

## Produção de biomassa de Kefir de água em sistema de cultivo tradicional

Biomass production from water Kefir in a traditional cultivation system

Producción de biomasa de Kéfir de agua en un sistema de cultivo tradicional

Recebido: 07/03/2022 | Revisado: 22/03/2022 | Aceito: 24/03/2022 | Publicado: 30/03/2022

**José Antônio dos Santos Júnior**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5160-1533>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: antonio.santos2@ufpe.br

**Yago Emídio Oliveira Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4757-8462>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: yago.csj@gmail.com

**Ana Luiza Pereira de Lima**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5471-5886>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: luiza.pereiralima@ufpe.br

**Beatriz Santana Rocha**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6266-684X>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: beatrizsantanarocha@gmail.com

**Cláudia Sampaio de Andrade Lima**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4117-0351>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: claudia.salima@gmail.com

**Ricardo Yara**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7595-8975>

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

E-mail: ricardo.yara@ufpe.br

### Resumo

O Kefir é um alimento probiótico originário da região do Cáucaso que se popularizou devido seus diversos benefícios a saúde e potencial biotecnológico. Essas propriedades advêm das atividades biológicas já comprovadas, destacando-se, antimicrobiana, anticâncer, antidiabética, modulação da microbiota intestinal, bem como, benefícios ao trato gastrointestinal. É preparado a partir da disposição de seus grãos, formados por um consórcio microbiano de leveduras e bactérias, para fermentação de uma fonte de carboidrato. Características externas, tais como, pH, temperatura e concentração de oxigênio, influenciam diretamente no crescimento e características dos microrganismos componentes. Neste sentido, o presente trabalho buscou avaliar o aumento da biomassa de uma cultura de kefir ao longo de 15 meses. Para tanto, foram avaliados modelos matemáticos que melhor descreviam seu crescimento ao longo dos ciclos em sistema de bateladas, foram analisadas as taxas de crescimento, no intuito de verificar a correlação da sazonalidade de produção artesanal com o crescimento, além do efeito dos intervalos de cultivo. Os modelos matemáticos indicaram que, nas amostras analisadas, a regressão polinomial de segunda ordem foi a mais adequada para representar o acúmulo de biomassa ao longo dos ciclos, havendo diferenças significativas nas taxas de crescimento. Porém nestes ensaios não foram detectadas diferenças significativas nos intervalos de repicagens testados (2 ou 3 dias), nem em relação ao inóculo inicial utilizado nas bateladas testadas.

**Palavras-chave:** Kefir; Kefirana; ANOVA; Taxa de crescimento; Sazonalidade.

### Abstract

Kefir is a probiotic food from the Caucasus region that became popular due to its many health benefits and biotechnological potential. These properties come from proven biological activities, highlighting antimicrobial, anticancer, antidiabetic, modulation of the intestinal microbiota, as well as benefits to the gastrointestinal tract. It is prepared from the disposition of its grains, formed by a microbial consortium of yeasts and bacteria, for fermentation of a carbohydrate source. External characteristics, such as pH, temperature and oxygen concentration, directly influence the growth and characteristics of the component microorganisms. In this sense, the present work aimed to evaluate the increase in biomass of a kefir crop over 15 months. To this end, mathematical models that best described its growth along the cycles in a batch system were evaluated, the growth rates were analyzed in order to verify the correlation of seasonality of artisanal production with growth, in addition to the effect of cultivation intervals. The mathematical models indicated that, in the analyzed samples, the second order polynomial regression was the most

adequate to represent the biomass accumulation along the cycles, with significant differences in the growth rates. The mathematical models indicated that, in the analyzed samples, the second order polynomial regression was the most adequate to represent the biomass accumulation along the cycles, with significant differences in the growth rates.

**Keywords:** Kefir; Exopolysaccharide; ANOVA; Growth rate; Seasonality.

### Resumen

El kéfir es un alimento probiótico originario de la región del Cáucaso que se hizo popular debido a sus diversos beneficios para la salud y potencial biotecnológico. Estas propiedades provienen de actividades biológicas comprobadas, destacando antimicrobianas, anticancerígenas, antidiabéticas, moduladores de la microbiota intestinal, así como beneficios para el tracto gastrointestinal. Se prepara a partir de la disposición de sus granos, formados por un consorcio microbiano de levaduras y bacterias, para la fermentación de una fuente de carbohidratos. Las características externas, como el pH, la temperatura y la concentración de oxígeno, influyen directamente en el crecimiento y las características de los microorganismos componentes. En este sentido, el presente trabajo buscó evaluar el aumento de biomasa de un cultivo de kéfir a lo largo de 15 meses. Para esto, se evaluarán modelos matemáticos que describían mejor su crecimiento a lo largo de los ciclos en un sistema discontinuo, se analizaron como tasas de crecimiento, con el objetivo de verificar la correlación de la estacionalidad de la producción artesanal con el crecimiento, además del efecto de los intervalos de cultivo. Los modelos matemáticos indicaron que, en los analizados, una regresión polinomial de segundo orden fue la más adecuada para representar la acumulación de biomasa a lo largo de los ciclos, con diferencias significativas en las tasas de crecimiento. Sin embargo, los ensayos no detectaron diferencias relevantes en los intervalos de subcultivo probados (2 o 3 días), ni en relación con el inóculo inicial utilizado en los lotes probados.

