

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

ADRIANO JOSÉ DE MIRANDA

ESTUDO SOBRE FERMENTADO ACÉTICO A PARTIR DE KOMBUCHA

CAMPO MOURÃO

2023

ADRIANO JOSÉ DE MIRANDA

ESTUDO SOBRE FERMENTADO ACÉTICO A PARTIR DE KOMBUCHA

Study on acetic fermented from kombucha

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentada como requisito para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Profa. Dra. Eliane Sloboda Rigobello

CAMPO MOURÃO

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

ADRIANO JOSÉ DE MIRANDA

ESTUDO SOBRE FERMENTADO ACÉTICO A PARTIR DE KOMBUCHA

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Tecnólogo em Alimentos da Universidade Tecnológica
Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 12/junho/2023

Eliane Sloboda Rigobello
Doutora em Química Analítica e Inorgânica
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Augusto Tanamati
Doutor em Química
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo
Doutor em Tecnologia de Alimentos
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

CAMPO MOURÃO

2023

Dedico este trabalho à minha amada esposa Suzana
Ferreira da Silva e querida filha Ana Luisa Ferreira
de Miranda, pelos momentos de ausência, mas que
me incentivaram a todo momento a não desistir.

AGRADECIMENTOS

O processo foi longo, mas a presença dos professores, amigos e a família puderam atenuar essa caminhada, quero aqui externar o meu agradecimento a todos aqueles que se fizeram presentes durante essa jornada.

Agradeço a minha orientadora Prof.(a) Dr.(a) Eliane Sloboda Rigobello, pela dedicação e sabedoria com que me guiou nesta trajetória, trazendo importantes contribuições não somente de cunho acadêmico, mas também profissional e pessoal, enriquecendo essa passagem estudantil.

Aos meus colegas de sala, que compartilharam das mesmas dificuldades e integraram conhecimentos e descobertas. Com eles descobri minhas limitações, que permitiu melhorar um pouquinho a cada dia, levo cada um nas minhas lembranças e nas minhas orações.

Sem dúvida, agradecer a rede de professores que puderam contribuir com seu máximo na minha formação, em especial os professores(as): Paulo Henrique Março, Aline Takaoka Alves Baptista, Renata Hernandes Barros Fuchs e Vanessa Medeiros Corneli, que ultrapassaram a barreira do conhecimento acadêmico, transmitindo também valores importantes de companheirismo, ética e humanismo, que levarei comigo por onde caminhar.

Também gostaria de agradecer de maneira especial o professor Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo que contribuiu com equipamentos e o método para análise alcoólica e a professora Flávia Aparecida Reitz Cardoso que contribuiu com as análises estatísticas dos dados.

Não poderia deixar de agradecer também aos técnicos de laboratório e estagiários, que em momento algum deixaram de dar suportes para que as análises pudessem ser realizadas, somando esforços para que esse trabalho pudesse ser concluído.

Gostaria de deixar registrado também, o meu reconhecimento aos amigos, que souberam compreender meus momentos de ausência, mas nunca deixaram de me incentivar para que chegasse ao fim desse projeto.

Enfim, a todos os que contribuíram para a realização deste trabalho de maneira indireta, mas que sem eles dificilmente poderia chegar ao fim.

RESUMO

A sociedade consumidora aumentou o interesse em compreender os processos que estão atrelados a produção de alimentos e a sua composição, principalmente quanto a presença de aditivos, fibras, calorias e nutrientes. Com isso alimentos produzidos pelo próprio consumidor vêm aumentando e ganhando as prateleiras no mercado, o que acarreta na melhor aceitação pela composição mais natural e benéfica a saúde. Nesse contexto, a bebida de kombucha tem adquirido espaço no mercado, bem como seu subproduto vinagre por ser produzida artesanalmente e com produtos naturais. Nesse estudo foi avaliado o potencial fermentativo da cultura de kombucha, propondo a produção de 3 fermentados ácidos: vinagre de kombucha de chá verde (FAKCV), vinagre de kombucha de hibisco (FAKH) e vinagre de kombucha com abacaxi (FAKA). A kombucha foi preparada a partir de uma infusão de folhas de chá e uma cultura de bactérias e leveduras (SCOBY), 10% de fermentado de kombucha (*starter*) e adoçado com 70 g/L de mel de abelha *Apis Mellifera*. As análises físico-químicas foram feitas no tempo zero e a cada 7 dias até o 28º dia, e no final do processo no 63º dia, com exceção da análise alcoólica que iniciou no 7º dia até o 35º dia e no final do processo. O estudo contemplava explorar a produção de ácido acético e o processo de transformação dos açúcares, para isso foram realizadas análises físico-químicas de pH, acidez total, °BRIX, açúcares redutores, sacarose e álcool. O valor médio de acidez em ácido acético no 28º e 63º dia para os fermentados de FAKCV foi igual a 0,96 e 1,38% (m/V); FAKH 2,16 e 2,11% (m/V) e FAKA 1,88 e 2,05% (m/V), respectivamente. Os valores de pH no 28º dia e no 63º dia para FAKCV: 2,71 e 1,95; FAKH: 2,59 e 2,02 e FAKA: 2,94 e 2,15, respectivamente. Para os sólidos solúveis no 63º dia de fermentação, °BRIX filtrado, foram para FAKCV: 4,50% (m/V); FAKH: 3,75% (m/V) e FAKA: 2% (m/V). O teor de açúcares redutores em relação ao tempo zero e 63º dia diminuiu gradativamente e a sacarose permaneceu praticamente zero no decorrer da fermentação. O teor alcoólico encontrado ao final do processo de fermentação foi entre 0,27% (m/V) e 0,28% (m/V) para as três amostras de fermentados ácidos de kombucha. O estudo estatístico demonstrou que existe uma relação inversa entre a quantidade de açúcar e ácido acético produzido. Observou-se que é possível utilizar mel de abelha *Apis Mellifera* em substituição da sacarose na produção da bebida kombucha ou vinagre. Diante da acidez e pH obtidos nas amostras, os produtos apresentam potencial para serem consumidos na alimentação em substituição ao vinagre comercial.

Palavras-chave: kombucha; fermentado; vinagre; scoby; chá verde.

ABSTRACT

The consumer society has increased interest in understanding the processes that are linked to food production and its composition, especially regarding the presence of additives, fibers, calories and nutrients. With that, food produced by the consumer has been increasing and gaining market shelves, which leads to better acceptance for the most natural composition and beneficial to health. In this context, the kombucha drink has gained space in the market, as well as its by-product vinegar because it is produced by hand and with natural products. In this study, the fermentative potential of the kombucha culture was evaluated, proposing the production of 3 fermented acids: green tea kombucha vinegar (FAKCV), hibiscus kombucha vinegar (FAKH) and kombucha vinegar with pineapple (FAKA). The kombucha was prepared from an infusion of tea leaves and a culture of bacteria and yeast (SCOBY), 10% fermented kombucha (starter) and sweetened with 70 g/L of *Apis Mellifera* bee honey. The physical-chemical analyzes were performed at time zero and every 7 days until the 28th day, and at the end of the process on the 63rd day, with the exception of the alcoholic analysis that started on the 7th day until the 35th day and at the end of the process. The study contemplated exploring the production of acetic acid and the process of transformation of sugars, for this, physicochemical analyzes of pH, total acidity, °BRIX, reducing sugars, sucrose and alcohol were carried out. The average value of acidity in acetic acid on the 28th and 63rd day for the fermented FAKCV was equal to 0.96 and 1.38% (m/V); FAKH 2.17 and 2.11% (m/V) and FAKA 1.88 and 2.05% (m/V), respectively. The pH values on the 28th day and on for FAKCV: 2.71 and 1.95; FAKH: 2.59 and 2.02 and FAKA: 2.94 and 2.15, respectively. For the soluble solids on the 63rd day, °BRIX filtered, were for FAKCV: 4.50% (m/V); FAKH: 3.83% (m/V) and FAKA: 2% (m/V). The reducing sugar content in relation to time zero and day 63 gradually decreased and sucrose remained practically zero during fermentation. The alcohol content found at the end of the fermentation process was between 0.27% (m/V) and 0.28% (m/V) for the three samples of fermented kombucha acids. Statistical study has shown that there is an inverse relationship between the amount of sugar and acetic acid produced. It was observed that it is possible to use *Apis Mellifera* bee honey to replace sucrose in the production of kombucha drink or vinegar. In view of the acidity and pH obtained in the samples, the products have the potential to be consumed in food instead of commercial vinegar.

