elaborado com leite de cabra mantém as propriedades nutritivas do leite base e promove o desenvolvimento de uma microbiota benéfica durante o processo de fermentação (Otlés; Cagindi, 2003). Assim, a utilização do leite de cabra na produção de kefir não apenas amplia as opções disponíveis no mercado de produtos lácteos fermentados, mas também pode oferecer uma alternativa nutricionalmente rica e funcionalmente benéfica para consumidores buscando variedade e benefícios à saúde intestinal (Delgado-Júnior; Siqueira; Stock, 2020, Farag *et al.*, 2020).

3.3 Adição de ingredientes funcionais em produtos lácteos fermentados

Os derivados lácteos se inserem bem no cenário mundial de produtos funcionais, uma vez que o leite é um alimento completo, e, por isso, favorece o crescimento de inúmeros microrganismos probióticos que potencializam o efeito sobre a saúde do consumidor (Figueiredo; Castro; Mascarenhas, 2023). A legislação brasileira aplica às alegações de propriedades funcionais e ou de saúde de alimentos e ingredientes para consumo humano, se eles tiverem um papel metabólico ou fisiológico no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo (Brasil, 1999). Os queijos e os leites fermentados são os produtos lácteos que apresentam sucesso com a adição de compostos bioativos funcionais, no entanto é de extrema importância os estudos das interações dos componentes do leite com estes ingredientes, uma vez que a biodisponibilidade e a atividade desses compostos podem ser afetados (Cutrim; Cortez, 2018).

Nesse contexto, a incorporação de compostos antioxidantes em produtos lácteos tem sido amplamente estudada devido aos benefícios potenciais, que incluem o aumento da vida útil dos produtos e a melhoria de seu valor nutricional (Gülcin, 2012). Os antioxidantes são compostos que inibem o início da lipoperoxidação sequestrando espécies reativas de oxigênio/quelando íons metálicos e protegendo o organismo do estresse oxidativo (Halliwell; Gutteridge, 2015). Assim, os antioxidantes atuam inibindo as reações de oxidação que podem resultar na formação de moléculas instáveis e prejudiciais, as quais estão associadas ao desenvolvimento de várias doenças crônicas, incluindo doenças cardiovasculares e o câncer (Halliwell; Gutteridge, 2015). Viuda-Martos *et al.* (2010) destacaram que a adição de antioxidantes em produtos lácteos, como leites fermentados, pode inibir a oxidação lipídica evitando a formação de compostos tóxicos e potencialmente carcinogênicos. Além desses benefícios, a adição de antioxidantes em produtos lácteos pode, retardar ou prevenir o desenvolvimento de rancidez e “off flavours”, aprimorar as propriedades sensoriais e preservar o sabor característico e qualidade do produto (Gómez-Muñoz; Hernández-López; García-Cayuela, 2018).

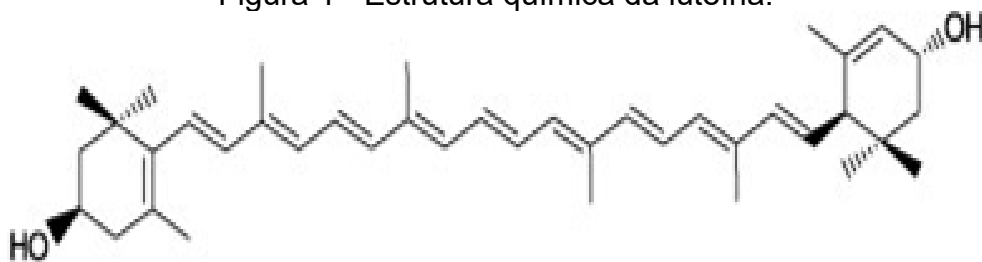
No entanto, o crescente interesse na substituição de antioxidantes sintéticos por naturais em alimentos, tem levado a busca por antioxidantes de fontes naturais (Gülcin, 2012). Alguns compostos naturais tais como, canela em pó, extrato de stevia, farinha de laranja, farinha de maracujá, casca de jabuticaba e suco de romã adicionados em leites fermentados apresentaram bons resultados referentes a atividade antioxidante e elevação da aceitação sensorial com relação ao odor e sabor desses produtos (Cutrim; Cortez, 2018; Faria *et al.*, 2016; Helal; Tagliazucchi, 2018).

3.3.1 Luteína

A luteína é um antioxidante que tem sido alvo de diversas pesquisas devido ao seu benefício na prevenção de doenças oculares, incluindo catarata, degeneração macular relacionada à idade (DMRI), doenças crônicas degenerativas e cardiovasculares (Morita *et al.*, 2024). A luteína é um carotenoide presente em diversos organismos como bactérias, leveduras, algas e vegetais de tonalidades amarelo e verde-escuros (Becerra *et al.*, 2020). Esse carotenoide pode ser encontrado também em alimentos como gema de ovo, milho, caqui e manga (Tavares; Pacheco; Paiva, 2023).

A luteína é um carotenoide extraído principalmente de flores como *Tagetes erecta* L. (família *Asteraceae*) e é classificada como uma xantofila devido à sua estrutura diidroxilada (Stringheta *et al.*, 2006). A luteína possui uma estrutura química caracterizada pela presença de duplas ligações conjugadas, que participam de suas propriedades antioxidantes (Figura 1). Essas numerosas duplas ligações alternadas permitem que a luteína absorva a energia de espécies reativas de oxigênio (Paula *et al.*, 2022). A energia absorvida é dissipada na forma de calor ao longo da cadeia de duplas ligações, que promove a regeneração da luteína (Uenojo; Maróstica Junior; Pastore, 2007). Devido a essas propriedades, a luteína pode formar complexos com íons metálicos e reduzir hidroperóxidos, assim como neutralizar os radicais livres (Stringheta *et al.*, 2006).

Figura 1 - Estrutura química da luteína.



Fonte: Paula *et al.* (2022).

A produção de carotenoides comercialmente pode ocorrer por processos biotecnológicos (por microrganismos), por procedimentos químicos ou por extração a partir de plantas e algas (Valduga *et al.*, 2009). Devido à preocupação com os aditivos químicos sintéticos, há um crescente interesse por carotenoides naturais obtidos por processos biotecnológicos, que podem ser produzidos rapidamente e de forma padronizada (Valduga *et al.*, 2009). Na indústria alimentícia, a luteína é amplamente utilizada como corante em óleos, margarinas, maioneses e mostardas, entre outros produtos (Paula *et al.*, 2022). Além de sua aplicação como corante, a luteína tem sido empregada em alimentos funcionais para melhorar a sua qualidade (Paula *et al.*, 2022).

A incorporação de luteína em produtos lácteos fermentados tem sido explorada como estratégia para enriquecimento nutricional e aumento da capacidade antioxidante da matriz, podendo contribuir para a estabilidade oxidativa do produto. (Rocha, 2023).

A aplicação da luteína em alimentos funcionais nutracêuticos pode ser limitada pela sua baixa solubilidade em água e instabilidade sob várias condições de processamento, como pH, temperatura, força iônica, luz e oxigênio (Dima *et al.*, 2018; Paula *et al.*, 2022). No entanto, métodos têm sido desenvolvidos para empregar a luteína na forma de microemulsões, as quais podem servir como um eficiente veículo de transporte, o que vem reduzir os problemas da solubilidade (Stringheta *et al.*, 2006).

Além disso, Stringham, Holmes e Stringham (2016) observaram que a biodisponibilidade da luteína é significativamente aumentada quando consumida junto com gorduras lácteas, o que a torna uma matriz ideal para adição e suplementação em produtos lácteos (Stringham; Holmes; Stringham, 2016).

Luteína é considerada segura para consumo, possuindo o *status* GRAS (*Generally Recognized as Safe*), sendo amplamente utilizada na indústria alimentícia, principalmente como corante natural. (Dagnelie; Zorge; McDonald, 2000).

Visto que o corpo humano não consegue sintetizar carotenoides, é importante adquiri-los regularmente na dieta ou em suplementos alimentares, como os já disponíveis em cápsulas sintéticas (Valduga *et al.*, 2009). A ingestão de luteína na dieta tem sido associada a benefícios à saúde, com quantidade de consumo estimada em 6mg/dia, o que justifica seu interesse na formulação de alimentos enriquecidos (Ranard *et al.*, 2017; Tavares; Pacheco; Paiva, 2023). Isso ressalta a importância do consumo de alimentos fontes do carotenoide luteína na dieta, assim como a possibilidade da sua adição em alimentos como os fermentados lácteos (Tavares; Pacheco; Paiva, 2023).

3.3.2 Suco concentrado de cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) possui grande importância econômica, sendo fonte de produtos como açúcar (sacarose), álcool, caldo, melado e rapadura, amplamente utilizados na indústria alimentícia (Santos, 2007). O caldo utilizado para obtenção de derivados é extraído dos colmos da planta, que representam a principal fração de interesse agroindustrial (Jeronimo *et al.*, 2020).

A cana-de-açúcar é amplamente utilizada como adoçante em sucos concentrados e como melaços na fabricação de produtos de panificação e bebidas (Silva, 2009). O melaço da cana-de-açúcar possui na sua composição açúcares fermentescíveis com grande potencial para utilização em processos fermentativos

alimentares, como para produção de biomassa viável de microrganismos (Feltrin *et al.*, 2000).

O crescimento do setor sucroenergético tem despertado o interesse da indústria para o desenvolvimento de novos produtos e formas de consumo a partir da cana-de-açúcar. Entre essas aplicações, destacam-se misturas de caldo de cana com frutas, utilizadas na elaboração de bebidas energéticas e ricas em minerais (Rimal;Thagunna; Kaur, 2022). O caldo de cana-de-açúcar é considerado uma solução diluída composta por aproximadamente 80% de água e 18% de sólidos solúveis, predominantemente açúcares. Apresenta elevada concentração de carboidratos, principalmente sacarose, glicose e frutose, assim como pequenos traços de proteínas, amidos, ácidos graxos, minerais como potássio, cálcio, fósforo, magnésio e ferro, além de vitaminas do complexo B e C (Jeronimo *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2006).

O suco concentrado de cana é obtido pela concentração do caldo por processos como ultrafiltração e evaporação em baixa temperatura, resultando em um ingrediente viscoso, de coloração caramelo, rico em sacarídeos e com pH em torno de 4,1 (Gold Alimentos, 2023; Osta, 2024). Sua elevada concentração de açúcares fermentescíveis favorece sua aplicação tanto como adoçante quanto como substrato para fermentação. Dessa forma, apresenta ampla aplicabilidade em diversos produtos, incluindo sucos mistos, néctares, itens de panificação, barras de cereais, granola, geleias, produtos lácteos e bebidas em geral (Wang *et al.*, 2022).

Em matrizes lácteas fermentadas, a natureza e a concentração de açúcares adicionados podem influenciar parâmetros como acidez, atividade microbiana, retenção de água e sinérese, além de interferirem na estabilidade físico-química do produto (Reis; Pinto; Brandi, 2013; De Souza Rodrigues *et al.*, 2021). Dessa forma, a substituição do açúcar cristal por suco concentrado de cana pode resultar em modificações tecnológicas relevantes.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Localização do experimento

As bebidas fermentadas de kefir foram desenvolvidas na Planta Piloto do Laboratório de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (Lab. de PD&I) da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – Instituto de Laticínios Cândido Tostes (EPAMIG–ILCT), em Juiz de Fora, MG.

As análises físico-químicas e microbiológicas foram realizadas nos laboratórios de pesquisa da mesma instituição, enquanto as análises de cor, capacidade de retenção de água (CRA), sinérese, compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* foram conduzidas no Laboratório de Inovação e Processamento de Alimentos (LIPA), vinculado ao Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (DCTA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG.

4.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi estabelecido a partir de testes preliminares conduzidos no Laboratório de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (Lab. de PD&I), com o objetivo de definir o fluxograma de fabricação e as variáveis envolvidas no processo de obtenção das bebidas.