**Palabras clave:** Kéfir; Exopolisacárido; ANOVA; Tasa de crecimiento; Estacionalidad.

## 1. Introdução

O Kefir é um alimento probiótico que fornece diversos benefícios à saúde de quem os consome. Segundo Farag (2020), essas propriedades advêm das atividades biológicas já comprovadas, tais como, antimicrobiana, anticâncer, antidiabética, modulação da microbiota intestinal, bem como, benefícios ao trato gastrointestinal. É de fácil preparação, podendo ser obtido através de grupos em redes sociais e cultivado em casa pelo próprio usuário (Santos, 2015; Farnworth, 2006).

É composto por grãos de forma globosa e superfície irregular, com aparência gelatinosa e cor semelhante ao substrato utilizado para seu cultivo. O kefir de água é cultivado em soluções de concentrações variadas de algum tipo de carboidrato diluído em água, geralmente o açúcar mascavo (Abatemarco, M. *et al.*, 2012; Magalhães, K. *et al.*, 2011; Puerari *et al.*, 2012).

Os grãos são constituídos por micro-organismos aderidos a exopolissacarídeos (EPS) produzida pelos mesmos (Onofre, 2014), em relação a EPS, o mais conhecido é a kefirana (La Riviere *et al.*, 1967; Frengova *et al.*, 2002; Maeda *et al.*, 2004), entretanto diversos EPS foram obtidos a partir de microrganismos isolados do kefir (Wang *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2010).

O potencial biotecnológico apresentado pelo Kefir fez com que este fosse difundido e consumido mundialmente (Prado, 2014), alcançando regiões desde países do continente asiático e europeu até americano (Setyowati & Setyani, 2016). Ainda que sua bebida seja o principal produto biotecnológico deste consórcio, os grãos também possuem atividade biológica como antioxidante e antimicrobiano (Azizi *et al.*, 2021; De Vuyst *et al.*, 2001). Neste sentido, o estudo da dinâmica de crescimento dos grãos em sistema artesanal fornece subsídios tanto para a manutenção de consórcios como para a obtenção de um segundo produto que tem potencial para aplicações biotecnológicas.

Este projeto teve como objetivo avaliar o aumento de biomassa do kéfir de água ao longo de 15 meses em cultivo desenvolvido em sistema artesanal no município Igarassu, localizado no estado de Pernambuco.

Para tanto, foram obtidos registros de aumento de biomassa a partir de protocolo de cultivo padronizado e executado ao longo de 15 meses, foram determinados modelos matemáticos que descrevem o crescimento do kefir ao longo de ciclos em sistema de batelada, verificada a existência de possível sazonalidade de produção em sistema artesanal, verificado o efeito dos

intervalos de cultivo nas taxas de crescimento e a influência da biomassa inicial nas taxas de crescimento.

## 2. Metodologia

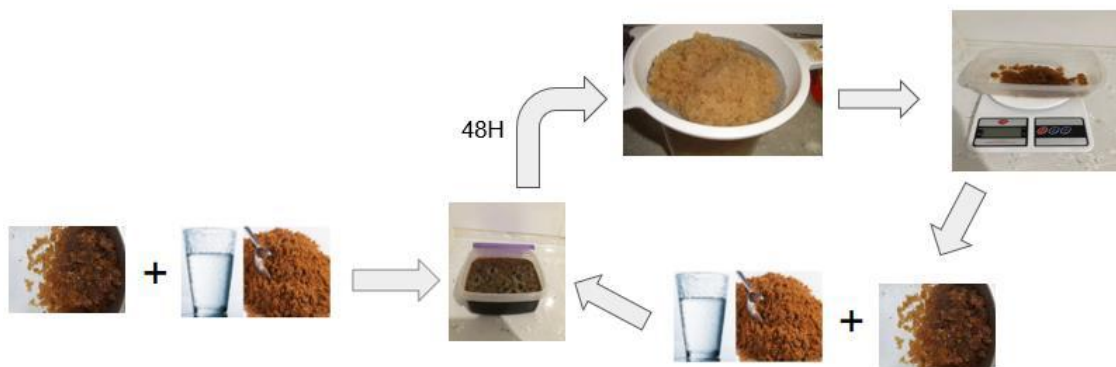
### 2.1 Cultivo e coleta de dados

A cultura de kefir utilizada no presente trabalho foi obtida a partir da doação de grãos de kefir de água, cultivados em açúcar mascavo, de consumidores da bebida do estado do Paraná/BR.