Keywords: kombucha; fermented; vinegar; scoby; green tea.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
1.1	Objetivo geral.....	9
1.2	Objetivos específicos.....	9
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	10
2.1	Kombucha	10
2.2	Vinagre	13
3	METODOLOGIA	16
3.1	Preparação do substrato	16
3.1.1	Formulação de kombucha/hibisco	16
3.1.2	Formulação de kombucha/abacaxi.....	17
3.2	Análise de pH.....	17
3.3	Análise de acidez total	17
3.4	Análise de sólidos solúveis (°BRIX)	17
3.5	Análise do conteúdo de açúcares redutores e sacarose.....	17
3.6	Teor de álcool	19
3.7	Estudo estatístico.....	21
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	22
4.1	Acidez total	24
4.2	°BRIX, açúcares redutores, sacarose, acidez e pH	25
4.2.1	Correlação entre as variáveis físico-química.....	26
4.3	Análise alcoólica	29
5	CONCLUSÃO	32
	REFERÊNCIAS.....	34

1 INTRODUÇÃO

Diante de um cenário onde a população passou a questionar a indústria alimentícia, em especial a de alimentos ultraprocessados, caracterizando como uma alimentação pouco saudável, determinados hábitos alimentares passaram a ser avaliados como de saúde pública (MARTINS; FARIAS, 2018; BRASIL, 2014).

A sociedade de maneira geral tem demonstrado um maior interesse por alimentos mais saudáveis, dando prioridade a determinados tipos de alimentos. Contudo nesse sentido muitos aspectos podem ser avaliados desde o estilo de vida adotado até mesmo nichos de mercado. Diante dessa perspectiva, algumas tendências podem ser observadas: alimentos que proporcionem benefícios a saúde gastrointestinal como probióticos, prebióticos e simbióticos, produtos com aditivos e ingredientes naturais, produtos orgânicos, produtos de baixo impacto ambiental, processos produtivos sustentáveis entre outros (BARBOSA *et al.*, 2020).

O crescimento no segmento de alimentos saudáveis pode ser avaliado de acordo com o tamanho do mercado, em 2019 o mercado de alimentos funcionais foi avaliado em 178 bilhões de dólares, e estima-se que esse mercado alcance 268 bilhões de dólares em 2027, com destaque para os alimentos probióticos que apresentam a maior expectativa (GAZZOLA; FRONGLAZIA; CAMPOS, 2022).

O Guia Alimentar para a população brasileira, no capítulo 2 enfatiza a importância da ingestão de produtos extraídos de alimentos *in natura* ou diretamente da natureza seja para cozinhar ou temperar, retratando a necessidade de desenvolver habilidades culinárias para uma melhor alimentação (BRASIL, 2014).

O surgimento de novas tecnologias permite formular variações de alimentos mais saudáveis (GAZZOLA; FRONGLAZIA; CAMPOS, 2022). A kombucha é uma bebida fermentada tendo como base o chá verde (*Camellia Sinensis*), açúcar que pode variar de diversas fontes, e no mosto adiciona-se uma cultura simbiótica de leveduras e bactérias, denominada SCOBY, quais são responsáveis por transformar o açúcar em uma bebida gaseificada, agregando probióticos e ácidos orgânicos (SANTOS; NÓBREGA, 2019).

De acordo com Santos e Nóbrega (2019) há registros da bebida fermentada kombucha que remontam a mais de 2.200 anos, e estudos com base científica devem amparar conhecimentos empíricos sobre a bebida. O que já está acontecendo, o

crescente número de publicações correlacionado ao aumento de consumidores da bebida kombucha exige uma reunião dos trabalhos mais relevantes (COELHO *et al.*, 2020).

O presente trabalho tem como objetivo à pesquisa de um fermentado acético de kombucha, caracterizando componentes importantes para determinação de um vinagre, estabelecer uma comparação entre outros tipos de formulação, e apresentar os resultados obtidos.

1.1 Objetivo geral

Avaliar a viabilidade do desenvolvimento de três diferentes fermentados acéticos a partir da kombucha, de chá verde, de chá verde e abacaxi e de hibisco adoçadas com mel.

1.2 Objetivos específicos

Preparar as amostras de kombucha;

Determinar as características físico-químicas por meio de medidas de pH, acidez, °BRIX, teor de álcool, açúcares redutores e sacarose;

Divulgar os resultados por meio de publicações em seminários, congressos e em periódicos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

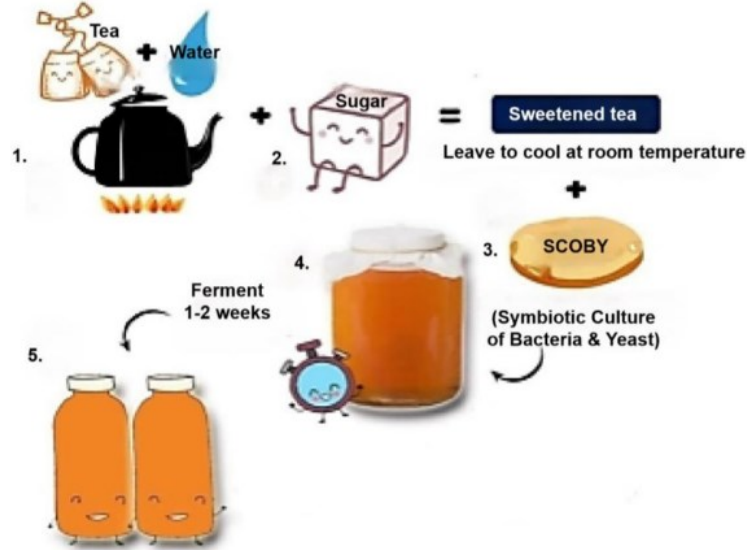
2.1 Kombucha

A Kombucha é uma bebida fermentada aeróbia, produzida a partir de um chá (tradicionalmente de *Camellia sinensis*) e de uma película de celulose com uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras chamada de SCOBY (SANTOS, 2016; BRASIL, 2019; NASATO *et al.*, 2019), a qual é responsável pela fermentação. De acordo com Santos (2016) a kombucha é uma bebida refrescante e agridoce, que lembra sidra, de origem asiática, e que nos últimos anos registrou um aumento de popularidade, principalmente nos Estados Unidos, com um mercado bem estabelecido do produto.

A fermentação ideal para o produto geralmente ocorre entre 7 a 10 dias, se esse período o for extrapolado, a kombucha desenvolve um sabor avinagrado mais intenso (SANTOS, 2016). O pH reduz com o passar dos dias, tendo como principal fator o aumento do ácidos orgânicos advindos do processo de fermentação por bactérias e leveduras, tal mecanismo tem atuação significativa por 18 dias, com um acúmulo de ácidos orgânicos com o passar do tempo (JAYABALAN *et al.*, 2008).

O preparo do chá (chá verde, chá preto ou oolong) segue um roteiro, em que as folhas são adicionadas em água fervente e deixadas em infusão, geralmente por 10 minutos, após esse período as folhas são retiradas e adicionado a sacarose, geralmente 50g/L, que é dissolvida no chá ainda quente, reservando até o total resfriamento (Figura 1). O chá frio é colocado em um recipiente com boca larga e acidificado pela adição de vinagre ou kombucha já pronto, chamado de starter. A cultura simbiótica SCOBY, é colocada na superfície do chá e o recipiente é cuidadosamente coberto com um material que permita a entrada de oxigênio, e deixando em temperatura de 20°C a 30°C durante a fermentação (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000). É importante monitorar o processo fermentativo, a fim de obter as características sensoriais de aroma e sabor que mais agradem o consumidor (SANTOS, 2016).