As bebidas fermentadas foram produzidas em três lotes independentes, considerados como blocos experimentais. Em cada lote, foram elaborados três tratamentos: Tratamento 1 (Controle) – formulação padrão, sem adoçante; Tratamento 2 – formulação com adição de 10% de açúcar cristal; e Tratamento 3 – formulação com adição de 10% de suco concentrado de cana. Para as análises instrumentais e espectrofotométricas, foi utilizado um branco analítico (CNBR), empregado exclusivamente para fins de calibração e controle das leituras, não sendo considerado como tratamento experimental.

As análises físico-químicas e microbiológicas foram realizadas ao longo do período de armazenamento das bebidas, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 - Delineamento das análises físico-químicas e microbiológicas realizadas ao longo do período de armazenamento das bebidas fermentadas.

Análises	Parâmetros	Tempo (Dias)				
		01	07	14	21	28
Físico-Químicas	Gordura Butirométrica	✓				
	Proteína	✓				
	Umidade	✓				
	Extrato Seco Total	✓				
	Resíduo Mineral Fixo	✓				
	Carboidratos	✓				
	Acidez	✓	✓	✓	✓	✓
	pH		✓	✓	✓	✓
	Cor			✓		
	Capacidade de Retenção de Água e Sinérese			✓		
	Compostos Fenólicos Totais			✓		
	Capacidade Antioxidante <i>in vitro</i>			✓		
Microbiológicas	Bactérias Lácticas					✓
	Coliformes (30 °C / 45 °C)		✓			
	Leveduras					✓

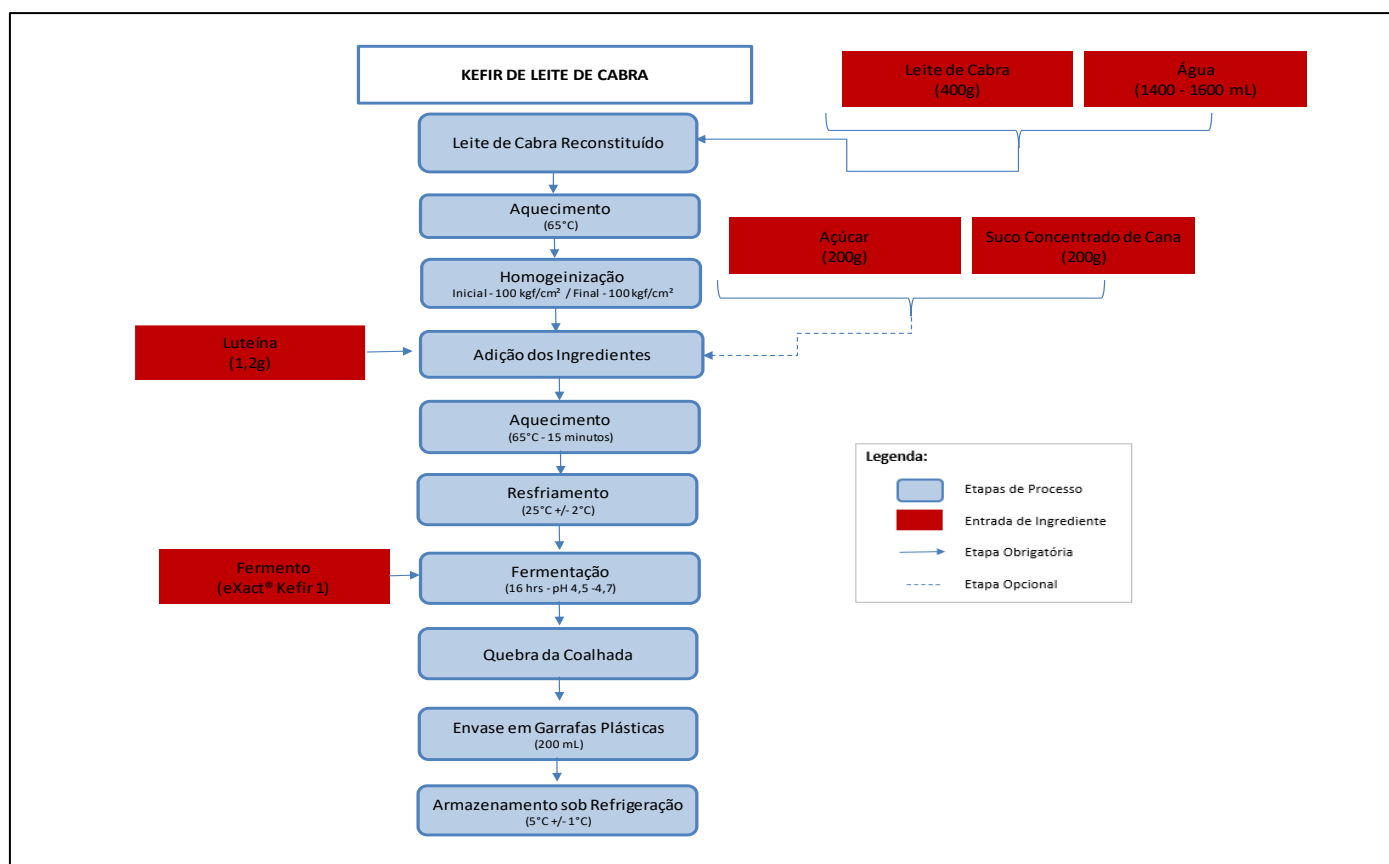
✓ Análise Realizada.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

4.3 Elaboração das bebidas fermentadas de kefir

As bebidas fermentadas de kefir foram elaboradas de acordo com a metodologia descrita por Rocha (2023), com as devidas adaptações, conforme o fluxograma apresentado na Figura 2.

Figura 2 - Fluxograma de fabricação das bebidas fermentadas de kefir



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Os ingredientes utilizados na elaboração incluíram leite de cabra em pó integral (Caprilat®), fermento lácteo (eXact® Kefir), luteína, açúcar cristal e suco concentrado de cana (Gold X Alimentos®), obtidos por meio de doação de empresas parceiras, conforme as formulações apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Descrição das formulações das bebidas fermentadas de kefir

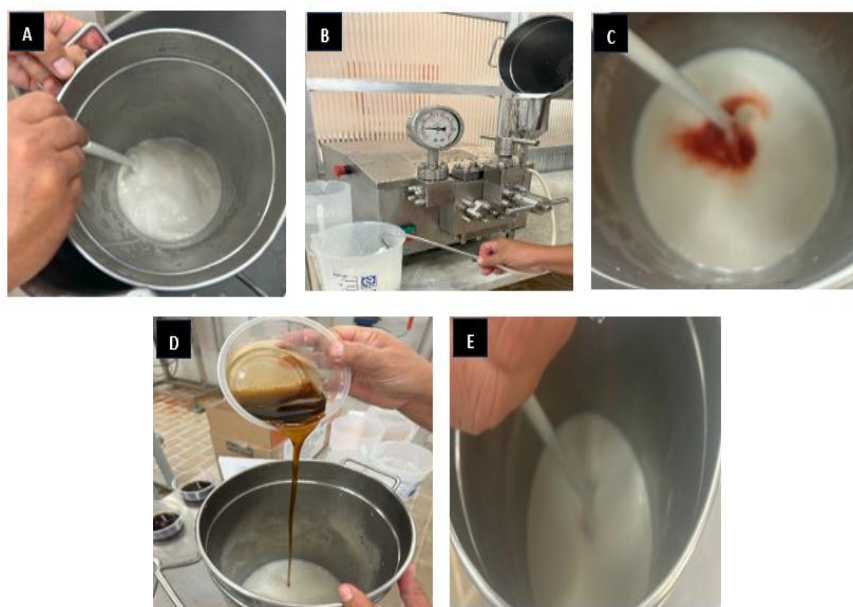
Ingredientes/ Aditivos	Tratamentos		
	CT	AÇ	CN
Leite de Cabra (em pó)	400 g	400 g	400 g
Água	1600 mL	1400 mL	1400 mL
Luteína	1,2 g	1,2 g	1,2 g
Açúcar Cristal	-	200 g	-
Suco de Cana	-	-	200 mL
Fermento Lácteo	0,2 g	0,2 g	0,2 g
Total	2000 mL	2000 mL	2000 mL

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

O processo de fabricação das bebidas iniciou-se com a reconstituição do leite, utilizando-se 400 g de leite de cabra em pó, diluídos em 1400 ou 1600 mL de água, conforme a formulação. Em seguida, a mistura foi submetida a aquecimento a 65 °C e posteriormente homogeneizada à mesma temperatura, com pressão inicial de 100 kgf/cm² e final de 50 kgf/cm².

Após a homogeneização, procedeu-se à adição dos ingredientes, com a incorporação de 1,2 g de luteína em todos os tratamentos, 200 g de açúcar cristal no Tratamento AÇ e 200 mL de suco concentrado de cana no Tratamento CN.

Figura 3 - Registro fotográfico do preparo das bebidas fermentadas de kefir. [A] leite em pó reconstituído, [B] homogeneização e adição dos ingredientes, [C] luteína, [D] suco concentrado de cana e [E] açúcar cristal.



Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Em seguida, a mistura foi submetida a tratamento térmico a 85 °C por 15 minutos e, posteriormente, resfriada até atingir a temperatura de 25 °C ± 2 °C. Após o resfriamento, procedeu-se à inoculação da cultura láctica (eXact® Kefir 1) nas cubas, dando início ao processo fermentativo por aproximadamente 16 horas, até que o produto atingisse valores de pH entre 4,5 e 4,7.

Ao atingir o pH final de fermentação, o processo foi interrompido por resfriamento, a coalhada formada foi suavemente quebrada e a bebida foi cuidadosamente transferida para garrafas de polietileno tereftalato (PET) com capacidade de 200 mL, sendo posteriormente armazenada sob refrigeração a 5 °C ± 1 °C.

Figura 4 - Registro fotográfico do preparo das bebidas fermentadas de kefir. [F] tratamento térmico, [G] fermentação e [H] envase.



Fonte: Arquivo pessoal (2024).

4.4 Análises físico-químicas

Com o objetivo de avaliar a qualidade e a estabilidade das bebidas fermentadas ao longo do período de armazenamento, as análises de pH e acidez titulável foram realizadas em triplicata nos dias 1, 7, 14, 21 e 28 após a fabricação. Os demais parâmetros físico-químicos foram determinados no primeiro dia de armazenamento.

O teor de gordura foi determinado pelo método butirométrico de Gerber (IDF 238, 2018). O teor de proteínas foi obtido pelo método de Kjeldahl, aplicando-se o fator de conversão de 6,38 (AOAC 920.123, 2012).

Os sólidos totais foram determinados pelo método gravimétrico, com secagem das amostras em estufa a 102 ± 2 °C até peso constante (Brasil, 2006), sendo a umidade calculada por diferença. O resíduo mineral fixo (RMF) foi determinado por incineração em mufla a 550 °C (Zenebon *et al.*, 2008). O teor de carboidratos foi estimado por diferença, considerando o extrato seco total (EST) e subtraindo-se os teores de proteínas, lipídios e RMF.

A acidez titulável, expressa em ácido láctico, foi determinada pelo método Dornic (Brasil, 2006).

O pH foi medido por potenciometria, utilizando um medidor de bancada Simpla pH140, previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0.

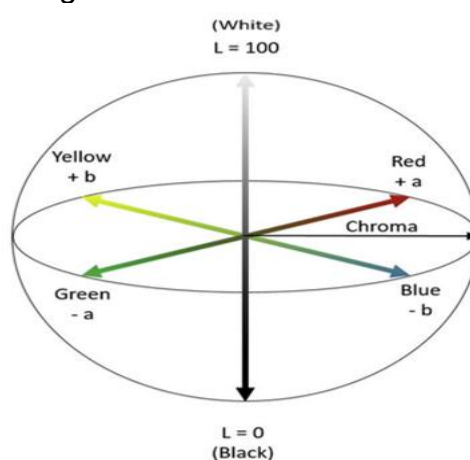
4.5 Análise de cor instrumental

A cor instrumental das bebidas fermentadas foi determinada utilizando colorímetro portátil de alta precisão (Konica Minolta, modelo CR-10), com leituras realizadas no sistema CIELab. Foram obtidas as coordenadas L^* (luminosidade), a^* (variação de verde a vermelho) e b^* (variação de azul a amarelo) (Figura 5).