Antes do início dos experimentos, a cultura foi adaptada as condições locais e sofreu uma avaliação microbiológica realizada no Laboratório de Biofísica-Química (LBQ) do Departamento de Biofísica e Radiobiologia (DBR) do Centro de Biociências (CB) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

O experimento se inicia após o recebimento da cultura do DBR / UFPE, pelo cultivo sistemático do consórcio microbiano nos moldes tradicionais em Igarassu/PE (7°51'40"S 34°54'42"W), para tanto, a produção dos grãos de kefir deu-se como preconizado por Cordeiro (2018). Resumidamente, o cultivo foi realizado em sistema de batelada, a partir de um inóculo inicial de 75 g de grãos de kefir frescos cultivados em recipientes plásticos de PP (polipropileno) de capacidade de 765 mL (Fácil®, San Remo). Para esta finalidade, utilizou-se uma solução de 50% (p/v) de açúcar mascavo (Brejeira®, Sítio Boa Esperança) dissolvida em água mineral (Valle®, Kaetes), a qual foi renovada a cada 48 h ou 72 h (as segundas, quartas e sextas-feiras), o procedimento foi repetido até a biomassa úmida atingir 200 g (Figura 1). Neste estágio o conteúdo a massa de grãos foi diminuído para 75 g iniciando assim um novo ciclo de cultivo.

**Figura 1:** Produção de grãos de kefir de água pelo sistema de batelada.



Fonte: Autores.

As culturas foram conduzidas em temperatura ambiente média de 25,94°C (Agritempo, 2021) entre os períodos de 25/04/20 a 21/12/20 e 27/03/21 a 26/07/21, ou alternativamente em estufa climatizada do tipo adega (Adega PH24DZ®, Philco) com temperatura entre 18-20°C no período de 23/12/20 a 25/03/21.

Ao fim de cada batelada e conseqüente troca de substrato, os grãos eram drenados e pesados (biomassa úmida), utilizando balança digital (Ck1253®, Clink), mudanças no aspecto da cultura também foram registrados, bem como alterações no manejo. Esta rotina foi realizada ao longo do período de 25 de abril de 2020 até 26 de julho de 2021, perfazendo 15 meses, 10 ciclos de cultivo ou três períodos de multiplicação.

### 2.2 Análise estatística

Os dados de incremento de biomassa foram planilhados e armazenados no software Excel® (Microsoft). Em seguida foram analisados: a) os modelos matemáticos para o incremento de massa ao longo dos ciclos; b) variação das taxas de

crescimento dos ciclos ao longo tempo; c) influência dos intervalos de repique nas taxas de crescimento; d) variação da taxa de crescimento dentro do ciclo e a interação entre inóculo inicial e os períodos.

### 2.2.1 Incremento de biomassa ao longo de cada ciclo

Após a representação gráfica da cinética de fermentação do acúmulo de biomassa para cada ciclo, foram determinados modelos matemáticos (lineares, exponencial, logarítmico, polinomial e de potência) disponíveis no *software* Excel® v. 2107. Foram então anotados e analisados os três modelos que apresentaram os maiores coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>) para cada ciclo.

### 2.2.2 Variação das taxas de crescimento dos ciclos ao tempo

Para a verificação da existência de possível sazonalidade de produção em sistema artesanal foi escolhido como parâmetro a taxa de crescimento (Equação):

$$c = \left( \frac{P_f - P_i}{P_i} \right) 10^2$$

onde c= taxa de crescimento Pf = peso final, Pi = Peso inicial.

Em seguida, as taxas crescimento foram agrupados por ciclos e examinados os parâmetros de normalidade e uniformidade de variância para verificação da aplicabilidade de análise paramétrica. Após a verificação, o método não paramétrico de Kruskal-Wallis ( $\alpha=0,05$ ) foi aplicado. A comparação entre as médias foi realizada pelo teste de Mann-Whitney todos os procedimentos foram realizados utilizando sítio eletrônico Statistics Kingdom (Statistics Kingdom, 2021).