Figura 1 – Processo de produção de kombucha



Fonte: Selvaraj e Gurumurthy (2023, p. 2)

De acordo com Blanc (1996) a cultura simbiótica (Fotografia 1) está concentrada em uma rede de celulose parecida em composição chamada de “mãe de vinagre” e SCOBY. Dentre as principais bactérias e leveduras presente na kombucha e SCOBY tem-se: *Gluconacetobacter* (*G. xylinus*), *Acetobacter*, *Lactobacillus*, *Zygosaccharomyces*, *Candida*, *Hanseniaspora*, *Torulaspota*, *Pinchia*, *Dekkera* (MARSH *et al.*, 2014a) *Candida californica*, *Zygosaccharomices rouxii*, *Metschnikowia pulcherrima* e uma bactéria *Acetobacter sp.* (SANTOS, 2016). Em um estudo de Marsh *et al.* (2014b) apontaram que o grupo *Gluconabacter* é o gênero bacteriano dominante do chá.

Fotografia 1 – Kombucha com cultura simbiótica de bactérias e leveduras, SCOBY



Fonte: Autoria própria (2023)

Segundo Dusfrene e Farnworth (2000) a acidez do chá com a cultura aumenta com o tempo de incubação, em 3 dias de fermentação, o pH reduz cerca de 5,00 para 3,00 em processo contínuo, abaixando até o 18º dia. O mecanismo inicial do processo está baseado na liberação de dióxido de carbono, o qual dissocia-se e produz ânion hidrocarbonado anfiprótico (HCO_3^-), que interage com íons de hidrogênio (H^+) de ácidos orgânicos.

A composição final da kombucha consiste em resíduos de açúcares, dióxido de carbono e ácidos orgânicos, com destaque para os ácidos acético e glucônico, com um sabor suave, volátil e adstringente (CHEN; LIU, 2000). Também no final do processo haverá uma nova película de celulose na superfície do líquido (SCOBY) (SANTOS, 2016).

Deve-se considerar que variações de preparações são pertinentes para o composição final do produto, tendo em vista, que a atividade depende do tempo destinado a fermentação, do tipo de chá escolhido e também da microbiota da cultura simbiótica (BLANC, 1996; DUFRESNE; FARNWORTH, 2000; SANTOS, 2016). Nesse cenário, o fator de maior variação ocorre devido à variedade de cepas de diferente bactérias, embora exista uma tendência em simplificar as formulações, a kombucha é uma bebida ancestral de multicepas ou multiespécies (MARSH *et al.*, 2014a).

O produto bebida kombucha deve atender os seguintes parâmetros: pH entre 2,5 e 4,2; graduação alcoólica (%v/v) da kombucha sem álcool tendo no máximo de 0,5; graduação alcoólica (%v/v) de kombucha com álcool entre 0,6 e 8,0; acidez volátil (mEq/L) entre 30 e 130; pressão (atm a 20°C) na kombucha adicionada de CO_2 entre 1,1 e 3,0 (BRASIL, 2019).

Para Dusfrene e Farnworth (2000) a fermentação do chá por um período prolongado, proporciona um aumento de ácidos orgânicos, o que poderia causar danos à saúde se consumido frequentemente. O aumento no tempo de incubação resulta em uma maior concentração de ácido acético, ou seja um vinagre suave (BLANC, 1996). Contudo para Marsh *et al.* (2014a) o teor ácido unido a antimicrobianos produzidos por bactérias, se traduz em uma bebida com propriedades terapêuticas e antimicrobianas. O pH baixo e o teor de etanol da bebida são fatores que auxiliam na não contaminação por microrganismos patogênicos (MARSH *et al.*, 2014b).

Nessa corrente o produto tem ganhado popularidade nos últimos anos, com apelo para um produto natural, a kombucha ainda não está tão bem caracterizado a

outros produtos (SANTOS, 2016), mas muitos estudos exploram as diferentes possibilidades de uso para a kombucha (SELVARAJ; GURUMURTHY, 2022).

2.2 Vinagre

O consumo de vinagres no Brasil está em torno de 170 milhões de litros anualmente. A média de consumo para o brasileiro é de 0,8 litro por pessoa ao ano, comparado com o norte americano que consome até 1,8 litro por ano (MARTINS; FARIA, 2018), assim existe um campo a ser explorado. Para Macedo (2006, apud NETTO, 2006, p. 9) a desinformação do consumidor brasileiro é uma das causas da produção de vinagres de baixa qualidade, que dá preferência por produtos mais baratos.

O que pode mudar esse panorama são os vinagres de frutas, que possuem em sua constituição qualidades sensoriais e nutritivas superiores, possibilitando uma diversidade de sabores a depender da matéria prima utilizada (TESSARO *et al.*, 2010).

A produção de vinagre traz referências de 8.000 anos a.C., o qual era utilizado como condimento benéfico a saúde humana, e desde início inúmeras utilidades são dadas ao vinagre, tais como: bebida (diluído em água), condimento, tratamento de disfunções respiratórias, cura de feridas e úlceras, controle de epidemias como da cólera (RIZZON; MENEGUZZO, 2002).

Em uma época em que a ciência não tinha tanto respaldo era de se esperar que a solução pudesse chegar em único produto. No entanto, sabe-se que o vinagre tem a capacidade de prevenir possíveis contaminações, além de desinfetar e temperar os alimentos (RIZZON; MENEGUZZO, 2002).

O grande salto na compreensão desse produto se deu quando Lavoisier Pasteur compreendeu a reação química que ocorria durante a fermentação acética, associando a presença de bactérias acéticas que se desenvolviam na superfície do substrato (RIZZON; MENEGUZZO, 2002).

De acordo com a Instrução Normativa 14, de 8 de fevereiro de 2018, o vinagre ou fermentado acético deve apresentar as seguintes características sensoriais: sabor ácido; aroma característico; cor de acordo com a matéria prima que lhe deu origem; aspecto líquido, límpido e ausente de elementos estranhos. Para os parâmetros físico-químicos o vinagre deve apresentar 1% v/v a 20°C de álcool etílico, mínimo de 1 g/L de cinzas, máximo de 1,2 g/L de sulfatos (expresso em sulfato de potássio), 1,0 g/L

de cloretos (expresso em cloreto de sódio) e acidez volátil de ácido acético mínima de 4,0 g/100mL (BRASIL, 2018). No entanto, para o consumo humano a acidez ideal deve ser entre 4 e 6% de ácido acético. Todo vinagre deve ter um pouco de álcool, caso contrário as bactérias acéticas, na ausência de um substrato alcoólico, podem degradar o ácido acético produzido com prejuízo para o próprio vinagre (RIZZON; MENEGUZZO, 2002).

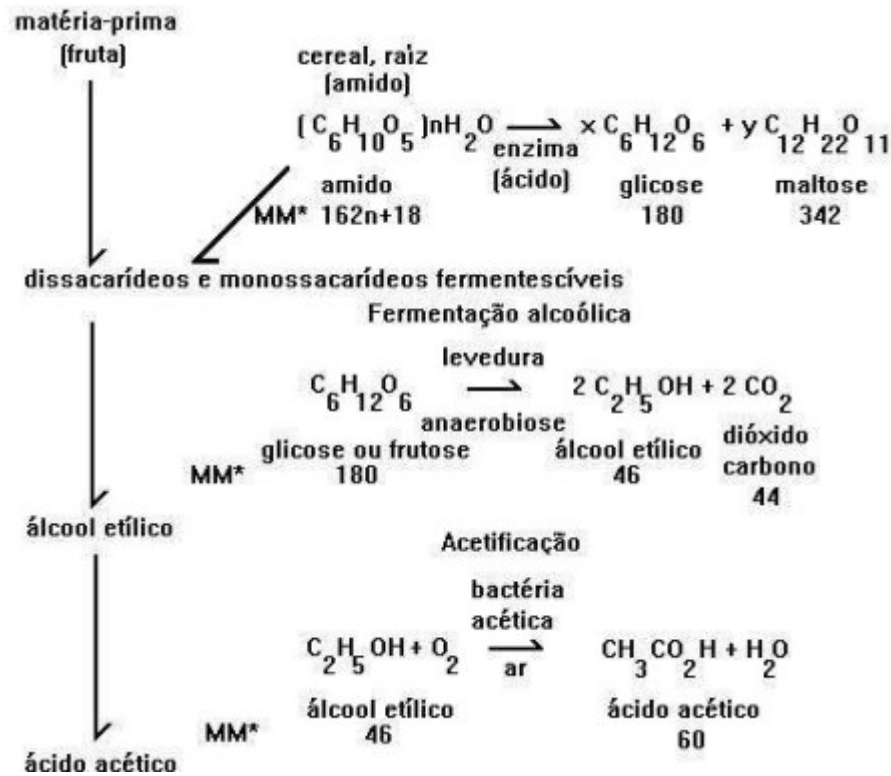
A fruticultura do Brasil é uma das maiores do mundo, contudo acompanhado com o grande volume de produção também está o desperdício durante a comercialização, tendo em vista que essa matéria prima é sensível a degradação, seja por defeitos nas cascas, tamanhos, coloração, consistência ou outros fatores (TESSARO *et al.*, 2010).