As análises foram realizadas em triplicata no décimo quarto dia de armazenamento. Antes das medições, o equipamento foi ajustado quanto às configurações padrão de iluminação e geometria de medição e calibrado com padrão de referência branco, conforme as recomendações do fabricante.

As amostras foram previamente homogeneizadas e transferidas para recipientes apropriados para leitura direta. Os resultados foram expressos como média dos valores de L^* , a^* e b^* .

Figura 5 - Diagrama Tridimensional de Cores CIELab.



Fonte: Ly *et al.* (2020).

4.6 Capacidade de retenção de água (CRA)

A capacidade de retenção de água (CRA) foi determinada conforme metodologia descrita por Pacheco *et al.* (2023), utilizando centrifugação para separação do líquido em suspensão.

Foram pesados 15 g de cada amostra, os quais foram transferidos para tubos de centrifugação com capacidade de 50 mL. As amostras foram centrifugadas a 3000 × g (força de gravidade relativa) a uma temperatura de 5°C, por 10 minutos, utilizando centrífuga Hanil Scientific (modelo Combi 514R).

Após a centrifugação, o sobrenadante foi cuidadosamente removido, e os tubos contendo o sedimento foram pesados.

A capacidade de retenção de água foi calculada de acordo com a Equação 1:

$$CRA (\%) = \frac{\text{Peso do tubo após centrifugação} - \text{Peso do tubo vazio}}{\text{Peso inicial da amostra} - \text{Peso do tubo vazio}} \times 100 \quad (1)$$

4.7 Sinérese

A sinérese foi determinada conforme metodologia descrita por Amatayakul, Sherkat e Shah (2006), com adaptações. Foram pesados 20 g de cada amostra, os quais foram transferidos para funil contendo papel de filtro, posicionado sobre Erlenmeyer de 50 mL. O conjunto foi mantido sob refrigeração e repouso a 4 °C por 8 horas.

Após esse período, o soro separado foi coletado e pesado. A sinérese foi calculada de acordo com a Equação 2:

$$SINÉRESE (\%) = \frac{\text{Peso do soro}}{\text{Peso inicial do gel}} \times 100 \quad (2)$$

Os resultados foram expressos como a porcentagem de soro liberado em relação ao peso inicial da amostra.

4.8 Compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado conforme metodologia descrita por Santos, Silva e Oliveira (2018), com adaptações.

Foram pesados 1 g de cada amostra, os quais foram diluídos em 20 mL de metanol a 80% e submetidos a banho ultrassônico Planatec (40 kHz, 100 W) por 5 minutos, a 25 °C. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 5000 × g por 5 minutos em centrífuga Thermo Scientific (modelo Sorvall Legend Micro 17R), sendo o sobrenadante retido para análise.

A cada alíquota de 0,6 mL do sobrenadante foi adicionada a 3 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (10%, v/v), seguida da adição de 2,4 mL de solução aquosa de carbonato de sódio (7,5%, m/v). A mistura foi homogeneizada em vórtex por 3 minutos e incubada em ambiente escuro e repouso por 60 minutos.

Após o período de incubação, a absorbância foi medida em espectrofotômetro (Shimadzu, modelo UV-2600), a 750 nm.

As análises foram realizadas em triplicata. A quantificação dos compostos fenólicos foi realizada por curva de calibração utilizando ácido gálico (AG), conforme Equação 3:

$$AG = 0,0021 \times Abs_{750nm} - 0,0022 \quad (r^2 = 0,998) \quad (3)$$

Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (mg EAG/100 g de amostra).

4.9 Atividade antioxidante *in vitro*

A atividade antioxidante *in vitro* foi determinada por meio dos ensaios de eliminação dos radicais DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e ABTS (2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico), conforme metodologias descritas por Timón *et al.* (2019) e Zhong *et al.* (2021), respectivamente, com adaptações.

4.9.1 Ensaio DPPH

Foi preparada solução de DPPH a 0,01% em etanol. Em tubos de ensaio, foram adicionados 700 µL da amostra, 700 µL de etanol (95%) e 175 µL da solução de DPPH. O controle foi preparado nas mesmas condições, substituindo-se a amostra por etanol. As misturas foram incubadas em temperatura ambiente, ao abrigo da luz, por 60 minutos.

Após a incubação, a absorbância foi medida em espectrofotômetro a 517 nm. A atividade antioxidante foi expressa como porcentagem de inibição, calculada conforme Equação 4:

$$Inibição (\%) = \frac{Abs_{controle} - Abs_{amostra}}{Abs_{controle}} \quad (4)$$

4.9.2 Ensaio ABTS

A solução radical ABTS foi obtida pela reação entre ABTS (7 mM) e persulfato de potássio (2,45 mM), na proporção 1:1, mantida em ambiente escuro a 4 °C por 12–16 horas. Antes das análises, a solução foi diluída até absorbância de $0,700 \pm 0,02$ a 734 nm.

Foram adicionados 150 μL da amostra previamente diluída (1:100) a 2,85 mL da solução radical ABTS e incubada em ambiente escuro por 60 minutos. Após esse período, a absorbância foi medida a 734 nm.

A capacidade antioxidante foi expressa como porcentagem de inibição, utilizando-se a mesma equação empregada no ensaio DPPH (Equação 4).

4.10 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica das bebidas fermentadas.

Foram realizadas contagens de bactérias ácido lácticas, leveduras e coliformes a 30 °C e 45 °C. As análises de coliformes a 30 °C e 45 °C foram conduzidas no sétimo dia de armazenamento. As contagens de bactérias ácido lácticas e leveduras foram realizadas no vigésimo oitavo dia.

A enumeração de coliformes foi realizada utilizando placas Petrifilm™ 3M Coliform Count Plate, com incubação a 30 °C e 45 °C por 24 horas, conforme metodologia AOAC 991.14 (2019).

As contagens de fungos filamentosos e leveduras foram realizadas utilizando Petrifilm™ 3M Yeast and Mold Count Plate, com incubação a 25 °C por 5 dias, conforme AOAC 997.02 (2002).

As bactérias ácido lácticas foram enumeradas pelo método de plaqueamento em profundidade em ágar MRS (Man, Rogosa e Sharpe), com incubação a 35 °C por 120 horas, sob condições de anaerobiose (Oliveira *et al.*, 2018).

Os resultados foram expressos em UFC·mL⁻¹.

4.11 Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados, considerando os três lotes independentes como blocos experimentais.

Para as variáveis avaliadas em um único tempo experimental (composição centesimal, cor instrumental, capacidade de retenção de água, sinérese, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante *in vitro*), adotou-se o delineamento em blocos casualizados.

Para as variáveis avaliadas ao longo do tempo (pH e acidez), utilizou-se o esquema de parcelas subdivididas, sendo os tratamentos alocados nas parcelas e os tempos de armazenamento nas subparcelas.

Os dados foram avaliados quanto aos pressupostos de normalidade e homogeneidade das variâncias, por meio dos testes de Shapiro-Wilk e de Bartlett, respectivamente.

Quando atendidos os pressupostos ($p > 0,05$), procedeu-se à análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, considerando nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software Statistica®, versão 9.2 (StatSoft Inc., EUA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição centesimal das bebidas fermentadas de kefir

As bebidas fermentadas de kefir foram avaliadas em triplicata ao longo do período de armazenamento refrigerado ($5\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$), com o objetivo de monitorar a estabilidade físico-química das formulações. Os resultados da composição centesimal (Tabela 3) indicaram que os teores de gordura e proteína não diferiram entre os tratamentos ($p > 0,05$), enquanto os parâmetros de umidade, extrato seco total (EST), resíduo mineral fixo (RMF) e carboidratos apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$), evidenciando impacto direto da substituição do açúcar cristal por suco concentrado de cana na fração sólida do produto.

Tabela 3 - Composição centesimal (%) das bebidas fermentadas de kefir (média \pm desvio padrão).

Parâmetros	Tratamentos		
	CT	AÇ	CN
Gordura (%)	6,20 \pm 0,26 a	6,07 \pm 0,60 a	5,90 \pm 0,26 a
Proteína (%)	5,38 \pm 0,13 a	5,33 \pm 0,10 a	5,36 \pm 0,10 a
Umidade	78,58 \pm 0,00 a	62,33 \pm 7,81 b	72,80 \pm 1,85 ab
EST*	21,42 \pm 0,00 b	37,67 \pm 7,81 a	27,20 \pm 1,85 ab
RMF**	1,49 \pm 0,05 b	1,47 \pm 0,02 b	1,68 \pm 0,05 a
Carboidratos	8,35 \pm 0,10 b	24,81 \pm 7,36 a	14,26 \pm 1,59 ab

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

*Extrato seco total.

** Resíduo Mineral Fixo.

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Os teores de gordura variaram de 5,90% a 6,20%, sem diferenças estatísticas entre as formulações ($p > 0,05$). Esse comportamento era esperado, uma vez que a modificação proposta na formulação envolveu exclusivamente a fração de carboidratos, não interferindo diretamente na composição lipídica do leite utilizado como matéria-prima.

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (Brasil, 2007), a legislação estabelece critérios para a categorização do produto de acordo com o percentual de matéria gorda, sendo: “com creme” ($\geq 6,0$ g/100 g) e “integral” ($\geq 3,0$ g/100 g). De acordo com os resultados obtidos, os tratamentos CT e AÇ se enquadraram na categoria “com creme”, enquanto o

tratamento CN foi classificado como “integral”, demonstrando conformidade com os critérios estabelecidos pela legislação brasileira.

De forma semelhante, os teores de proteína apresentaram variação reduzida entre os tratamentos, situando-se entre 5,33% e 5,38%, também sem diferenças estatísticas significativas ($p > 0,05$). Em produtos lácteos fermentados, alterações na concentração de açúcares geralmente não modificam o teor proteico absoluto, embora possam influenciar propriedades estruturais do gel lácteo, como a organização da rede proteica e a retenção de água na matriz do produto (Tamime; Robinson, 2007; Walstra; Wouters; Geurts, 2006).

A estabilidade proteica observada indicou que a substituição do açúcar não comprometeu a base estrutural da matriz láctea fermentada. Os resultados desse estudo encontram-se em conformidade com os parâmetros legais, atendendo o limite mínimo de 2,9 g/100g estabelecido pela legislação vigente (Brasil, 2007). Esses achados corroboram o estudo de Osta (2024), o qual não identificou diferenças significativas no teor de proteína entre bebidas lácteas fermentadas formuladas com adição de açúcar cristal, suco concentrado de cana ou com a combinação desses ingredientes.

Diferenças significativas ($p < 0,05$) foram observadas no teor de umidade entre os tratamentos CT ($78,58 \pm 0,00$) e AÇ ($62,33 \pm 7,81$). Todavia, o tratamento CN não se diferiu estatisticamente de CT e AÇ, indicando que a adição do suco concentrado de cana pode favorecer a retenção de umidade (Osta, 2024). Esses resultados sugerem que a adição de açúcar cristal aumentou a concentração de sólidos totais, reduzindo a fração de água no sistema. Consequentemente, o extrato seco total apresentou comportamento inversamente proporcional ao teor de umidade, sendo mais elevado nas amostras com maior adição de açúcares (AÇ: $37,67 \pm 7,81$), seguido por CN ($27,20 \pm 1,85$) e CT ($21,42 \pm 0,00$).

Em sistemas lácteos fermentados, o aumento da concentração de sólidos solúveis promove redução da atividade de água e modificação do equilíbrio osmótico do meio, podendo influenciar a cinética fermentativa e a capacidade de retenção hídrica da rede proteica (Lucey, 2004). Açúcares adicionados também contribuem para o aumento da viscosidade aparente e redução da sinérese, uma vez que elevam a concentração de sólidos não gordurosos (Tamime; Robinson, 2007).