### 2.2.3 Influência dos intervalos de repique nas taxas de crescimento

No protocolo adotado os intervalos entre as repicagens são irregulares variando de 2 a 3 dias, a depender do dia da semana em que a repicagem foi realizada. Com o acúmulo de registros optou-se por verificar a possibilidade de um desses dias da semana proporcionar maiores taxas de crescimento. Para tanto foram realizados ensaios de variância do tipo ANOVA para um fator, tendo como tratamentos as repicagens realizadas a segunda, quarta e sextas-feiras.

Para a realização deste teste foram verificadas a normalidade e uniformidade de variância dos tratamentos, todos os procedimentos foram realizados utilizando sítio eletrônico Statistics Kingdom (Statistics Kingdom, 2021).

### 2.2.4 Influência do inóculo inicial e as taxas de crescimento

Foram realizadas comparações da taxa de crescimento entre inóculos iniciais de diferentes faixas de peso. Para tanto foram considerados: 75 a 106 g (Faixa 1), 107 a 138 g (Faixa 2), 139 a 169 g (Faixa 3) e 170 g a 200 g (Faixa 4). Para a realização desse teste, foram verificadas a normalidade e a uniformidade de variância dos tratamentos, após a verificação, o método não paramétrico de Kruskal-Wallis ( $\alpha=0,05$ ) foi aplicado utilizando o *software* Jamovi®.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1 Cultivo e coleta de dados

Ao final de cada batelada com tempo de 48 ou 72 h de duração, após o registro da biomassa, era analisado o aspecto dos grãos de Kefir, os quais apresentavam a cor característica do substrato que fermentavam, forma irregular, e aparência gelatinosa semelhante ao relatado por (Abatemarco *et al.*, 2012).

Outra característica, foi a variedade do tamanho do grão, foi possível observar a presença de grãos de tamanho grande, médio e pequeno semelhante ao observado por Raimundo (2013) (Figura 2). Observou-se ainda que estas características aparentemente pouco variaram ao longo do cultivo bem como o odor e o sabor da bebida produzida.

**Figura 2:** Grãos de kefir após a drenagem da solução de açúcar mascavo.



Fonte: Autores.

A partir da implantação do protocolo de manejo da cultura foram registrados sistematicamente os pesos drenados durante o período de 25 de abril de 2020 a 26 de julho de 2021. Neste período foram realizados 10 ciclos de cultivo, cada ciclo com números variados de bateladas. Os ciclos foram agrupados em períodos que correspondem a mudanças de manejo, sendo definidos como Período 20, Período Adega e Período 21 (Tabela 1).

**Tabela 1:** Períodos, ciclos e suas respectivas durações observadas ao longo do cultivo de kefir.

Período	Ciclos	Duração
Período 20	1/20	25/04/2020 até 10/06/2020
	2/20	10/06/2020 até 05/08/2020
	3/20	07/08/2020 até 03/10/2020
	4/20	05/10/2020 até 21/12/2020
Período Adega	1/Adega	23/12/2020 até 10/02/2021
	2/Adega	12/02/2021 até 08/03/2021
	3/Adega	10/03/2021 até 25/03/2021
Período 21	1/21	27/03/2021 até 22/04/2021
	2/21	22/04/2021 até 26/05/2021
	3/21	29/05/2021 até 26/07/21

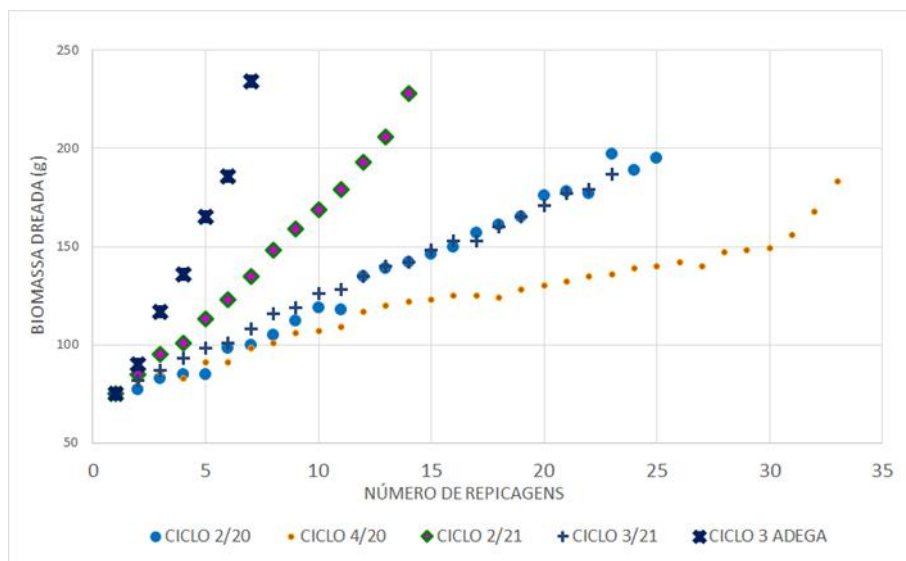
Fonte: Autores.