O cenário brasileiro permite explorar as frutas como matéria prima dos vinagres como alternativa para minimizar as perdas que ocorrem no campo ou perdas da indústria de frutos não aproveitáveis (ANTÔNIO *et al.*, 2017; LEÃO VELOSO, 2013), diversificando a fonte, o vinagre pode ser desenvolvidos de kiwi, laranja, pêra, melão, pêssego, cereja, framboesa, mel, maçã, manga, maracujá, milho, tangerina (MARQUES *et al.*, 2010; MACEDO, 2006, apud NETTO, 2006, p. 9).

De acordo com Schoeller e Balbi (2010) o vinagre de frutas é proveniente da sua fermentação, são puros e imprimem em sua composição os valores nutricionais das frutas que deram origem ao vinagre. Macedo (2006, apud NETTO, 2006, p. 9) explica que o vinagre de frutas mantém os extratos inerentes a matéria prima usada para produção, conservando a presença de sais minerais, compostos fenólicos e vários outros ácidos tais como acético, tartárico, málico e láctico, que vinagres provenientes de frutas apresentam uma gama nutritiva maior comparado com o produzido com álcool etílico.

Para Leão Veloso (2013) a implantação de novas tecnologias que aproveitem matérias primas que já perderam o valor mercadológico, pode contribuir com pequenos produtores, enriquecendo e enobrecendo o vinagre. O fluxograma (Fig. 2) para produção de vinagre envolve duas etapas, a primeira com atuação das leveduras transformando os açúcares em etanol, e a segunda as bactérias acéticas transformando o etanol em ácido acético (RIZZON; MENEGUZZO, 2002; TESSARO *et al.*, 2010).

Figura 2 – fluxograma da produção de ácido acético



Fonte: XAVIER *et al.* (2009, *apud* LEÃO VELOSO, 2013, p. 9)

Atualmente grandes empresas já visam um consumidor que preza por produtos mais saudáveis. Nesse seguimento o desenvolvimento de vinagres que retomam a 'mãe' do vinagre, é a opção preferencial, tendo em vista a colônia de bactérias que favorece benefícios a saúde (MARTINS, 2018).

3 METODOLOGIA

3.1 Preparação do substrato

A base de chá verde (*Camellia Sinensis*) foi preparada baseada na metodologia descrita por Paludo (2017), na qual foi adicionado 5 g/L de erva de chá, adquiridos em casa de produtos naturais, em recipiente com água potável filtrada fervente e mantida por infusão durante 15 minutos. Após, foi coada em coador de pano e adicionado uma concentração de 70 g/L de mel, sob agitação até a dissolução. Na sequência o chá foi resfriado até a temperatura ambiente.

A cultura da kombucha, SCOBY, foi adquirida de uma família produtora dessa bebida na cidade de Campo Mourão – PR.

As infusões foram inoculadas com o SCOBY, pesando aproximadamente 115 gramas, e adição de 10% (v/v) de fermentado anterior, *starter* (iniciador de fermentação), ao volume total de chá (SANTOS *et al.*, 2018). Essas preparações foram adicionadas em um recipiente de vidro esterilizado e tampadas com um papel toalha preso com elásticos. Na sequência incubadas, sem agitação, em temperatura ambiente (no verão) e luminosidade natural durante 63 dias. Os experimentos foram realizados em triplicata, exceto para análises de álcool que foram em duplicatas.

As amostras foram retiradas no momento da sua inoculação (tempo zero) e no decorrer da fermentação, no 7º dia, 14º, 21º, 28º, 35º (apenas análise alcoólica) e no 63º dia. A coleta foi feita em três pontos diferentes (superfície, meio e fundo) do frasco com a pipeta graduada para representar o mosto, certo cuidado para que não ocorresse alterações no processo fermentativo. Medições de pH, acidez em ácido acético, °BRIX, açúcares redutores foram feitas no mesmo dia da coleta. Parte das amostras foram congeladas até no máximo 15 dias para fazer o restante das análises.

Todas as análises foram realizadas nos laboratórios de alimentos da UTFPR, campus Campo Mourão no segundo semestre de 2022.

3.1.1 Formulação de fermentado de kombucha/hibisco

Foram produzidos 4 litros de fermentado de kombucha/hibisco, com a formulação de 5 g/L de chá de hibisco (granel) em substituição ao chá verde e 70 g/L de mel de abelha *Apis Mellifera* comercial.

3.1.2 Formulação de fermentado de kombucha/abacaxi

A formulação de 4 litros de fermentado kombucha/abacaxi foi feita com 5 g/L de chá verde (granel), 70 g/L de mel de abelha *Apis Mellifera* comercial, 125 g/L de abacaxi Pérola (*Ananas comusus*), sem casca, triturado em liquidificador.

3.3 Análise do pH

O pH foi determinado utilizando o pHmetro, de acordo com o método 017/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008).

3.4 Análise de acidez total

A acidez total foi determinada conforme o método 221/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008). Foi pipetada o volume de amostra e adicionada 3 gotas de fenolftaleína e titulado com hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹ padronizada. O ponto de viragem foi em pH 8,2 e cor rósea permanente.

O conteúdo de acidez em ácido acético foi determinado pelo cálculo:

$$\text{Acidez total (g de ácido acético/100mL)} = (n * PM * M * f) / V * 10$$

Onde:

n = volume gasto na bureta da base (titulante) em mL;

PM = peso molecular do ácido acético (g mol⁻¹)

M = molaridade da base titulante (mol L⁻¹)

f = fator de correção da base (titulante)

V = volume de amostra na titulação em mL

3.5 Análise de sólidos solúveis (°BRIX)

Os sólidos solúveis das amostras foram determinados de acordo com o método 010/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008), utilizando refratômetro de bancada Abbe.

3.6 Análise do conteúdo de açúcares redutores e sacarose

O teor de açúcar redutor foi determinado segundo os métodos 038/IV (bebidas fermento-destiladas) do Instituto Adolfo Lutz (2008). A sacarose foi determinada pelos métodos 039/IV (bebidas fermento-destiladas) do IAL (2008).

A solução padrão de açúcar glicose p.a. para a titulação de Fehling foi feita no dia da análise. Foi pesado 0,500 gramas de glicose, seca anteriormente em uma estufa a vácuo regulada a 70° C em 1 hora.

Para determinação de açúcares redutores foram pipetados 10 mL da amostra de fermentado de kombucha e diluída em 10 mL de água deionizada, a qual foi neutralizada com solução de NaOH a 40% que foram transferidos para uma bureta para a realização da titulação.

No digestor de vidro do equipamento Redutec foram adicionadas as soluções de Fehling A e B (10 mL de cada), 20 mL de água deionizada e 3 gotas de indicador azul de metileno 1% formando uma solução azul, a qual foi aquecida até a ebulição e feita a titulação até o ponto de viragem, o qual foi observado pela mudança brusca de potencial elétrico e a formação de um precipitado vermelho tijolo (Fotografia 2).

Fotografia 2 – Titulação de açúcares redutores e sacarose



Fonte: Autoria própria (2023)

Para a determinação de açúcares totais (para obter-se a sacarose) foram pipetados 25 mL de amostra de fermentado de kombucha em um erlemeyer e adicionado 1 mL de ácido clorídrico concentrado a 37% e levados ao banho maria por 1 hora. A seguir a mistura foi neutralizada com NaOH 40% e diluída, completando-se o volume em balão volumétrico de em 100 mL com água deionizada.