No caso do suco concentrado de cana, além da sacarose, estão presentes glicose, frutose, compostos minerais e fenólicos residuais, que podem modificar as

interações intermoleculares no sistema (Eggleston; Lima, 2015). Essa composição mais complexa pode justificar diferenças intermediárias observadas entre os tratamentos AÇ e CN.

O tratamento contendo suco concentrado de cana (CN) apresentou maior teor de resíduo mineral fixo ($1,68 \pm 0,05$), evidenciando contribuição mineral superior em relação à sacarose refinada. Diferentemente do açúcar cristal, que é praticamente composto por sacarose pura, o suco concentrado de cana mantém minerais como potássio, cálcio, magnésio e ferro (Eggleston; Lima, 2015; Oliveira *et al.*, 2018; Gold Alimentos, 2023; Osta, 2024).

Em produtos lácteos fermentados, a presença de minerais pode influenciar a estabilidade da rede caseínica, uma vez que íons como cálcio e magnésio participam do equilíbrio coloidal do sistema (Bauland *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2023). Embora a legislação não estabeleça limites específicos para RMF em leites fermentados, o aumento observado em relação a outros estudos como o de Bessa (2014), Santana (2012) e Wang; Guo (2023), com os respectivos teores médios: 0,98%; 0,95% e 0,58%, pode representar um diferencial nutricional e tecnológico relevante.

O aumento significativo no teor de carboidratos nas formulações contendo açúcar cristal e suco concentrado de cana era esperado, visto que esses ingredientes representam a principal fonte de sólidos adicionados. No entanto, observou-se que a formulação com suco concentrado ($14,26 \pm 1,59$) não se diferiu estatisticamente ($p > 0,05$) da amostra controle ($8,35 \pm 0,10$), o que pode estar relacionado à composição do concentrado e à possível metabolização parcial de açúcares redutores durante a fermentação (Gillespie *et al.*, 2023; Osta, 2024).

Açúcares simples, como glicose e frutose, são rapidamente metabolizados por bactérias ácido lácticas e leveduras presentes no kefir, podendo alterar o perfil final de sólidos após a fermentação. Dessa forma, a natureza dos carboidratos disponíveis no meio influencia diretamente o metabolismo microbiano e a produção de metabólitos como ácidos orgânicos, etanol e dióxido de carbono (Costa; Rosa, 2016, González-Orozco *et al.*, 2022).

Do ponto de vista tecnológico, a substituição do açúcar cristal por suco concentrado de cana pode representar uma estratégia interessante para formulações que busquem redução de açúcares adicionados refinados, sem comprometer a estabilidade estrutural da bebida. Além disso, a presença de componentes não

sacarídicos pode agregar valor nutricional e sensorial ao produto final (Conti-Silva; Souza-Borges, 2019).

A Tabela 4 apresenta os valores médios de acidez titulável (% de ácido láctico) das bebidas fermentadas de kefir durante o período de armazenamento refrigerado.

Tabela 4 - Valores de acidez titulável (% de ácido láctico) das bebidas fermentadas de kefir ao longo do tempo de armazenamento (média \pm desvio padrão).

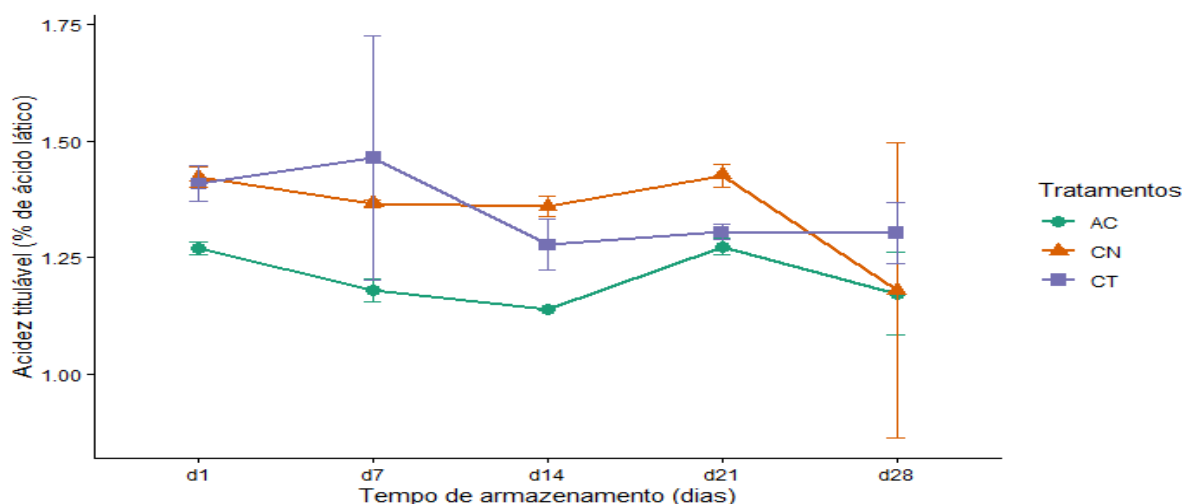
Tempo (dias)	Tratamentos		
	CT	AÇ	CN
01	1,41 \pm 0,04 a	1,27 \pm 0,01 a	1,42 \pm 0,02 a
07	1,46 \pm 0,06 a	1,18 \pm 0,03 b	1,37 \pm 0,01 ab
14	1,28 \pm 0,05 ab	1,14 \pm 0,00 b	1,36 \pm 0,02 a
21	1,30 \pm 0,02 a	1,27 \pm 0,02 a	1,43 \pm 0,02 a
28	1,30 \pm 0,06 a	1,17 \pm 0,09 a	1,18 \pm 0,13 a

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

A análise de variância indicou efeito significativo dos fatores tratamento e tempo de armazenamento ($p < 0,05$), enquanto a interação entre esses fatores não foi significativa ($p > 0,05$), indicando que o comportamento dos tratamentos foi semelhante ao longo do período de armazenamento (Figura 6). A acidez titulável das bebidas fermentadas de kefir apresentou valores entre 1,14% e 1,43% de ácido láctico ao longo do período de armazenamento refrigerado (Tabela 4).

Figura 6 - Variação da acidez titulável (% de ácido láctico) das bebidas fermentadas de kefir durante o período de armazenamento refrigerado. Barras representam o desvio padrão das médias ($n = 3$).



Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (Brasil, 2007), produtos dessa categoria devem apresentar acidez titulável entre 0,6 e 2,0 g de ácido láctico por 100 g de produto. Dessa forma, os valores observados neste estudo encontram-se dentro da faixa estabelecida pela legislação, indicando que as bebidas fermentadas elaboradas apresentaram características compatíveis com os padrões de qualidade esperados para produtos lácteos fermentados.

A acidez em bebidas fermentadas é resultado da atividade metabólica de bactérias ácido lácticas presentes no consórcio microbiano do kefir, que metabolizam principalmente a lactose e outros açúcares disponíveis, produzindo ácido láctico e outros ácidos orgânicos. Esse processo é fundamental para o desenvolvimento das características sensoriais e para a estabilidade microbiológica do produto (Farnworth, 2006; Bresciani *et al.*, 2024).

Em relação aos tratamentos, observou-se que a formulação contendo açúcar cristal (AÇ) apresentou, de modo geral, menores valores de acidez quando comparada aos tratamentos controle (CT) e com adição de suco concentrado de cana (CN). Essa atenuação inicial da acidez no tratamento AÇ pode estar associada ao efeito modulador do açúcar sobre a atividade metabólica dos microrganismos ou ao equilíbrio químico do sistema, alinhado com os achados de Şendoğan *et al.* (2021).

Esse comportamento pode estar relacionado à influência da composição do substrato sobre o metabolismo microbiano durante a fermentação e o armazenamento. A disponibilidade e o tipo de açúcares presentes no meio podem afetar a atividade das bactérias ácido lácticas e leveduras presentes nos grãos de kefir, modificando a taxa de produção de ácidos orgânicos (Biadała *et al.* 2020, Farnworth, 2006).

Além disso, açúcares adicionados podem exercer efeito osmótico sobre os microrganismos, influenciando o crescimento microbiano e a velocidade de fermentação. Em sistemas fermentados, concentrações elevadas de sólidos solúveis podem reduzir a atividade de água e alterar o metabolismo microbiano, resultando em menores taxas de acidificação (Lima *et al.*, 2024. Tamime; Robinson, 2007).

Ao longo do armazenamento, observou-se variação moderada nos valores de acidez das bebidas fermentadas. Esse comportamento é esperado em produtos fermentados, uma vez que microrganismos viáveis permanecem metabolicamente ativos mesmo sob condições de refrigeração, fenômeno conhecido como pós-

acidificação. Durante esse processo, ocorre a continuação da fermentação de açúcares residuais, resultando em pequenas variações na acidez titulável ao longo do tempo (Bresciani *et al.*, 2024, Lucey, 2004).

De maneira geral, as variações observadas foram relativamente discretas, indicando boa estabilidade da bebida fermentada durante o período de armazenamento avaliado. Resultados semelhantes foram relatados por Weschenfelder *et al.* (2011), que observaram aumento gradual da acidez em kefir durante o armazenamento refrigerado, atribuído à atividade residual de bactérias ácido lácticas.

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a adição de suco concentrado de cana ou açúcar cristal pode influenciar o perfil de acidez da bebida fermentada de kefir, sem, entretanto, comprometer a estabilidade do produto durante o armazenamento. Essas variações podem impactar nas características sensoriais, especialmente o sabor ácido percebido pelos consumidores, o que pode influenciar na aceitabilidade do produto final (D'Angelis, 2020, Weschenfelder *et al.* 2011).

A Figura 7 e a Tabela 5 apresentam a variação dos valores de pH das bebidas fermentadas de kefir durante o período de armazenamento. A variação do pH observada acompanha as mudanças na acidez titulável discutidas anteriormente, uma vez que ambos os parâmetros refletem a produção de ácidos orgânicos durante a fermentação e o armazenamento do kefir.

A análise de variância indicou efeito significativo do tratamento, do tempo de armazenamento e da interação entre esses fatores ($p < 0,05$), evidenciando que a dinâmica de acidificação das bebidas depende tanto da formulação quanto do período de armazenamento.

Tabela 5 - Valores de pH das bebidas fermentadas de kefir ao longo do período de armazenamento (média \pm desvio padrão).

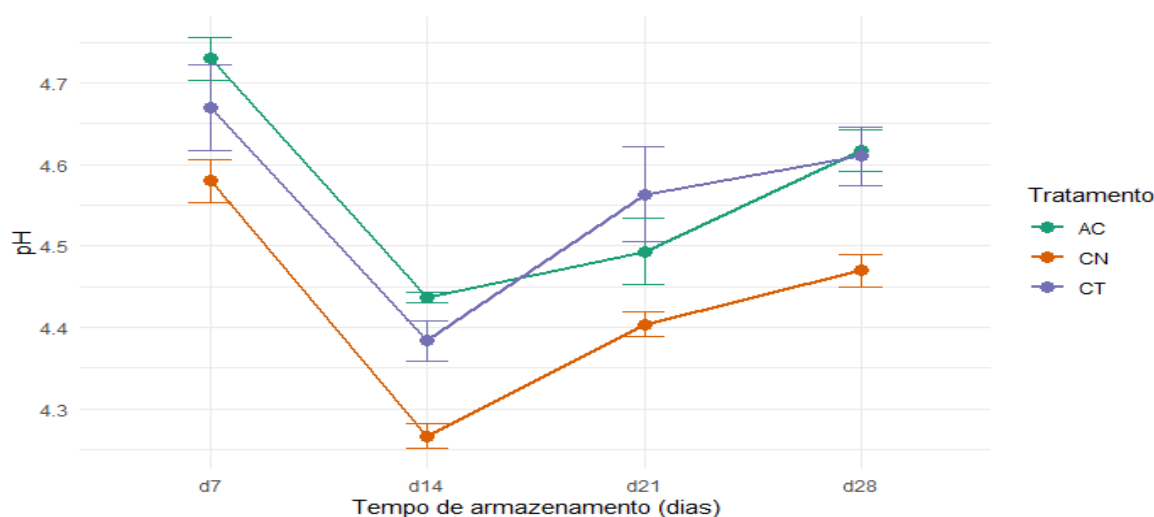
Tempo (dias)	Tratamentos		
	CT	AÇ	CN
07 dias	4,67 \pm 0,05 Ba	4,73 \pm 0,03 Aa	4,58 \pm 0,03 Ca
14 dias	4,38 \pm 0,03 Bd	4,44 \pm 0,01 Ad	4,27 \pm 0,02 Cd
21 dias	4,56 \pm 0,06 Ac	4,49 \pm 0,04 Bc	4,40 \pm 0,02 Cc
28 dias	4,61 \pm 0,04 Ab	4,62 \pm 0,03 Ab	4,47 \pm 0,02 Bb

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem significativamente entre os tratamentos no mesmo tempo de armazenamento, pelo teste de Tukey ($p > 0,05$). Médias seguidas por letras minúsculas iguais na coluna não diferem significativamente entre os tempos de armazenamento dentro de cada tratamento ($p > 0,05$).