#### 3.2 Análise estatística

##### 3.2.1 Incremento de biomassa ao longo de cada ciclo

A cinética de fermentação de incremento de biomassa ao longo dos ciclos apresentou diversas taxas de crescimento, fazendo com que os ciclos apresentassem “velocidades” diferentes (Figura 3). Deste modo, pode-se observar que o ciclo 3 ADEGA necessitou de apenas 7 repicagens/bateladas para atingir 200 g de massa drenada, enquanto o ciclo 4/20 necessitou de 34 bateladas.

**Figura 3:** Exemplos de acúmulo de biomassa fresca ao longo dos ciclos de cultivo de kefir.



Fonte: Autores.

Em relação aos modelos matemáticos ensaiados, o modelo polinomial de segunda ordem foi o que mais frequentemente se adequou aos ensaios realizados, outro modelo que se adequou as cinéticas de fermentação observadas foi o linear (Quadro 1). Neste sentido, observa-se que o modelo polinomial de segunda ordem e o modelo linear estão entre os melhores modelos em todos os 10 ciclos estudados. Entretanto, as médias dos coeficientes de determinação dos modelos polinomiais de segunda ordem (0,98611) foram ligeiramente superiores ao modelo linear (0,98308).

Os modelos logarítmico e exponencial também foram observados como modelos com boa aderência, em todos os casos, os coeficientes de determinação para todos os testes foram superiores a 0,9496. O pior ajuste para todos os modelos matemáticos disponíveis foi do ciclo 4/20, onde o melhor  $R^2$  foi de 0,9524 para o modelo exponencial.

Ghasemlou *et al.* (2012) modelou o aumento da biomassa de grãos de kefir em biorreatores no sistema de bateladas utilizando como modelo matemático o polinomial de segunda ordem o coeficiente de determinação obtido foi de 0,851.

**Quadro 1:** Resumo dos melhores modelos matemático por ciclo de cultivo do kefir.

CICLO	MELHOR AJUSTE		SEGUNDO MELHOR AJUSTE		TERCEIRO MELHOR AJUSTE	
	MODELO	R <sup>2</sup>	MODELO	R <sup>2</sup>	MODELO	R <sup>2</sup>
ciclo 1/20	POLINOMIAL	0,9848	LINEAR	0,9831	LOGARITMICA	0,9831
ciclo 2/20	POLINOMIAL	0,9905	LINEAR	0,9905	LOGARITMICA	0,9905
ciclo 3/20	POLINOMIAL	0,981	LINEAR	0,981	LOGARITMICA	0,981
ciclo 4/20	EXPONENCIAL	0,9524	POLINOMIAL	0,9522	LINEAR	0,9496
ciclo 1Adega	POLINOMIAL	0,9863	LINEAR	0,9862	LOGARITMICA	0,9862
ciclo 2Adega	POLINOMIAL	0,9903	LINEAR	0,9903	LOGARITMICA	0,9903
ciclo 3Adega	EXPONENCIAL	0,9937	POLINOMIAL	0,9935	LINEAR	0,9781
ciclo 1/21	POLINOMIAL	0,9878	LINEAR	0,9846	LOGARITMICA	0,9846
ciclo 2/21	POLINOMIAL	0,9977	EXPONENCIAL	0,9932	LINEAR	0,9922
ciclo 3/21	POLINOMIAL	0,997	LINEAR	0,9952	EXPONENCIAL	0,9952

Código de cores: Verde – Melhor ajuste; Amarelo – Segundo melhor ajuste; Rosa – Terceiro melhor ajuste. Cores iguais correspondem a valores idênticos calculados pelo software *Excel*. Fonte: Autores.