As soluções Fehling A e B foram preparadas conforme descrito a seguir:

Solução Fehling A – foi pesado 8,65975 gramas de sulfato de cobre e transferido para um balão volumétrico de 250 mL e completado o volume com água.

Solução Fehling B – foi pesado 43,25 gramas de tartarato de sódio e potássio, dissolvido em 100 mL de água. Será adicionado 62,5 de solução do hidróxido de sódio a 20% recém preparada ou 12,5 gramas de hidróxido de sódio dissolvido em água e então completado o volume com água destilada para um balão volumétrico de 250 mL.

O conteúdo de açúcares redutores foi determinado pelo cálculo abaixo:

$$\% \text{ de açúcares redutores} = 100 * 20\text{mL} * \frac{T}{V} * P$$

Onde:

T –

título da solução de Fehling em gramas de glicose a 10 mL das soluções de Fehling;

V – *volume da amostra gasto na titulação em mL;*

20 mL – *volume da solução;*

100 mL – *volume da solução para análise de sacarose;*

100 – %;

P – *peso da amostra ou mL.*

Já o conteúdo de açúcares sacarose foi determinado pelo seguinte cálculo:

$$\% \text{ de açúcares sacarose} = [(100 * 100\text{mL} * \frac{T}{V} * P) - \% \text{redutores}] * 0,95$$

3.7 Teor de álcool

Para determinação do teor de álcool foi utilizada a técnica de refratometria. Inicialmente 200 mL de fermentado acético de kombucha (vinagre) foram neutralizados com NaOH 40% e destilado até atingir o volume de 50 mL. Coletado em balão volumétrico de 50 mL (Fotografia 3).

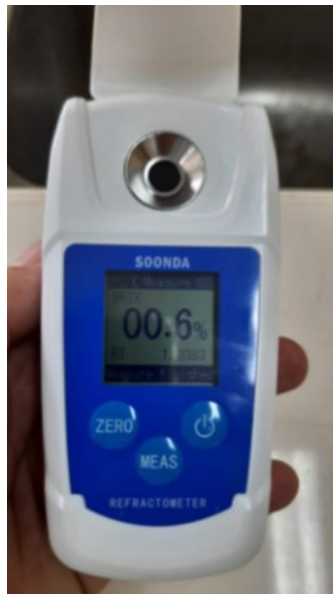
Fotografia 3 – Destilador alcoólico



Fonte: Autoria própria (2023)

Para determinar o índice de refração foi utilizado Refratômetro SOONDA, portátil, digital (Fotografia 4).

Fotografia 4 – Refratômetro SOONDA



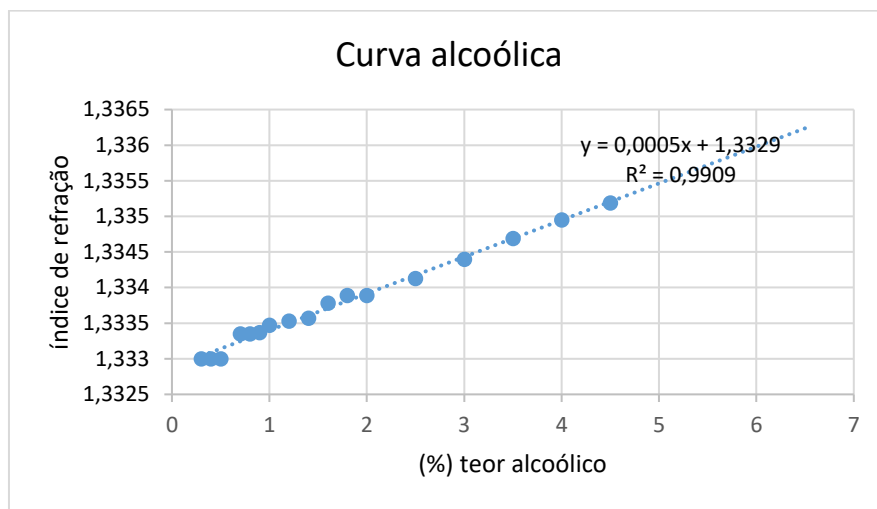
Fonte: Autoria própria (2023)

Para a construção da curva analítica de teor alcoólico (Figura 3), estabeleceu-se os padrões com etanol p.a diluído em água deionizada, em balões volumétrico de 50 mL, nas concentrações: 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1%, 1,2%, 1,4%, 1,6%, 1,8%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5%, 4% e 4,5%.

Foi determinado o índice de refração das soluções padrão de etanol (ANEXO), resultando na seguinte Equação:

$$\% \text{Etanol (v/v)} = 0,0005x + 1,3329, r^2 = 0,9909$$

Figura 3 – Curva alcoólica



Fonte: Autoria própria (2023)

Para determinar o teor alcoólico da amostra, o valor obtido com refratômetro foi substituído na equação.

3.7 Estudo estatístico

Os estudos das análises foram expressos como médias e desvio padrão. As diferenças e similaridades entre os valores de caracterização físico-química nas amostras de fermentados de kombucha foram avaliadas pela análise de componentes principais (PCA) e teste de Tukey. Para isso, foi utilizado o software Estatística 12.0 e Origin 2020b.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Um estudo prévio com diferentes tipos de chá verde (pacote, granel e sache) e adoçados com sacarose e mel foram preparados e avaliados quanto ao pH e a acidez total (Tabela 1). Também foi observado o desenvolvimento do Scoby nas diferentes composições de chá para escolha da formulação a ser adotada (Fotografia 5).

Fotografia 5 – Amostras com diferentes composições



Fonte: Autoria própria (2023)

Não foi observado diferenças quanto a acidez total e o desenvolvimento do SCOBY (Fotografia 6), o que permitiu a formulação com mel e chá a granel ser adotada como objeto de pesquisa.

Fotografia 6 – Comparação com diferentes composições



Fonte: Autoria própria (2023)

Nesse momento também foram avaliados os vinagres de kombucha de chá verde e hibisco (Fotografia 7) adquiridos de uma empresa especializada e um vinagre comercial branco, quanto a acidez o produto, pH, °Brix bruto e filtrado (Tabela 2).

Tabela 1 – Estudo prévio de formulação de fermentado de kombucha

	18 dias		26 dias		33 dias	
	Ácido acético % (g/100mL)	pH	Ácido acético % (g/100mL)	pH	Ácido acético % (g/100mL)	pH
FAHM	1,0358	2,53	1,4041	2,44	1,7264	2,38
FAHS	1,1221	2,61	1,4962	2,47	2,1867	2,41
FACVPM	0,6618	2,57	0,7481	2,45	1,0358	2,4
FACVPS	0,2877	2,93	0,6618	2,69	0,9783	2,59
FACVYM	0,6762	2,40	0,9783	2,28	1,2660	2,21
FACVYS	0,8056	2,52	1,2085	2,34	1,4962	2,20
FACVGM	1,3236	2,37	1,7839	2,34	1,8415	2,26
FACVGS	1,0502	2,75	1,6113	2,57	1,7839	2,46

FA – fermentado acético; H – hibisco; M – mel; S – sacarose; CV – chá verde; Y – Sache; P – pacote; G – granel

Fonte: Autoria própria (2023)

Fotografia 7 – Amostras de vinagre de kombucha comercial



Fonte: Autoria própria (2023)

Tabela 2 – Análise físico-química de vinagres comerciais

Produto	Ácido acético %(m/V)*	pH	Brix Bruto	Brix Filtrado
Vinagre kombucha chá verde	0,24 ± 0,02	3,14	3,4	1,8
Vinagre kombucha hibisco	1,34 ± 0,02	2,70	3,2	2,2
Vinagre comercial branco	4,04 ± 0,02	2,81	1,4	1,4

*realizado em duplicata

Fonte: Autoria própria (2023)

Embora desconhecesse o tempo de fermentação e a quantidade de matéria prima utilizada, pode-se constatar que os vinagres de kombucha não atendiam ao

valor correspondente com a embalagem, que dizia que o produto continha 4% de acidez em ácido acético, no entanto as amostras apresentavam sabor ácido.