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Observa-se, no gráfico, que todos os tratamentos apresentaram redução do pH até o decimo quarto dia de armazenamento, seguida de elevação gradual no vigésimo primeiro e vigésimo oitavo dia. Esse comportamento é característico de produtos fermentados, nos quais ocorre inicialmente intensa produção de ácidos orgânicos, principalmente ácido lático, resultante da atividade metabólica de bactérias ácido lácticas presentes no kefir. Esse processo leva à redução do pH durante as primeiras fases de armazenamento (Putri; Setiani; Warya, 2020).

Figura 7 - Variação do pH das bebidas fermentadas de kefir durante o período de armazenamento refrigerado. Barras representam o desvio padrão das médias (n = 3).



Fonte: Arquivo pessoal, 2024.

A diminuição inicial do pH observada neste estudo está de acordo com resultados relatados na literatura, que indicam valores de pH em kefir variando entre 4,2 e 4,6 após a fermentação, dependendo das condições de processamento, tipo de substrato e cultura microbiana utilizada (Putri; Setiani; Warya, 2020). Esse intervalo é semelhante aos valores observados neste trabalho, que variaram aproximadamente entre 4,27 e 4,73 ao longo do armazenamento, indicando que as bebidas mantiveram características típicas de produtos fermentados à base de kefir.

A redução mais acentuada do pH até o decimo quarto dia pode estar associada à continuidade da atividade metabólica dos microrganismos presentes nos grãos de kefir, que incluem principalmente bactérias ácido lácticas e leveduras. Esses microrganismos utilizam carboidratos disponíveis no meio, produzindo ácidos

orgânicos que contribuem para o aumento da acidez e conseqüente diminuição do pH do produto (Hikmetoglu *et al.*, 2020, Leite *et al.*, 2013).

Após esse período inicial, observou-se tendência de aumento do pH no vigésimo primeiro e no vigésimo oitavo dia, especialmente nos tratamentos CT e AÇ. Esse comportamento pode estar relacionado à estabilização da atividade microbiana durante o armazenamento refrigerado, bem como a possíveis transformações metabólicas que reduzem a velocidade de produção de ácidos orgânicos. Estudos relatam que, durante o armazenamento refrigerado de kefir, as variações de pH tendem a se estabilizar ou sofrer pequenas oscilações após a fase inicial de fermentação.

Em relação às formulações avaliadas, o tratamento CN apresentou consistentemente os menores valores de pH ao longo do período de armazenamento, indicando maior intensidade de acidificação da bebida. Por outro lado, os tratamentos CT e AÇ apresentaram valores de pH relativamente mais elevados, especialmente no início e no final do período de armazenamento. No vigésimo oitavo dia, observa-se que CT e AÇ não diferiram estatisticamente entre si, enquanto CN manteve valores de pH inferiores, evidenciando que a composição da formulação pode influenciar a dinâmica fermentativa e a produção de ácidos orgânicos no produto final.

A influência da formulação sobre o pH de bebidas fermentadas de kefir também tem sido relatada em estudos recentes, os quais demonstram que diferentes ingredientes ou substratos podem alterar o metabolismo microbiano e, conseqüentemente, o perfil de acidificação do produto.

De maneira geral, os resultados obtidos indicam que as bebidas fermentadas apresentaram valores de pH adequados para produtos à base de kefir, mantendo-se dentro da faixa típica relatada para esse tipo de alimento fermentado. Além disso, a variação observada ao longo do armazenamento demonstra que tanto o tempo quanto a composição das formulações exercem influência sobre as características físico-químicas da bebida, especialmente sobre o processo de acidificação.

5.2 Análise de cor instrumental

A cor é um dos principais atributos sensoriais responsáveis pela primeira percepção do consumidor em relação a um alimento, influenciando diretamente a aceitação e a intenção de compra. Em produtos lácteos fermentados, alterações na

formulação, como a adição de ingredientes funcionais ou fontes alternativas de açúcares, podem modificar significativamente os parâmetros colorimétricos do produto final (Larosa *et al.*, 2021; Vieira, Cláudia, *et al.*, 2021).

A Tabela 6 apresenta os valores médios dos parâmetros colorimétricos L^* , a^* e b^* das bebidas fermentadas de kefir elaboradas com diferentes formulações.

Tabela 6 - Parâmetros de cor instrumental (L^* , a^* e b^*) das bebidas fermentadas de kefir (média \pm desvio padrão).

Parâmetros	Tratamentos		
	CT	AÇ	CN
L^*	88,02 \pm 0,20 a	86,01 \pm 0,10 b	84,89 \pm 0,33 c
a^*	5,68 \pm 0,12 b	6,70 \pm 0,25 a	5,71 \pm 0,16 b
b^*	37,01 \pm 1,80 b	39,87 \pm 0,88 a	36,40 \pm 0,87 b

Médias seguidas por letras diferentes nas linhas diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

L^* = luminosidade; a^* = coordenada cromática verde (-) a vermelho (+); b^* = coordenada cromática azul (-) a amarelo (+).

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

A análise estatística indicou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para todos os parâmetros colorimétricos avaliados (L^* , a^* e b^*), evidenciando que a composição das formulações influenciou a aparência visual das bebidas fermentadas de kefir.

Para o parâmetro de luminosidade (L^*), observou-se que o tratamento controle (CT) apresentou o maior valor (88,02 \pm 0,20), seguido pelo tratamento com adição de açúcar cristal (AÇ) (86,01 \pm 0,10) e pelo tratamento contendo suco concentrado de cana (CN) (84,89 \pm 0,33). Valores mais elevados de L^* indicam maior luminosidade ou clareza da amostra, enquanto valores menores estão associados a colorações mais escuras. Dessa forma, a redução progressiva da luminosidade observada nas formulações contendo açúcares adicionados pode estar relacionada ao aumento da concentração de sólidos solúveis e à presença de compostos naturalmente presentes no suco concentrado de cana, como pigmentos fenólicos e compostos de escurecimento não enzimático, que podem reduzir a reflexão da luz na matriz do produto (Eggleston; Lima, 2015; Osta, 2024).

Resultados semelhantes foram observados por Osta (2024), que verificou redução significativa da luminosidade em bebidas lácteas fermentadas formuladas com suco concentrado de cana em comparação àquelas adoçadas exclusivamente com açúcar cristal. De acordo com estudos recentes, ingredientes derivados da cana-

de-açúcar podem apresentar compostos coloridos naturais e produtos de reação de Maillard provenientes do processamento térmico do concentrado, contribuindo para a diminuição da luminosidade em produtos alimentícios (Gómez-Maldonado *et al.*, 2020; Larosa *et al.*, 2021).

Em relação à coordenada cromática a^* , que representa a variação entre os eixos verde (-) e vermelho (+), observou-se que o tratamento AÇ apresentou valor significativamente superior ($6,70 \pm 0,25$) em comparação aos tratamentos CT ($5,68 \pm 0,12$) e CN ($5,71 \pm 0,16$), os quais não diferiram entre si ($p > 0,05$). Valores positivos de a^* indicam predominância de tonalidades avermelhadas, sugerindo que a formulação contendo açúcar cristal apresentou leve intensificação dessa tonalidade em relação às demais.

Para a coordenada cromática b^* , associada à variação entre azul (-) e amarelo (+), o tratamento AÇ também apresentou valor significativamente mais elevado ($39,87 \pm 0,88$) em comparação aos tratamentos CT ($37,01 \pm 1,80$) e CN ($36,40 \pm 0,87$), que não diferiram entre si. Valores positivos elevados de b^* indicam predominância de tonalidades amareladas na amostra.

O aumento das coordenadas a^* e b^* observado nas formulações pode estar associado à presença de luteína, adicionada em todas as formulações. A luteína é um carotenoide amplamente utilizado como ingrediente funcional e agente pigmentante natural, responsável por intensificar tonalidades amarelas e alaranjadas em alimentos. Em produtos lácteos fermentados, esse carotenoide pode interagir com a matriz proteica e lipídica, contribuindo para a intensificação das tonalidades cromáticas observadas (Conboy Stephenson; Ross; Staton, 2021; Aktaş *et al.*, 2024; Rocha, 2023).

Estudos recentes demonstram que a incorporação de carotenoides em produtos lácteos fermentados pode alterar significativamente os parâmetros de cor, especialmente os valores de b^* , associados à intensidade da tonalidade amarela, característica desejável em diversos produtos lácteos funcionais (Larosa *et al.*, 2021; Rocha, 2023).

Do ponto de vista tecnológico e sensorial, a cor representa um atributo fundamental na percepção de qualidade dos alimentos, sendo frequentemente utilizada pelos consumidores como um indicador indireto de frescor, sabor e valor nutricional. Dessa forma, alterações nos parâmetros colorimétricos podem influenciar

diretamente a aceitação do produto final (Vieira, Cláudia, *et al.*, 2021; Zare *et al.*, 2011).

Assim, os resultados obtidos neste estudo indicaram que a substituição do açúcar cristal por suco concentrado de cana promoveu alterações perceptíveis na luminosidade das bebidas fermentadas, enquanto a presença de luteína contribuiu para a manutenção de tonalidades cromáticas características do produto, sem comprometer sua aparência visual (D'Angelis, 2020; Zare *et al.*, 2011).

5.3 Capacidade de retenção de água (CRA) e sinérese

A Tabela 7 apresenta os valores médios da capacidade de retenção de água (CRA) e sinérese das bebidas fermentadas de kefir.

Tabela 7 - Capacidade de retenção de água e sinérese nas bebidas fermentadas de kefir (média \pm desvio padrão).

Parâmetros	Tratamentos		
	CT	AÇ	CN
CRA	37,40 \pm 0,93 c	43,08 \pm 0,34 b	48,71 \pm 0,77 a
Sinérese	35,69 \pm 0,82 a	27,61 \pm 0,80 b	25,75 \pm 0,62 c

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

CRA = Capacidade de Retenção de Água.

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

A análise estatística revelou diferenças significativas entre os tratamentos para CRA e sinérese ($p < 0,05$). A formulação contendo suco concentrado de cana apresentou a maior capacidade de retenção de água (48,71 \pm 0,77), seguida pela amostra com adição de açúcar cristal (43,08 \pm 0,34) e pela amostra controle (37,40 \pm 0,93). Esse comportamento pode estar associado ao maior teor de sólidos solúveis introduzidos pelo suco concentrado de cana, os quais influenciam a retenção de água na matriz, contribuindo para menor liberação de fase aquosa.

Em relação à sinérese, observou-se redução significativa nas formulações contendo açúcar cristal e suco concentrado de cana em comparação aos tratamentos controle. A formulação contendo suco concentrado de cana apresentou os menores valores, indicando maior estabilidade físico-estrutural. A redução da sinérese em sistemas lácteos fermentados é frequentemente associada ao fortalecimento da rede proteica, à microestrutura do gel e ao aumento da capacidade de retenção de água,

conforme descrito em revisão recente que aborda os mecanismos físico-químicos subjacentes à sinérese em iogurtes e bebidas fermentadas (Arab *et al.*, 2023).