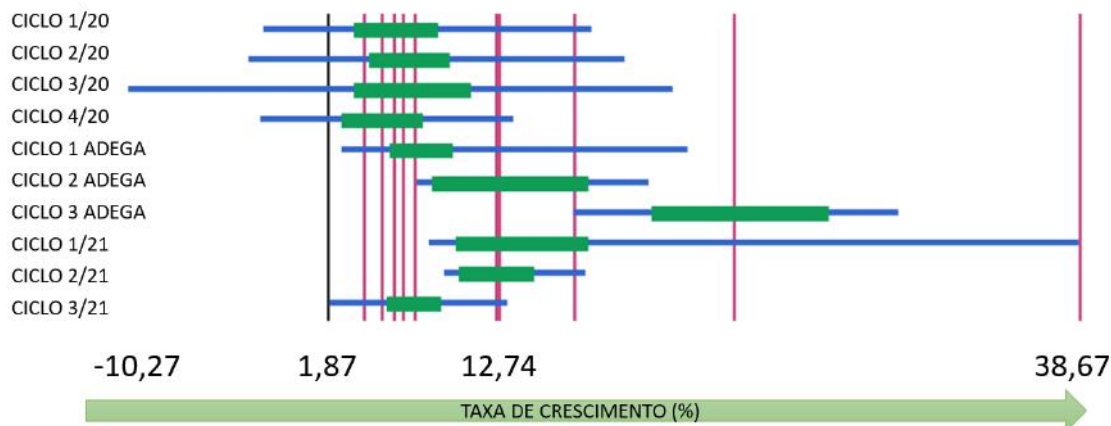
### 3.2.2 Variação das taxas de crescimento dos ciclos ao longo do tempo

As taxas de crescimento de cada ciclo de crescimento foram agrupadas e foram inicialmente testadas quanto a normalidade e uniformidade de variância.

Esta análise demonstrou que alguns tratamentos possuíam número de repetições consideravelmente diferentes, sendo a proporção entre o ciclo 4/20 e ciclo 3Adega é de 5,5 vezes maior (33 dados e 6 dados respectivamente). Esta discrepância de dados reflete as diferenças entre as taxas de crescimento (2,8 7% para 21,00 %, respectivamente). Igualmente a normalidade foi rejeitada pelo teste de Shapiro-Wilk. Optou-se por realizar o teste não paramétrico de ANOVA de Kruskal-Wallis.

O método não paramétrico de Kruskal-Wallis ( $\alpha=0,05$ ) foi aplicado e o valor de p calculado foi de 4,797e-10, ou seja, a classificações dos grupos não foram consideradas iguais e as diferenças entre as classificações médias de alguns grupos foi grande o suficiente para ser estatisticamente significativa. A representação gráfica dos grupos em Boxplot pode ser observada na Figura 4.

**Figura 4:** Representação de gráfico de caixas a partir dos dados coletados e agrupados em Ciclos de cultivo de kefir.



Fonte: Autores com o auxílio do aplicativo <<https://www.statskingdom.com/kruskal-wallis-calculator.html>> acessado em 10/08/2021.

A comparação entre as médias foi realizada pelo teste de Mann-Whitney. O valor crítico utilizado foi de 0,005, nesse caso, a correção de Bonferroni (Quadro 2).

**Quadro 2:** Diferença entre as medianas e valores de p entre os ciclos de cultivo de kefir. As diferenças significativas estão assinadas em vermelho (valores  $p < \alpha$ , sendo  $\alpha = 0,005$  utilizando a correção de Bonferroni), as não-significativas em verde (valores de  $p > \alpha$ ).

GRUPO	CICLO 1/20	CICLO 2/20	CICLO 3/20	CICLO 4/20	1 ADEGA	2 ADEGA	3 ADEGA	CICLO 1/21	CICLO 2/21	CICLO 3/21
CICLO 1/20	0	0,8968**	0,9249	0,3084	0,2203	0,0008271	0,0003299	0,001586	0,0003518	0,4729
CICLO 2/20	0,77*	0	0,9015	0,2162	0,2026	0,001314	0,0002837	0,001853	0,0005901	0,317
CICLO 3/20	0,14	0,63	0	0,2103	0,2368	0,001151	0,0003464	0,004657	0,001821	0,5094
CICLO 4/20	1,68	0,91	1,54	0	0,01433	0,00006435	0,0001162	0,0001731	0,000006754	0,04625
1 ADEGA	1	1,77	1,14	2,68	0	0,006019	0,0004665	0,004676	0,001184	0,5118
2 ADEGA	9,19	9,96	9,33	10,87	8,19	0	0,01261	1	0,2148	0,0004046
3 ADEGA	17,29	18,06	17,43	18,97	16,29	8,1	0	0,03389	0,0008597	0,0002196
CICLO 1/21	5,13	5,9	5,27	6,8	4,13	4,06	12,16	0	0,8152	0,0009414
CICLO 2/21	5,3	6,07	5,44	6,98	4,3	3,89	11,99	0,18	0	0,00002679
CICLO 3/21	0,42	1,19	0,56	2,1	0,58	8,77	16,87	4,71	4,89	0

(\*) Valores de “p” destacados em azul. (\*\*) Diferença entre medianas destacadas em amarelo. Fonte: Autores.