4.1 Acidez Total

Estabelecido a formulação (Fotografia 8): fermentado acético de kombucha com hibisco (FAKH), fermentado acético de kombucha com chá verde (FAKCV) e fermentado acético de kombucha com chá verde e abacaxi (FAKA). Após 63 dias de fermentação obteve-se uma acidez em ácido acético % (m/V) para as formulações (Tabela 3): FAKH – 2,16/28º dia e 2,11/63º dia, FAKA – 1,88/28º dia e 2,05/63º dia e FAKCV – 0,96/28º dia e 1,38/63º dia, o que não permite conferir a bebida o status de vinagre, que exige um percentual mínimo de 4% de ácido acético (BRASIL, 2019). Porém os resultados se assemelham aos encontrados na Tabela 2, com valores inferiores a 4%.

Fotografia 8 – Formulações avaliadas no estudo



Fonte: Autoria própria (2023)

A formulação com abacaxi teve o maior percentual inicial de sacarose 0,53% (m/V), o que pode representar uma característica da fruta escolhida, influenciando no resultado final, em que a formulação FAKA apresentou maior acidez em ácido acético igual a 2,05%, comparada com a formulação FAKCV que foi igual a 1,38%. Pode-se tomar como exemplo o estudo de Reinhadt *et al.* (2004) que caracterizaram a fruta com 11,44% e 13,76% de sólidos solúveis, já Barbosa Jr. *et al.* (2022) encontraram com 20% de sólidos suspensos totais para a polpa de abacaxi.

No estudo de Chen e Liu (2000) ocorreu uma redução da produção de ácido acético a partir do 30º dia, tal declínio foi atribuído a falta de carbono para as bactérias que passaram a consumir o ácido acético. No entanto, neste estudo não foi observado

diminuição da produção de ácido acético até o 65º dia, ressalta-se que não foram realizados coletas entre os dias 28º e 62.

4.2 °BRIX, açúcares redutores, sacarose, acidez e pH

Na tabela 3 são apresentados os resultados de caracterização das três diferentes amostras de fermentados de kombucha.

Tabela 3 - Composição dos fermentados

	T0	T1	T2	T3	T4	TF
Acidez Total						
F % (g/100mL)	0,31 ^{eA} ± 0,01	0,52 ^{dA} ± 0,01	0,76 ^{cA} ± 0,01	1,26 ^{bA} ± 0,09	2,16 ^{aA} ± 0,03	2,11 ^{aA} ± 0,05
A °Brix bruto	6,00 ^{aA} ± 0,00	5,80 ^{bB} ± 0,00	5,50 ^{cB} ± 0,00	4,30 ^{dB} ± 0,12	4,33 ^{dB} ± 0,12	3,91 ^{dB} ± 0,12
K °Brix						
H Filtrado	6,00 ^{aA} ± 0,00	4,80 ^{cC} ± 0,00	5,23 ^{bA} ± 0,19	4,30 ^{dA} ± 0,08	4,33 ^{dA} ± 0,12	3,75 ^{eB} ± 0,12
pH	2,74 ^{aB} ± 0,01	2,70 ^{aB} ± 0,01	2,29 ^{dC} ± 0,02	2,48 ^{cC} ± 0,02	2,59 ^{bC} ± 0,01	2,02 ^{eB} ± 0,02
Sacarose*	0,00 ^{aB} ± 0,00	0,00 ^{aB} ± 0,00	0,00 ^{aC} ± 0,00	0,00 ^{aA} ± 0,00	0,00 ^{aB} ± 0,00	0,00 ^{aB} ± 0,00
Redutores*	5,74 ^{aA} ± 0,69	4,67 ^{abA} ± 0,47	4,09 ^{bA} ± 0,64	2,77 ^{cB} ± 0,19	2,00 ^{dB} ± 0,00	1,55 ^{eB} ± 0,03
Acidez Total						
F % (g/100mL)	0,18 ^{fC} ± 0,00	0,38 ^{eB} ± 0,01	0,65 ^{dB} ± 0,01	1,17 ^{cA} ± 0,03	1,88 ^{bB} ± 0,03	2,05 ^{aA} ± 0,05
A °Brix bruto	6,00 ^{aA} ± 0,00	5,00 ^{bC} ± 0,00	4,80 ^{cC} ± 0,00	2,33 ^{dC} ± 0,12	2,50 ^{dC} ± 0,00	2,50 ^{dC} ± 0,00
K °Brix						
A Filtrado	6,07 ^{aA} ± 0,09	5,00 ^{bB} ± 0,00	3,27 ^{cC} ± 0,19	1,80 ^{eB} ± 0,00	2,00 ^{dB} ± 0,00	2,00 ^{dC} ± 0,00
pH	3,24 ^{aA} ± 0,04	2,86 ^{bA} ± 0,04	2,59 ^{dA} ± 0,01	2,76 ^{cA} ± 0,02	2,94 ^{bA} ± 0,02	2,15 ^{eA} ± 0,03
Sacarose*	0,53 ^{aA} ± 0,67	0,48 ^{aA} ± 0,08	0,29 ^{bB} ± 0,05	0,00 ^{dA} ± 0,00	0,19 ^{cA} ± 0,01	0,06 ^{dA} ± 0,00
Redutores*	5,00 ^{aA} ± 0,00	3,17 ^{bB} ± 0,22	1,77 ^{cC} ± 0,05	0,76 ^{dC} ± 0,03	0,34 ^{eC} ± 0,01	0,37 ^{eC} ± 0,00
Acidez Total						
F % (g/100mL)	0,20 ^{fB} ± 0,00	0,23 ^{eC} ± 0,00	0,36 ^{dC} ± 0,03	0,61 ^{cB} ± 0,03	0,96 ^{bC} ± 0,03	1,38 ^{aB} ± 0,00
A °Brix bruto	6,07 ^{aA} ± 0,09	5,90 ^{bA} ± 0,00	5,80 ^{cA} ± 0,00	5,30 ^{dA} ± 0,00	5,00 ^{eA} ± 0,00	4,75 ^{fA} ± 0,00
K °Brix						
C Filtrado	4,60 ^{bB} ± 0,43	5,53 ^{aA} ± 0,19	4,90 ^{bB} ± 0,09	4,42 ^{cA} ± 0,12	4,42 ^{cA} ± 0,12	4,50 ^{bA} ± 0,00
V pH	2,75 ^{aB} ± 0,01	2,71 ^{aB} ± 0,03	2,40 ^{bB} ± 0,01	2,70 ^{aB} ± 0,02	2,70 ^{aB} ± 0,02	1,95 ^{cC} ± 0,01
Sacarose*	0,28 ^{bA} ± 0,00	0,25 ^{abA} ± 0,19	0,56 ^{aA} ± 0,09	0,00 ^{dA} ± 0,00	0,00 ^{dB} ± 0,00	0,08 ^{cA} ± 0,03
Redutores*	5,42 ^{aA} ± 0,59	4,67 ^{abA} ± 0,47	4,17 ^{bB} ± 0,14	3,66 ^{cA} ± 0,06	3,56 ^{cA} ± 0,31	2,34 ^{dA} ± 0,16

Nota: T1 – 0 dia, T2 – 7º dia, T3 – 14º dia, T4 – 21º dia, T5 – 28º dia, TF – 63º dia; FAKH – fermentado acético de kombucha de hibisco; FAKA – fermentado acético de kombucha de abacaxi; FAKCV – fermentado acético de kombucha de chá verde.

*%(m/V)

Fonte: Autoria própria (2023).

Médias na mesma linha, seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% para cada amostra ao longo dos tempos T0, T1, T2, T3, T4, T5 e TF.

Médias na mesma coluna, seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% entre as amostras FAKH, FAKA e FAKCV para cada instante de tempo.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 3, nota-se, que ainda pode haver resíduos de açúcares quando relacionado com o °BRIX filtrado nas amostras no tempo final de 63 dias, sendo: FAKH 3,75%(m/V), FAKA 2,00%(m/V) e FAKCV 4,50%(m/V). Isso possibilitaria aumentar a acidez do produto, contudo existe fatores que podem estar inibindo a atuação da colônia. Verificou-se uma diferença considerável de acidez entre os fermentados estudados, sobressaindo o fermentado que teve fruta em sua base, fator este que pode ter contribuído, haja vista a presença de açúcares (redutores e não redutores) no fruto.