Os resultados indicaram que a adição de suco concentrado de cana não apenas promove o aumento da capacidade de retenção de água, como também contribui para a redução da sinérese, indicando possível contribuição para a estabilidade estrutural da matriz. Esse comportamento é amplamente descrito na literatura, a qual indica que a redução da sinérese está associada a maior estabilidade estrutural da matriz proteica, favorecendo o aumento da viscosidade e da consistência em produtos lácteos fermentados (Arab *et al.*, 2023; Lucey, 2004; Lee; Lucey, 2004; Lee; Lucey, 2010; Tamime; Robinson, 2007; Walstra; Wouters; Geurts, 2006). Além disso, bebidas com maior estabilidade estrutural tendem a apresentar melhor percepção sensorial, tornando-se mais atrativas ao consumidor e ampliando seu potencial de aceitação comercial (Conti-Silva; Souza-Borges, 2019).

De forma integrada, evidencia-se que o suco concentrado de cana apresenta elevado potencial tecnológico na elaboração de leites fermentados, não apenas pela melhoria dos parâmetros associados à retenção de água, mas também por contribuir para maior estabilidade estrutural da matriz. Os efeitos observados indicaram uma matriz mais coesa e homogênea, aspecto relevante em aplicações industriais, nas quais uniformidade, estabilidade e padronização são determinantes para aceitação comercial. Os achados deste trabalho corroboram a literatura, que destaca o uso de ingredientes funcionais como estratégia promissora para a melhoria das propriedades tecnológicas e estruturais de produtos fermentados (Pereira; Santos; Souza, 2019).

5.4 Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro*

Os resultados das análises de compostos fenólicos totais e da capacidade antioxidante *in vitro*, determinadas pelos métodos ABTS e DPPH, estão apresentados na Tabela 8.

Em relação aos compostos fenólicos totais, observou-se que o tratamento contendo suco concentrado de cana apresentou a maior concentração ($89,50 \pm 0,48$ mg EAG/100 g de amostra), seguido pelo tratamento com adição de açúcar cristal ($47,39 \pm 0,74$ mg EAG/100 g de amostra) e pelo controle ($36,52 \pm 1,42$ mg EAG/100 g de amostra). Diferenças estatisticamente significativas foram verificadas entre os

tratamentos ($p < 0,05$), indicando que a adição do suco concentrado de cana esteve associada ao aumento da concentração de compostos fenólicos totais.

Tabela 8 - Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante in vitro determinada pelos métodos ABTS e DPPH nas bebidas fermentadas de kefir (média \pm desvio padrão).

Parâmetros	Tratamentos		
	CT	AÇ	CN
Compostos Fenólicos Totais (mg EAG/100g de amostra)	36,52 \pm 1,42 c	47,39 \pm 0,74 b	89,50 \pm 0,48 a
ABTS (%)	13,58 \pm 1,03 b	14,32 \pm 1,03 b	23,07 \pm 0,87 a
DPPH (%)	8,24 \pm 0,34 c	10,65 \pm 0,52 b	15,37 \pm 0,53 a

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

EAG: equivalente de ácido gálico.

ABTS: ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico; DPPH: 2,2-difenil-1-picril-hidrazil.

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Esse comportamento pode ser explicado pela presença de compostos fenólicos naturalmente encontrados na cana-de-açúcar, incluindo ácidos fenólicos e outros polifenóis, bem como pelo maior teor de sólidos solúveis introduzidos na matriz, fatores que podem influenciar tanto a quantificação dos compostos bioativos quanto sua interação com a rede proteica do sistema lácteo. A literatura descreve que a incorporação de ingredientes vegetais em sistemas lácteos fermentados frequentemente resulta em elevação dos teores de compostos fenólicos, em função da contribuição direta desses constituintes e de possíveis interações com proteínas e polissacarídeos da matriz (Beloti, 2019).

Em relação à capacidade antioxidante in vitro, os resultados apresentaram tendência semelhante à observada para os compostos fenólicos totais. O tratamento contendo suco concentrado de cana apresentou os maiores valores nos ensaios ABTS e DPPH (23,07 \pm 0,87% e 15,37 \pm 0,53%, respectivamente), diferindo significativamente dos demais tratamentos ($p < 0,05$).

A convergência dos resultados sugere que o aumento da concentração de compostos fenólicos totais contribuiu para a elevação da capacidade antioxidante das bebidas. Embora essa associação seja amplamente relatada na literatura, destaca-se que a atividade antioxidante não depende exclusivamente da concentração total de compostos fenólicos, mas também de sua estrutura química, biodisponibilidade e interação com a matriz alimentar (Chen *et al.*, 2024, Ji *et al.*, 2024, Sawicki *et al.*, 2024).

Nesse contexto, a incorporação de ingredientes naturalmente ricos em compostos bioativos mostra-se relevante para o desenvolvimento de alimentos com potencial funcional, uma vez que tais constituintes podem contribuir para a modulação do potencial antioxidante e para a estabilidade oxidativa do produto. Os resultados obtidos reforçam o potencial tecnológico, funcional e enriquecimento nutricional do suco concentrado de cana na elaboração de bebidas fermentadas de kefir (Cais-Sokolińska *et al.*, 2016).

Nesse contexto, a incorporação de ingredientes naturalmente ricos em compostos bioativos mostra-se uma estratégia relevante para o desenvolvimento de alimentos com potencial funcional, pois tais constituintes podem contribuir para a modulação da atividade antioxidante e para a estabilidade oxidativa do produto. Os resultados obtidos reforçam o potencial tecnológico e funcional do suco concentrado de cana como ingrediente na elaboração de bebidas fermentadas de kefir.

5.5 Análises microbiológicas

Com o intuito de avaliar a inocuidade e a identidade microbiológica do produto desenvolvido, foram realizados estudos microbiológicos considerando os três tratamentos aplicados. As análises foram conduzidas no sétimo dia de estocagem para coliformes a 30 °C e 45 °C, e no vigésimo oitavo dia para as bactérias láticas e leveduras. Os resultados obtidos foram expressos em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC·mL⁻¹), conforme detalhado na Tabela 9.

Tabela 9 - Análise microbiológica das bebidas fermentadas de kefir (UFC·mL⁻¹).

Tempo	Microrganismos	Tratamentos		
		CT	AÇ	CN
07 dias	Coliformes 30 °C	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹
	Coliformes 45 °C	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹
28 dias	Bactérias Látricas	1,4 x 10 ⁸	3,3 x 10 ⁸	6,8 x 10 ⁸
	Leveduras	6,8 x 10 ²	<4,2 x 10 ³	<5,6 x 10 ³

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

As contagens de coliformes a 30 °C e 45 °C apresentaram valores abaixo do limite de quantificação do método ($< 1,0 \times 10^1$ UFC·mL⁻¹), indicando conformidade com os padrões microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), onde $m=10^1$ para coliformes a 30 °C e $m = <3$ para coliformes a 45 °C.

As contagens observadas podem ser atribuídas tanto às propriedades antimicrobianas naturais do kefir, que desempenham um papel fundamental na inibição de microrganismos patogênicos, quanto à adoção de boas práticas de fabricação e adequada qualidade higiênico-sanitária das amostras, conforme evidenciado por Garrote, Abraham e Antoni (2000), Rodrigues *et al.* (2005), Walsh *et al.* (2016) e Bengoa *et al.* (2019).

Em relação às bactérias lácticas totais, todos os tratamentos apresentaram contagens superiores ao mínimo regulamentar de 10^7 UFC·mL⁻¹, estabelecido no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (Brasil, 2007), indicando que as bebidas atenderam aos requisitos microbiológicos mínimos para leites fermentados.

Segundo Vieira, Carla, *et al.* (2021) a concentração mínima de microrganismos estabelecida pela legislação é fundamental para garantir os benefícios probióticos do kefir. Ademais, elevadas contagens de bactérias lácticas são frequentemente associadas à viabilidade tecnológica do produto e à presença de microrganismos metabolicamente ativos, responsáveis pelas transformações bioquímicas características da fermentação (Guclu *et al.*, 2021; Lucey, 2004).

Embora a contagem de bactérias lácticas totais não permita inferir diretamente propriedades probióticas, esses microrganismos desempenham papel fundamental na estabilidade microbiológica, na acidificação do meio e na formação das características sensoriais típicas do kefir. Adicionalmente, são frequentemente associados, na literatura, a potenciais efeitos benéficos à saúde quando presentes em concentrações adequadas e devidamente caracterizados (Kaur; Kaur; Ali, 2022; Tripathi; Giri, 2014). Assim, os resultados obtidos sugerem adequada atividade fermentativa e identidade microbiológica compatível com bebidas fermentadas de kefir.

Em relação à contagem de leveduras, os resultados obtidos indicaram valores inferiores ao limite mínimo de referência descrito na Instrução Normativa nº 46/2007, que estabelece contagens mínimas na ordem de 10^4 UFC·mL⁻¹ para produtos como o kefir.

Contagens reduzidas de leveduras podem estar associadas a diferentes fatores, incluindo condições do processo fermentativo, interações microbianas e características da matriz alimentar, que podem influenciar a dinâmica de crescimento desses microrganismos. A literatura reporta ampla variabilidade nas populações de leveduras em bebidas fermentadas de kefir, com contagens variando desde valores inferiores aos limites de detecção até níveis elevados, dependendo das condições de fermentação, armazenamento e da forma de cultivo (Alraddadi; Ross; Powell, 2023; Ghedini *et al.*, 2020; Nejati; Junne; Neubauer, 2020).

No consórcio simbiótico do kefir, as leveduras desempenham papel relevante no metabolismo fermentativo, contribuindo para a produção de compostos como etanol, dióxido de carbono (CO₂) e diversos metabólitos associados às características sensoriais típicas da bebida, especialmente sabor e aroma. Entretanto, a literatura ainda aponta dificuldades em elucidar plenamente as interações sinérgicas entre leveduras e bactérias lácticas, bem como em estabelecer de forma conclusiva quais metabólitos estão diretamente relacionados aos potenciais efeitos benéficos à saúde humana (Agarbati *et al.*, 2021; Irigoyen *et al.*, 2005; Nenciarini *et al.*, 2023).

6 CONCLUSÃO

O presente estudo permitiu o desenvolvimento e a caracterização de bebidas fermentadas de kefir elaboradas com leite de cabra adicionadas de luteína e diferentes ingredientes adoçantes. Os resultados demonstraram que a formulação da bebida influenciou significativamente em diversas propriedades físico-químicas e tecnológicas do produto.

A adição de suco concentrado de cana promoveu alterações importantes nas características da bebida, resultando em maior capacidade de retenção de água e menor sinérese, indicando maior estabilidade da matriz do produto durante o armazenamento. Além disso, essa formulação apresentou maiores teores de compostos fenólicos totais e maior atividade antioxidante, evidenciando o potencial de ingredientes de origem vegetal para enriquecer o perfil funcional de bebidas fermentadas.

Os parâmetros microbiológicos indicaram que as bebidas atenderam aos critérios de qualidade para bactérias ácido lácticas, demonstrando adequada atividade fermentativa. Apesar das contagens de leveduras terem apresentado valores inferiores aos limites de referência estabelecidos na legislação, os resultados sugerem que as bebidas fermentadas desenvolvidas mantiveram características compatíveis com produtos à base de kefir.

Dessa forma, os resultados obtidos demonstram que a utilização de suco concentrado de cana representa uma alternativa promissora como ingrediente em bebidas fermentadas de kefir elaboradas com leite de cabra, contribuindo para melhorias nas propriedades tecnológicas e antioxidantes do produto. Estudos futuros podem explorar diferentes concentrações dos ingredientes funcionais utilizados, bem como avaliar a aceitação sensorial dessas formulações junto aos consumidores.