### 3.2.3 Influência dos intervalos de repique nas taxas de crescimento

No protocolo estabelecido os intervalos entre as trocas da solução de açúcar são irregulares variando de 2 a 3 dias, a depender do dia da semana em que a repicagem foi realizada. Esta análise teve o intuito de verificar a hipótese de alguns dias da semana proporcionar maiores taxas de crescimento.

A análise de validação da ANOVA indicou que a existência de igualdade de variâncias utilizando no teste de Levene, onde o  $p = 0,855$ , a diferenças entre os tamanhos dos grupos também foi considerada semelhantes, sendo a proporção entre o grupo maior e o grupo menor é de 1,05. Em relação a normalidade, com base no Teste de Shapiro-Wilk ( $\alpha = 0,05$ ) constatou que todos os grupos se distribuem normalmente ou tem um grande tamanho amostral, no mínimo 30.

A análise de ANOVA (Tabela 2) indicou que o p calculado é igual a 0,287636, como o valor  $p > \alpha$ , onde  $H_0$  é aceito, ou seja, a diferença entre as médias de todos os grupos não é grande o suficiente para ser estatisticamente significativa.



**Tabela 2:** Estatística ANOVA para tempo de repicagem 2 ou 3 dias. Observe que o valor de p não é significativo.

Fonte	G.L.	SQ	QM	F	P-valor
Dias da semana	2	184,688682	92,344341	1,254141	0,287636
Erro	193	14210,89316	73,631571		
Total	195	14395,58184	73,823497		

Fonte: Autores.

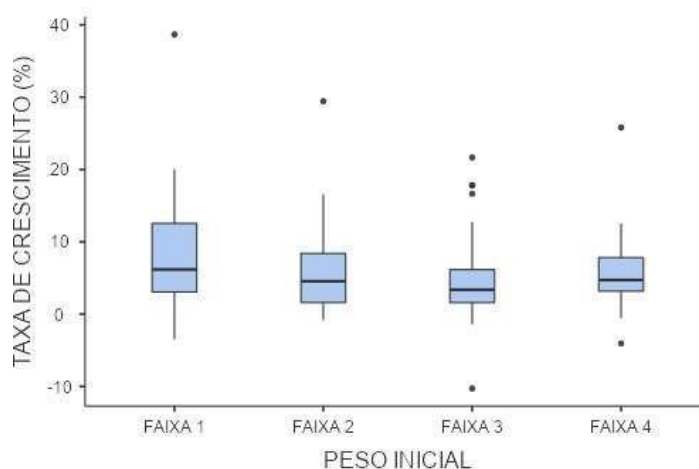
### 3.2.4 Influência do inóculo inicial e as taxas de crescimento

Este ensaio foi primordialmente idealizado para verificar a influência do inóculo ao longo do ciclo visto que pelo sistema de cultivo tradicional o volume de nutrientes é fixo ao longo do ciclo, por outro lado o inóculo inicial não o é. Para tanto, consideradas as faixas de peso de 75 a 106 g, de 107 a 138, 139 a 169 e de 170 a 200 g.

As taxas de crescimento foram inicialmente testadas quanto à normalidade e a uniformidade de variância. O teste de Shapiro-Wilk indicou que os agrupamentos não apresentavam distribuição normal, além de apresentarem um número de amostras baixo (33 a 46).

Em relação ao teste de homogeneidade de variâncias (Levene), este também apresentou heterogeneidade das variâncias ( $p = 0,163$ ), por este motivo optou-se pelo teste de Kruskal-Wallis, que por sua vez, não foi significativo ( $p = 0,076$ ), neste sentido o Gráfico Box-Plot (Figura 5) reforça este resultado.

**Figura 5:** Gráfico de caixas (Box-Plot) das medianas das taxas de crescimento (%) de diferentes inóculos iniciais, sendo 75 a 106 g (Faixa 1), de 107 a 138 g (Faixa 2), de 139 a 169 g (Faixa 3) e de 170 a 200 g (Faixa 4).



Fonte: Autores.

Os achados no seu conjunto indicam que a manutenção das culturas de Kefir possuem diversos vieses que determinam o bom desempenho da cultura. O emprego de novos ferramentais simples, como protocolos mais estritos para o cultivo tradicional desta bebida, deverá impulsionar a qualidade e a segurança alimentar do produto.

## 4. Considerações Finais

A partir das análises realizadas pode-se concluir que os modelos matemáticos indicam que nas amostras analisadas o modelo polinomial de segunda ordem foi o mais adequado para representar o acúmulo de biomassa ao longo dos ciclos, houve diferenças significativas nas taxas de crescimento entre os ciclos. Porém nestes ensaios não foram detectadas diferenças significativas nos intervalos de repicagens testados (2 ou 3 dias) nem em relação ao inóculo inicial utilizado nas bateladas

testadas.