Desde as primeiras análises foi detectado baixo teor de sacarose para os fermentados, isto é reflexo do tipo de adoçante escolhido para compor a formulação, o mel, rico em frutose e glicose (açúcares redutores). O padrão de identidade do mel estabelece que a sacarose aparente seja de no máximo 6% (BRASIL, 2000). Estudos recentes caracterizam que o percentual de sacarose está entre 2 e 3% (LIMA *et al.*, 2020)

Após 63 dias de incubação o menor percentual de açúcares redutores foi encontrado no FAKH (1,55%), e a maior presença no FAKCV (2,34%).

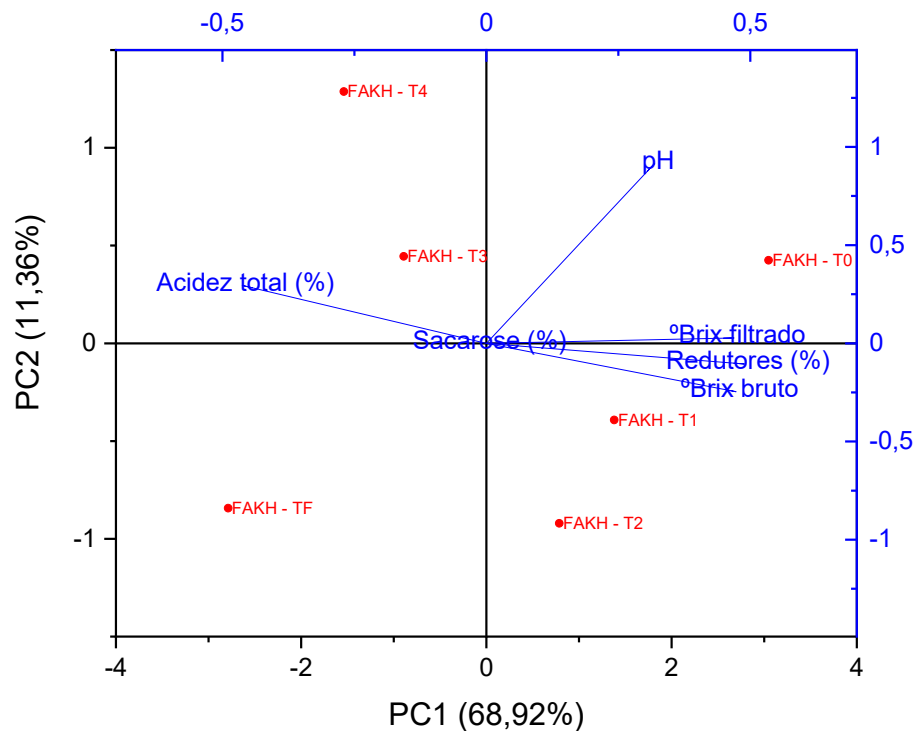
Observa-se também que o pH das amostras após 63 dias de fermentação, FAKH foi igual 2,02, FAKA foi 2,15 e FAKCV foi 1,95, os quais estiveram abaixo dos valores normalmente encontrados para kombucha com 15 dias de fermentação, demonstrando ser um produto avinagrado com fermentação prolongada. De acordo como verificado por Jabaylan *et al.* (2018) no transcorrer do tempo de fermentação ocorre o acúmulo de ácidos orgânicos e diminuição do pH.

4.2.1 Correlação entre as variáveis físico-químicas

Na Figura 4 está apresentado o resultado da aplicação da PCA (Análise dos Componentes Principais) para as análises de acidez em ácido acético (%), °Brix bruto, °Brix filtrado, pH, sacarose (%) e açúcares redutores (%) para a amostra FAKH (**fermentado acético de kombucha de hibisco**) ao longo do período de 63 dias. Nela se observa que a projeção PC1 x PC2 explicou 80,28% da variância. O fator 1 foi responsável por 68,92% da variância, sendo que as amostras nos tempos T0, T1, T2 e T3 foram projetadas com valores de PC1 positivos para o °Brix bruto, °Brix filtrado e redutores (%), enquanto as amostras nos tempos T4 e TF foram projetadas com valores de PC1 negativos para a acidez em ácido acético. O pH foi projetado no quadrante positivo de PC2, onde as amostras de tempo inicial apresentaram valores

maiores de pH e menores de acidez e amostras de tempo final aumentaram a acidez e diminuíram os valores de pH. Desta forma é possível inferir que pH e acidez total são grandezas inversamente proporcionais, o que também foi observado em relação os açúcares redutores, e que a sacarose foi igual a zero em todos os tempos analisados.

Figura 4 - Biplot da PCA para a amostra FAKH em relação aos parâmetros físico-químicos baseados no tempo de fermentação (Software Statistica 12.0 e Origen 2020b)

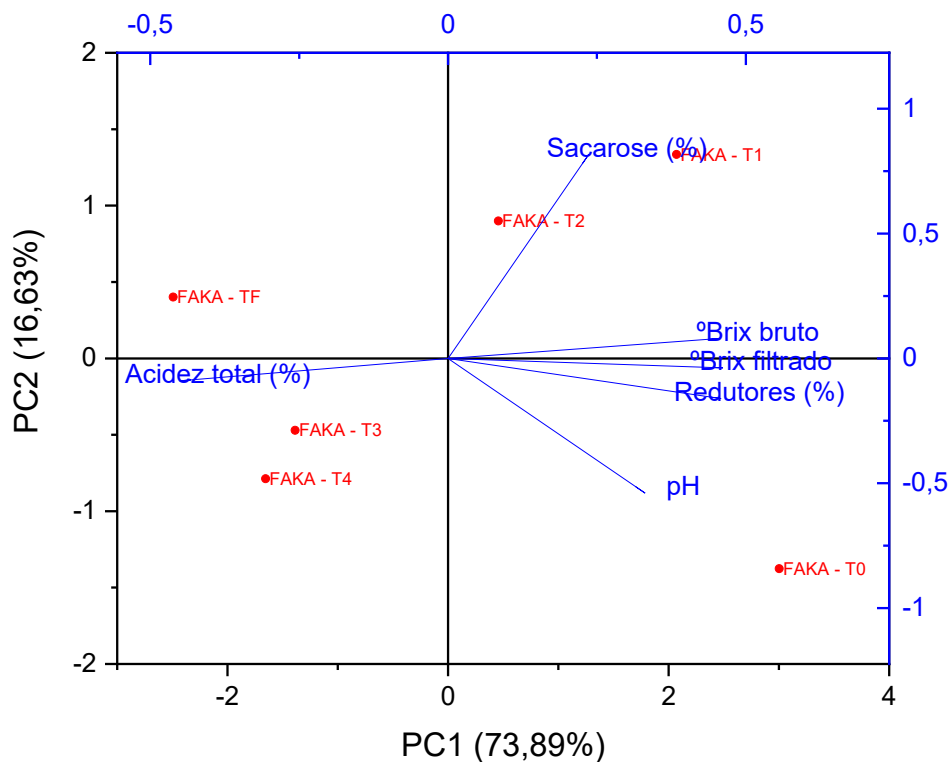


Fonte: Autoria própria (2023).

Correlacionando-se os resultados das mesmas análises físico-químicas, agora para a amostra FAKA (**fermentado acético de kombucha de abacaxi**), no mesmo tempo de análise, no Figura 5 tem-se o resultado da aplicação da PCA (Análise dos Componentes Principais) onde se observa que a projeção PC1 x PC2 explicou 90,52% da variância. O fator 1 foi responsável por 73,89% da variância, sendo que as amostras nos tempos T0, T1 e T2 foram projetadas com valores de PC1 positivos para o °Brix bruto, °Brix filtrado e açúcares redutores (%), enquanto que as amostras nos tempos T3, T4 e TF foram projetadas com valores de PC1 negativos para a acidez em ácido acético. O pH foi projetado no quadrante positivo de PC2, apenas a amostra de tempo inicial apresentou valor maior de pH e menor de acidez e amostras de tempo final aumentaram a acidez e diminuíram os valores de pH. O mesmo comportamento

da amostra FAKH, com exceção da amostra T3, que apresentou maior acidez do mesmo tempo de fermentação apresentado em FAKH e a sacarose, que foi representada no quadrante positivo de PC2 e com maiores valores nas amostras com tempo T1 e T2.