REFERÊNCIAS

- ABATEMARCO JÚNIOR, Mário. **Caracterização funcional e tecnológica de *Lactobacillus* spp. isolados de grãos de Kefir como critério de seleção de linhagens probióticas**. 2014. 119 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.
- AGARBATI, Alice *et al.* Exploitation of yeasts with probiotic traits for kefir production: Effectiveness of the microbial consortium. **Fermentation**, v. 8, n. 1, p. 9, 2021.
- AKTAŞ, Haktan *et al.* Evaluation of spreadable kefir produced from different milks in terms of some quality criteria. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 16, n. 5, p. 1734-1743, 2024.
- ALRADDADI, Faisal AJ; ROSS, Tom; POWELL, Shane M. Evaluation of the microbial communities in kefir grains and kefir over time. **International Dairy Journal**, v. 136, p. 105490, 2023.
- AMATAYAKUL, Thanut; SHERKAT, Frank; SHAH, Nagendra P. Syneresis in set yogurt as affected by EPS starter cultures and levels of solids. **International Journal of Dairy Technology**, [England], v. 59, n. 3, p. 216-221, Aug. 2006.
- ARAB, Masoumeh *et al.* Uma revisão abrangente sobre a sinérese do iogurte: efeito das condições de processamento e aditivos adicionados. **Journal of Food Science and Technology**, v. 60, n. 6, p. 1656-1665, 2023.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Method 997.02 – Yeast and Mold Counts in Foods – Dry Rehydratable Film Method (Petrifilm™ Method)**. Gaithersburg: AOAC International, 2002.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Fat (Crude) in milk**. 19th. ed. Gaithersburg: AOAC International, 2012.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Method 991.14 – Coliform and *Escherichia coli* Petrifilm™ Method**. Gaithersburg: AOAC International, 2019.
- AZIZI, Nor Farahin *et al.* Kefir and its biological activities. **Foods**, [Switzerland], v. 10, n. 6, p. May 2021.
- BAULAND, J. *et al.* Addition of calcium and magnesium chlorides as simple means of varying bound and precipitated minerals in casein micelle: Effect on enzymatic coagulation. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 11, p. 9923-9935, 2020.
- BECERRA, Mario Ochoa *et al.* Lutein as a functional food ingredient: Stability and bioavailability. **Journal of Functional Foods**, [Netherlands], v. 66, Mar. 2020.

BELOTI, Graziela Maniero. **Caracterização *in vitro* de compostos bioativos de partes aéreas da cana-de-açúcar e sua capacidade antioxidante**. 2019. 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2019.

BENGOA, Ana Agustina *et al.* Kefir micro-organisms: their role in grain assembly and health properties of fermented milk. **Journal of applied microbiology**, v. 126, n. 3, p. 686-700, 2019.

BESSA, Martha Eunice de. **Percepção sensorial e aceitação do leite de cabra fermentado**. 2014. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2014.

BIADAŁA, Agata *et al.* Antimicrobial activity of goat's milk fermented by single strain of kefir grain microfora. **European Food Research and Technology**, [Germany], v. 246, p.1231–1239, Mar. 2020.

BRASIL. Portaria nº 398, de 30 de abril de 1999. Diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**, seção 1, Brasília, DF, n. 239, p. 8, 14 dez. 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, anexo à presente Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**, seção 1, Brasília, DF, 24 out. 2007. p. 18-20. Disponível em: http://www.dou.gov.br/portaria_46.pdf. Acesso em: 25 ago. 2024.

BRESCIANI, Laís *et al.* Kefir artesanal: Análise dos atributos de qualidade em relação aos requisitos da legislação brasileira. **Observatorio de la Economía Latinoamericana**, v. 22, n. 12, p. 57, 2024.

CAIS-SOKOLIŃSKA, Dorota *et al.* Kefir from mare's milk and its mixtures. **Mljekarstvo**, [Croatia], v. 66, n. 4, p. 272-281, Nov. 2016.

CHEN, T.-H. *et al.* Microbiological and chemical properties of kefir manufactured by entrapped microorganisms isolated from kefir grains. **Journal of Dairy Science**, [United States], v. 92, n. 7, p. 3002-3013, July 2009.

CHEN, Zhe *et al.* Exploring the correlation between the molecular structure and biological activities of metal–phenolic compound complexes: Research and description of the role of metal ions in improving the antioxidant activities of phenolic compounds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 21, p. 11775, 2024.

CONBOY STEPHENSON, Ruth; ROSS, R. Paul; STANTON, Catherine. Carotenoids in milk and the potential for dairy based functional foods. **Foods**, v. 10, n. 6, p. 1263, 2021.

CONTI-SILVA, Ana Carolina; SOUZA-BORGES, Patricia Kelli de. Sensory characteristics, brand and probiotic claim on the overall liking of comercial probiotic fermented milks: Which one is more relevant? **Food Research International**, [United States], v. 118, p. 184-189, Feb. 2019.

COSTA, Neuza Maria Brunoro; ROSA, Carla de Oliveira Barbosa. **Alimentos funcionais: componentes bioativos e efeitos fisiológicos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2016.

CRUZ, Adriano Gomes da *et al.* **Química, bioquímica, análise sensorial e nutrição no processamento de leite e derivados**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

CUTRIM, Camila Sampaio; CORTEZ, Marco Antonio Sloboda. A review on polyphenols: Classification, beneficial effects and their application in dairy products. **International Journal of Dairy Technology**, [England], v. 71, n. 3, p. 564-578, 2018.

DA ANUNCIAÇÃO, Talita Andrade *et al.* Biological significance of probiotic microorganisms from kefir and kombucha: A review. **Microorganisms**, [Switzerland], v. 12, n. 6, p. 1127, May 2024.

DAGNELIE, Gislin; ZORGE, Ingrid S.; MCDONALD, Thomas M. Lutein improves visual function in some patients with retinal degeneration: a pilot study via the Internet. **Optometry**, St. Louis, v. 71, n. 3, p. 147-164, Mar. 2000.

D'ANGELIS, Danielle Fatima. **Análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de leites fermentados com potencial probiótico adicionados de farinhas integrais de sorgo irradiadas**. 2020.141 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2020.

DE SOUZA RODRIGUES, Anna Paula *et al.* Efeito da adição de colágeno e sucralose nas características tecnológicas e sensoriais do iogurte. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e507101119841-e507101119841, 2021.

DELGADO-JÚNIOR, Idílio José; SIQUEIRA, Kennya Beatriz; STOCK, Lorildo Aldo. **Produção, composição e processamento de leite de cabra no Brasil**. Juiz de Fora: EMBRAPA, 2020.

DIMA, I. G. *et al.* Binding mechanisms between lycopene extracted from tomato peels and bovine β -lactoglobulin. **Journal of Luminescence**, v. 203, p. 582-589, 2018.

EGGLESTON, Gillian; LIMA, Isabel. Sustainability issues and opportunities in the sugar and sugar-bioproduct industries. **Sustainability**, v. 7, n. 9, p. 12209-12235, 2015.

FARAG, Mohamed A. *et al.* The many faces of kefir fermented dairy products: Quality characteristics, flavour chemistry, nutritional value, health benefits, and safety. **Nutrients**, [Switzerland], v. 12, n. 2, Jan. 2020.

FARIA, Gabriela Souza *et al.* Caracterização química da casca de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*) liofilizada e sua aplicação em leite fermentado potencialmente simbiótico. **Jornal de Ciências Biomédicas e Saúde**, Uberaba, v. 2, n. 1, p. 2-9, jun. 2016.

FARNWORTH, Edward R. Kefir—a complex probiotic. **Food Science and Technology Bulletin: Fu**, v. 2, n. 1, p. 1-17, 2006.

FELTRIN, Valdemar P. *et al.* Produção de *Lactobacillus plantarum* em melaço de cana-de-açúcar. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 119-124, out. 2000.

FIGUEIREDO, Vanessa Basilio; CASTRO, Thiago Luis Aguayo de; MASCARENHAS, Maria do Socorro. A produção de kefir no Brasil entre 2017 a 2022 e os microrganismos presentes na sua microbiota: um estudo cienciométrico. **Scientific Electronic Archives**, [S.l.], v. 16, n. 2, p. 56-60, jan. 2023.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION/WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food**. Londres: FAO/WHO Organization, 2002.

GÄNZLE, Michael G. *et al.* Starter culture development and innovation for novel fermented foods. **Annual Review of Food Science and Technology**, [United States], v. 15, n. 1, p. 211-239, June 2023.

GARROTE, Graciela L.; ABRAHAM, Analía G.; ANTONI, Graciela L. de. Inhibitory power of kefir: the role of organic acids. **Journal of Food Protection**, [United States], v. 63, n. 3, p. 364-369, Mar. 2000.

GHEDINI, Tamara Gomes Machado *et al.* Qualidade microbiológica do kefir. **Brazilian Journal of Development**, Paraná, v. 6, n. 1, p. 4336-4349, jan. 2020.

GILLESPIE, Kerri M. *et al.* The impact of free sugar on human health—a narrative review. **Nutrients**, [Switzerland], v. 15, n. 4, Feb. 2023.

GOLD ALIMENTOS. **Suco concentrado de cana**: versatilidade e aplicações na indústria alimentícia. 2023. Disponível em: <https://goldx.com.br/suco-concentrado-de-cana>. Acesso em: 02 maio 2024.

GÓMEZ-MUÑOZ, R.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M.; GARCÍA-CAYUELA, T. Sensory and antioxidant properties of yogurt fortified with natural extracts: a review. **Journal of Dairy Research**, [England], v. 85, n. 4, p. 381-391, Jan. 2018.

GONZÁLEZ-OROZCO, Brianda D. *et al.* Invited review: Milk kefir microbiota—Direct and indirect antimicrobial effects. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 5, p. 3703-3715, 2022.

GUCLU, Aylin Uskudar *et al.* Quantitative probiotic analysis of various Kefir samples. **Jordan J. Biol. Sci**, v. 14, n. 4, p. 799-804, 2021.

GÜL, O. *et al.* Kefir: a probiotic dairy-composition, health benefits, and future perspectives. **Food Science & Nutrition**, [United Kingdom], v. 7, n. 7, p. 2477-2498, Jan. 2019.

GÜLCIN, İlhami. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of Toxicology**, [Germany], v. 86, n. 3, p. 345-391, Mar. 2012.

GUNESER, Onur *et al.* Engineering of milk-based beverages: current status, developments, and consumer trends. *In: Milk-based beverages*. Woodhead Publishing, 2019. p. 1-37.

HALLIWELL, Barry; GUTTERIDGE, John M. C. **Free radicals in biology and medicine**. United States: Oxford University Press, 2015.

HELAL, Ahmed; TAGLIAZUCCHI, Davide. Impact of *in-vitro* gastro-pancreatic digestion on polyphenols and cinnamaldehyde bioaccessibility and antioxidant activity in stirred cinnamon-fortified yogurt. **LWT – Food Science and Technology**, [England], v. 89, p. 164-170, Mar. 2018.

HIKMETOGLU, M. *et al.* Changes in carbohydrate profile in kefir fermentation. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 23, p. 100220, 2020.

HILL, Colin *et al.* The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature reviews Gastroenterology & hepatology**, v. 11, n. 8, p. 506-514, 2014.

IBRAHIM, Salam A. *et al.* Fermented foods and probiotics: An approach to lactose intolerance. **Journal of Dairy Research**, [England], v. 88, n. 3, p. 357-365, Aug. 2021.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Standard 238:2018**. Milk - Determination of fat content (Gerber method). Brussels: IDF, 2018.

IRIGOYEN, Aurora *et al.* Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. **Food Chemistry**, [England], v. 90, n. 4, p. 613-620, May 2005.

JERONIMO, Elisângela Marges *et al.* **Produção artesanal de derivados de cana-de-açúcar: Açúcar Mascavo – Melado – Rapadura.** Campinas: CDRS, 2020. 57 p.

Jl, Wenmin *et al.* Research in advances in the bioactivity of plant polyphenols. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 59, n. 11, p. 8037-8044, 2024.

KAUR, H.; KAUR, G.; ALI, S. A. Dairy-based probiotic-fermented functional foods: an update on their health-promoting properties. **Fermentation**. 2022; 8: 425 [online]. 2022.

KONICA MINOLTA. **Konica Minolta CR-10 specifications and user manual.** [S.l.: s.n.], [s.d.]. Disponível em: <https://www.konicaminolta.com/cr10-manual>. Acesso em: 25 ago. 2024.