Como perspectivas, os autores propõem a realização de testes em ambientes controlados (temperatura, pressão, luminosidade, pH, pressão de oxigênio, umidade, entre outros), bem como, a avaliação da dinâmica populacional de diferentes grupos fúngicos (leveduras) e bacterianos ao longo do processo de fermentação e sua correlação com a variação de biomassa. Desse modo, será possível maior precisão dos resultados obtidos, tornando o processo de produção de kefir mais seguro e produtivo.

## Referências

- Abatamarco, M. *et al.* (2012). Isolamento e identificação por PCR ARDRA de *Lactobacillus spp.* de grãos de kefir cultivados em leite ou água açucarada. *Pós em Revista do Centro Universitário Newton Paiva*, 5(1) 260-267.
- Agritempo (2021). Sistema de Monitoramento Agrometeorológico. <https://www.agritempo.gov.br/agritempo/jsp/Estatisticas/index.jsp?siglaUF=PE>.
- Azizi, N. F. *et al.* (2021). Kefir and its biological activities. *Foods*, 10(6), 1210.
- De Vuyst, L., De Vin, F., Vaningelgem, F., & Degeest, B. (2001). Recent developments in the biosynthesis and applications of heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 11(9), 687-707.
- Farag, M. M. (2020). Case Studies in Material Selection and Substitution. *Materials and Process Selection for Engineering Design*, 3(1), 403-452.
- Farnworth, E. R. (2006). Kefir - A complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Fu*, 2(1), 1-17.
- Frengova, G. I., Simova, E. D., Beshkova, D. M., & Simov, Z. I. (2002). Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria of kefir grains. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57(9-10), 805-810.
- Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., Oromiehie, A., & Yarmand, M. S. (2011). Development and characterisation of a new biodegradable edible film made from kefiran, an exopolysaccharide obtained from kefir grains. *Food Chemistry*, 127(4), 1496-1502.
- La Riviere, J. W. M., Kooiman, P., & Schmidt, K. (1967). Kefiran, a novel polysaccharide produced in the kefir grain by *Lactobacillus brevis*. *Archiv für Mikrobiologie*, 59(1), 269-278.
- Maeda, H., Zhu, X., Suzuki, S., Suzuki, K., & Kitamura, S. (2004). Structural characterization and biological activities of an exopolysaccharide kefiran produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* WT-2BT. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(17), 5533-5538.
- Magalhães, K. T., Pereira, G. V. D. M., Campos, C. R., Dragone, G., & Schwan, R. F. (2011). Brazilian kefir: structure, microbial communities and chemical composition. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(2), 693-702.
- Onofre, N. A. (2014). *Desenvolvimento e caracterização de filmes poliméricos a partir de ágar, agarose e kefirana com incorporação de nanopartículas de prata* (Master's thesis, Universidade Federal de Pernambuco).
- Puerari, C., Magalhães, K. T., & Schwan, R. F. (2012). New cocoa pulp-based kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. *Food Research International*, 48(2), 634-640.
- Prado, M. R. M. (2014). *Produção de composto bioativo a base de polissacarídeo e proteína com atividades angiogênica e anti-inflamatória utilizando cultura mista de bactérias e leveduras do Kefir tibetano em soro de leite*. (Doctoral thesis, Universidade Federal do Paraná).
- Raimundo, I. D. C. (2013). *Caracterização microbiológica e avaliação de propriedades imunomodulatória e inibitória do Kefir sobre Salmonella typhimurium*. (Doctoral thesis, Universidade Federal de Lavras).
- Santos, F. L. (2015). *Kefir: propriedades funcionais e gastronômicas*. Editora UFRB.
- Setyani, W., Setyowati, H., & Ayuningtyas, D. (2016). Pemanfaatan Ekstrak Terstandarisasi Daun Som Jawa (*Talinum paniculatum*) (Jacq. Gaertn) Dalam Sediaan Krim Anti Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 13(10), 44-51.
- Statistics Online. (2021). Statistics Kingdom. <https://www.statskingdom.com/index.html>.
- Wang, Y., Ahmed, Z., Feng, W., Li, C., & Song, S. (2008). Physicochemical properties of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* ZW3 isolated from Tibet kefir. *International Journal of Biological Macromolecules*, 43(3), 283-288.
- Wang, Y., Li, C., Liu, P., Ahmed, Z., Xiao, P., & Bai, X. (2010). Physical characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* KF5 isolated from Tibet Kefir. *Carbohydrate Polymers*, 82(3), 895-903.