LAROSA, Cristiane P. *et al.* Sheep milk kefir sweetened with different sugars: Sensory acceptance and consumer emotion profiling. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 1, p. 295-300, 2021.

LEE, W. J.; LUCEY, J. A. Structure and physical properties of yogurt gels: Effect of inoculation rate and incubation temperature. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 3153–3164, 2004.

LEE, W. J.; LUCEY, J. A. Formation and physical properties of yogurt. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, p. 1127–1136, 2010.

LIMA, Ana Luíza Barbosa de Carvalho *et al.* Diferentes fontes de sacarose na fermentação do kefir de água. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 27, p. e2024012, 2024.

LUCEY, J. A. Cultured dairy products: An overview of their gelation and texture properties. *International Journal of Dairy Technology*, v. 57, n. 2–3, p. 77–84, 2004.

LY, Bao Chau K. *et al.* Research techniques made simple: cutaneous colorimetry: a reliable technique for objective skin color measurement. **Journal of Investigative Dermatology**, [United States], v. 140, n. 1, p. 3-12, Jan. 2020.

MANSSON, Melanie Alice Machado; SCHMIDT, Verônica. Kefir à base de leite caprino: uma revisão sistemática. **Revista Foco**, [S.l.], v. 16, n. 9, set. 2023.

MATHUR, Harsh; BERESFORD, Tom P.; COTTER, Paul D. Health benefits of lactic acid bacteria (LAB) fermentates. **Nutrients**, [Switzerland], v. 12, n. 6, Jan. 2020.

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. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 32, n. 4, p. 580-865, Dec. 2012.

MORITA, Satoshi *et al.* Lutein and zeaxanthin reduce neuronal cell damage caused by lipid peroxidation. **Biochemistry and Biophysics Reports**, [Netherlands], v. 40, Dec. 2024.

NASCIMENTO, R. A.; ALMEIDA, M. C.; MARTINS, P. H. Dairy fermentation: Processes and applications. **Journal of Dairy Science**, [United States], v. 105, n. 7, p. 4321-4335, Jan. 2022.

NEJATI, Fatemeh; JUNNE, Stefan; NEUBAUER, Peter. A big world in small grain: a review of natural milk kefir starters. **Microorganisms**, v. 8, n. 2, p. 192, 2020.

NENCIARINI, Stefano *et al.* Investigating yeast–lactobacilli interactions through co-culture growth and metabolite analysis. **Fermentation**, v. 9, n. 11, p. 933, 2023.

OLIVEIRA, Aline Cristine Garcia *et al.* Análise das condições do comércio de caldo de cana em vias públicas de municípios paulistas. **Segurança Alimentar e Nutricional**, [Campinas], v. 13, n. 2, p. 6-18, fev. 2006.

OLIVEIRA, Ester de Almeida Machado *et al.* Contagem de bactérias lácticas viáveis em leites fermentados. **Revista Univap**, São José dos Campos, v. 24, n. 46, p. 94–104, dez. 2018.

OSTA, Carla Gravel da Costa. **Efeito da utilização de suco concentrado de cana no desenvolvimento de bebida láctea adicionada de probióticos**. 2024. 87 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e derivados) - Universidade de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2024.

OTLES, Semih; CAGINDI, Ozlem. Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. **Pakistan Journal of Nutrition**, [Pakistan], v. 2, n. 2, p. 54-59, Feb. 2003.

OZAWA, Yoko; SASAKI, Mariko. Lutein and oxidative stress-mediated retinal neurodegeneration in diabetes. *In: Diabetes: Oxidative stress and dietary antioxidants*. Oxford: Academic Press, 2014. p. 223-229.

PACHECO, Flaviana Coelho *et al.* Impact of ultrasound-assisted fermentation on buffalo yogurt production: Effect on fermentation kinetic and on physicochemical, rheological, and structural characteristics. **Applied Food Research**, [Netherlands], v. 3, n. 2, Dec. 2023.

PAULA, Júnior César J. de *et al.* **Luteína**: corante bioativo promissor para a indústria láctea. Milkpoint, 2022. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/artigos/industria-de-laticinios/luteina-corante-bioativo-promissor-para-a-industria-lactea-229791/>. Acesso em: 10 jul. 2024.

PELUZIO, Maria do Carmo Gouveia *et al.* Kefir and intestinal microbiota modulation: implications in human health. **Frontiers in Nutrition**, [Switzerland], v. 8, Feb. 2021.

PEREIRA, L.; SANTOS, M.; SOUZA, F. Reduction of syneresis in fermented dairy beverages with the addition of natural humectants. **International Journal of Dairy Technology**, [England], v. 53, n. 3, p. 210-217, Feb. 2019.

PRATI, Patricia; MORETTI, Roberto Hermínio; CARDELLO, Helena Maria André Bolini. Elaboração de bebida composta por mistura de garapa parcialmente clarificada-estabilizada e sucos de frutas ácidas. **Food Science and Technology**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 147-152, mar. 2005.

PUERARI, Cláudia; MAGALHÃES, Karina Teixeira; SCHWAN, Rosane Freitas. New cocoa pulp-based kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. **Food Research International**, [United States], v. 48, n. 2, p. 634-640, Oct. 2012.

PUTRI, Yola Desnera; SETIANI, Nur Asni; WARYA, Sohadi. The effect of temperature, incubation and storage time on lactic acid content, pH and viscosity of goat milk kefir. **Current Research on Biosciences and Biotechnology**, v. 2, n. 1, p. 101-104, 2020.

RANARD, Katherine M. *et al.* Dietary guidance for lutein: Consideration for intake recommendations is scientifically supported. **European Journal of Nutrition**, [Germany], v. 56, n. 3, p. 37-42, Dec. 2017.

REIS, Sislene de Matos; PINTO, Maximiliano Soares; BRANDI, Igor Viana. Effect of Solids non Fat and Sucrose Concentration on Acidification by Lactic Acid Bacteria in Yogurt. 2013.

RIMAL, Anju; THAGUNNA, Bishal; KAUR, Jaspreet. An overview of sugarcane: Production, harvesting, benefits, preservation, and value-added products. **European journal of pharmaceutical and medical research**, v. 9, n. 9, p. 147-153, 2022.

ROCHA, Tatiana Pires. **Desenvolvimento de kefir adicionado de luteína**. 2023. 74 p. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) - Universidade de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2023.

RODRIGUES, Kamila Leite *et al.* Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [Netherlands], v. 25, n. 5, p. 404-408, May 2005.

SANTANA, Yânez André Gomes. Elaboração, caracterização e avaliação de kefir à base de leite de cabra. **Pubvet**, v. 6, n. 15, 2012.

SANTANA, Gustavo Lima de *et al.* Elaboração de kefir à base de leite de cabra: uma revisão. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 3, p. 29533-29551, mar. 2021.

SANTOS, M. **O impacto da indústria do açúcar na economia brasileira**. Rio de Janeiro: Editora FGV, 2007.

SANTOS, A.; SILVA, J.; OLIVEIRA, R. Efeito do suco concentrado de cana na retenção de água em produtos alimentícios. **Journal of Food Science**, [United States], v. 34, n. 2, p. 153-160, fev. 2018.

SAWICKI, Tomasz *et al.* Phenolic compounds profile and antioxidant capacity of plant-based protein supplements. **Molecules**, v. 29, n. 9, p. 2101, 2024.

ŞENDOĞAN, Gizem *et al.* Changes in benzoic acid content of goat milk kefir produced using different kefir cultures. **Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka**, v. 71, n. 1, p. 60-68, 2021.

SILVA, J. da. **Proálcool: História do Programa Brasileiro de Álcool**. Brasília: EMBRAPA, 2009.

SIMON, G. L.; GORBACH, S. L. Normal alimentary tract microflora. *In: Infections of the gastrointestinal tract*. 1995. p. 53-69.

SOUSA, Thaynna Leocádio Trajano Lacerda *et al.* Lactic acid bacteria count in yogurts and dairy drinks from the metropolitan region of Recife-PE. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 11, n. 15, p. 1-8, Nov. 2022.

STRINGHAM, Nicole Tressa; HOLMES, Philip V.; STRINGHAM, James M. Lutein Supplementation Increases Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Humans. **The FASEB Journal**, [United States], v. 30, n. 1, Apr. 2016.

STRINGHETA, Paulo César *et al.* Luteína: Propriedades antioxidantes e benefícios à saúde. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 17, n. 2, p. 229-238, jan. 2006.

SZYDŁOWSKA, Aleksandra; SIONEK, Barbara. Probiotics and postbiotics as the functional food components affecting the immune response. **Microorganisms**, [Switzerland], v. 11, n. 1, Dec. 2022.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yoghurt: Science and Technology**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2007.

TASSI, Erika *et al.* Food sources of lutein and its effect on the human health: Lutein in foods. **Nutrivisa-Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, Fortaleza, v. 10, n. 1, p. e10015-e10015, Apr. 2023.

TAVARES, T. T.; PACHECO, Ana Flávia C.; PAIVA, P. H. C. **Luteína: extração, biodisponibilidade, potencial bioativo e aplicações industriais**. 2023. Disponível em: <https://agrscienc.com/luteina-extracao-biodisponibilidade-potencial-bioativo-e-aplicacoes-industriais/>. Acesso em: 10 jul. 2024.

TIMÓN, María L. *et al.* Antioxidant peptides (< 3 kDa) identified on hard cow milk cheese with rennet from different origin. **Food Research International**, [United States], v. 120, p. 643-649, June 2019.

TRIPATHI, Manoj Kumar; GIRI, Saroj K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. **Journal of Functional Foods**, [Netherlands], v. 9, n. 1, p. 225-241, July 2014.

TUNICK, Michael H.; VAN HEKKEN, Diane L. Dairy products and health: recent insights. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [United States], v. 63, n. 43, p. 9381-9388, Nov. 2015.

UENOJO, Mariana; MARÓSTICA JUNIOR, Mário Roberto; PASTORE, Gláucia Maria. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 616-622, fev. 2007.

VALDUGA, Eunice *et al.* Carotenoids production: microorganisms as source of natural dyes. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 9, p. 2429-2436, Oct. 2009.

VIEIRA, Carla P. *et al.* Bioactive compounds from kefir and their potential benefits on health: a systematic review and meta-analysis. **Oxidative medicine and cellular longevity**, [United States], v. 2021, n. 1, Oct. 2021.

VIEIRA, Claudia Regina *et al.* Controle de qualidade: análise sensorial, química de alimentos e análise de alimentos. 2021.

VIUDA-MARTOS, M. *et al.* Spices as functional foods. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 51, n. 1, p. 13-28, 2010.

WALSH, Aaron M. *et al.* Microbial succession and flavor production in the fermented dairy beverage kefir. **Msystems**, [United States], v. 1, n. 5, Oct. 2016.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. **Dairy Science and Technology**. Boca Raton: CRC Press, 2006.

WANG, Hao; GUO, Mingruo. Microbiological profiles, physiochemical properties and volatile compounds of goat milk kefir fermented by reconstituted kefir grains. **LWT**, v. 183, p. 114943, 2023.

WANG, Qingfu *et al.* Evaluation of a sugarcane juice beverage fermented by *Ganoderma lucidum*: nutritional and antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 42, p. e84822, 2022.

WANG, Wei *et al.* Impact of incorporating free calcium and magnesium on the heat stability of a dairy-and soy-protein-containing model emulsion. **Polymers**, v. 15, n. 22, p. 4424, 2023.

WESCHENFELDER, Simone *et al.* Caracterização físico-química e sensorial de kefir tradicional e derivados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, p. 473-480, 2011.

ZARE, F. *et al.* Microbial, physical and sensory properties of yogurt supplemented with lentil flour. **Food Research International**, v. 44, n. 8, p. 2482–2488, 2011.

ZHONG, Weigang *et al.* Digestibility of polymerized whey protein using *in vitro* digestion model and antioxidative property of its hydrolysate. **Food Bioscience**, [Netherlands], v. 42, Aug. 2021.