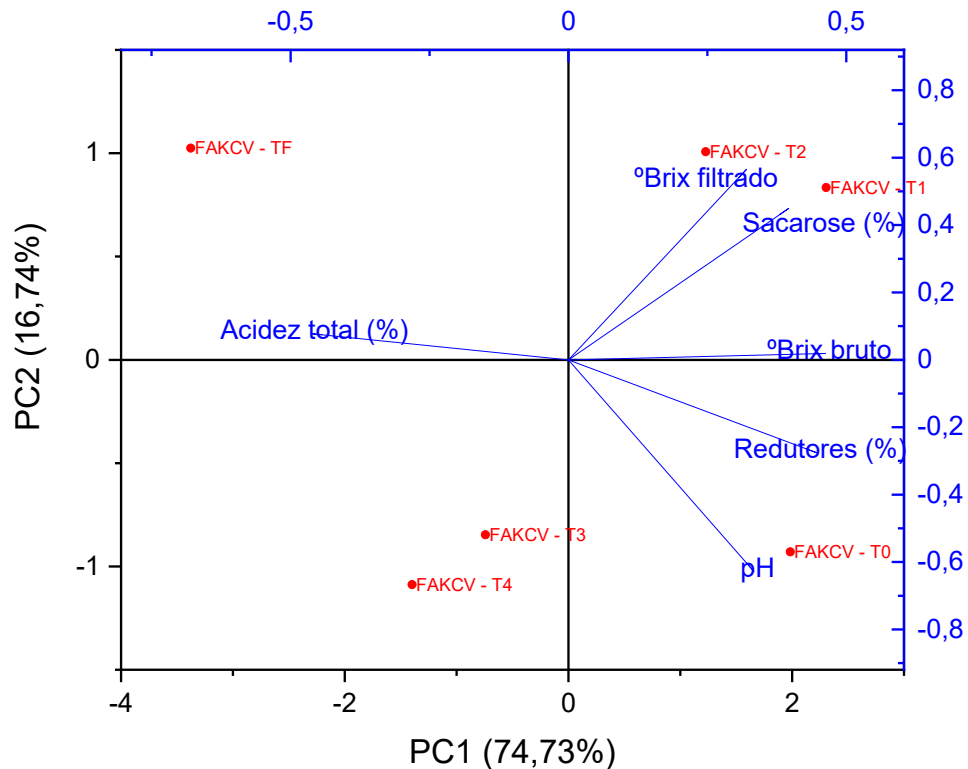
Figura 5 - Biplot da PCA para a amostra FAKA em relação aos parâmetros físico-químicos baseados no tempo de fermentação (Software Statistica 12.0 e Origen 2020b)



Fonte: Autoria própria (2023).

Por fim, correlacionando-se as variáveis físico-químicas para a amostra FAKCV (**fermentado acético de kombucha de chá verde**), a Figura 6 apresenta 91,47% de variância explicada entre PC1 e PC2. Valores de °Brix bruto e redutores estão localizados no quadrante positivo de PC1 do gráfico. As amostras T2 e T3 encontram-se no quadrante positivo de PC2 correlacionando-se positivamente. Já a amostra TF está localizada no quadrante negativo de PC1, juntamente com o resultado de acidez e inversamente proporcional ao pH, que se encontra no quadrante negativo de PC2 e tem maior valor de pH para a mostra inicial de T0.

Figura 6 - Biplot da PCA para a amostra FAKCV em relação aos parâmetros físico-químicos baseados no tempo de fermentação (Software Statistica 12.0 e Origen 2020b)



Fonte: Autoria própria (2023).

Concluindo, é possível afirmar que em ambas as amostras, nos tempos iniciais, os valores de pH, °Brix bruto, °Brix filtrado e redutores são maiores e de acidez são menores, e conforme vai passando o tempo, os valores se invertem proporcionalmente.

4.3 Análise alcoólica

A análise alcoólica se mostrou interessante, embora o teor de álcool tenha variado (Tabela 4) entre as formulações, os gráficos demonstram um comportamento semelhante em sua disposição, apresentando desde a primeira coleta a presença de álcool.

O valor residual após 63 dias foi semelhante para todas as formulações, restando um teor próximo a 0,27% de etanol por litro.

Para ilustração gráfica (Figuras 7, 8 e 9) exclui-se a última coleta, com o objetivo de obter uma linha cronológica para análise, o que permitiu aferir comparações,

De acordo com o Figura 7, a formulação de FAKA a produção de etanol chegou a 0,11 % (m/V) de álcool no dia 7º dia, tendo o pico da curva entre os dias 15 e 25, com valores de 1,59 % de álcool por litro. Essa amostra apresentou o maior valor de teor alcoólico em comparação com as outras formulações feitas com chá de hibisco e apenas chá verde sem fruta.

Tabela 3 - Teor alcóolico em fermentado acético

Tempo	Hibisco (%ETOH/L)	Abacaxi (%ETOH/L)	Chá verde (%ETOH/L)
T1	0,24 ^{dA} ± 0,00	0,11 ^{fA} ± 0,10	0,05 ^{eB} ± 0,00
T2	0,43 ^{bB} ± 0,01	1,35 ^{bA} ± 0,00	0,29 ^{dC} ± 0,00
T3	0,65 ^{aB} ± 0,03	1,59 ^{aA} ± 0,03	0,45 ^{bC} ± 0,01
T4	0,71 ^{aB} ± 0,03	0,94 ^{cA} ± 0,03	0,51 ^{aC} ± 0,01
T5	0,47 ^{bA} ± 0,02	0,42 ^{dA} ± 0,01	0,35 ^{cB} ± 0,04
TF	0,27 ^{cA} ± 0,00	0,28 ^{eA} ± 0,01	0,27 ^{dA} ± 0,01

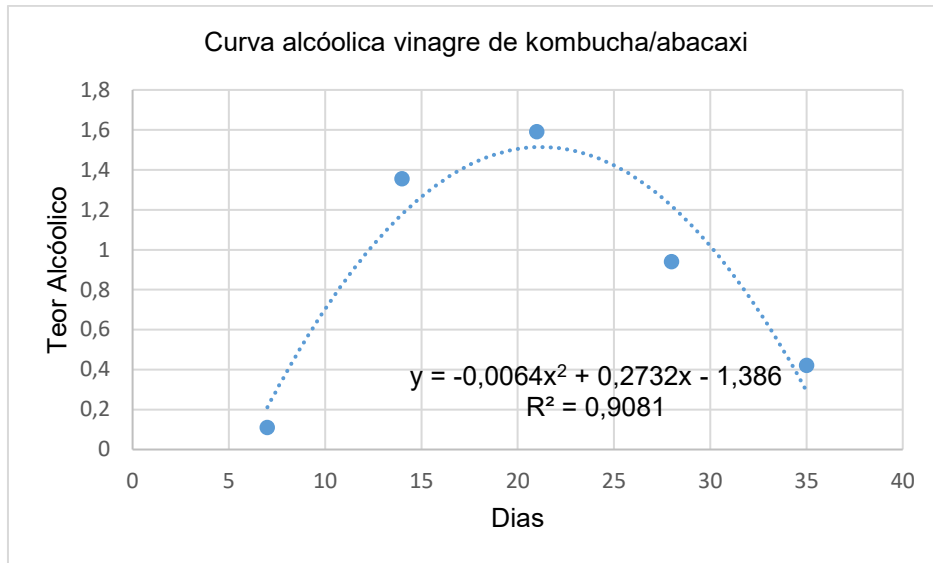
**Nota: T1 – 7º dia, T2 – 14º dia, T3 – 21º dia, T4 – 28º dia, T5 – 35º dia, TF – 63º dia.
%ETOH/L – percentual de etanol/Litro**

Fonte: Autoria própria (2023).

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% para cada amostra ao longo dos tempos T0, T1, T2, T3, T4, T5 e TF.

Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% entre as amostras FAKH, FAKA e FAKCV para cada instante de tempo.

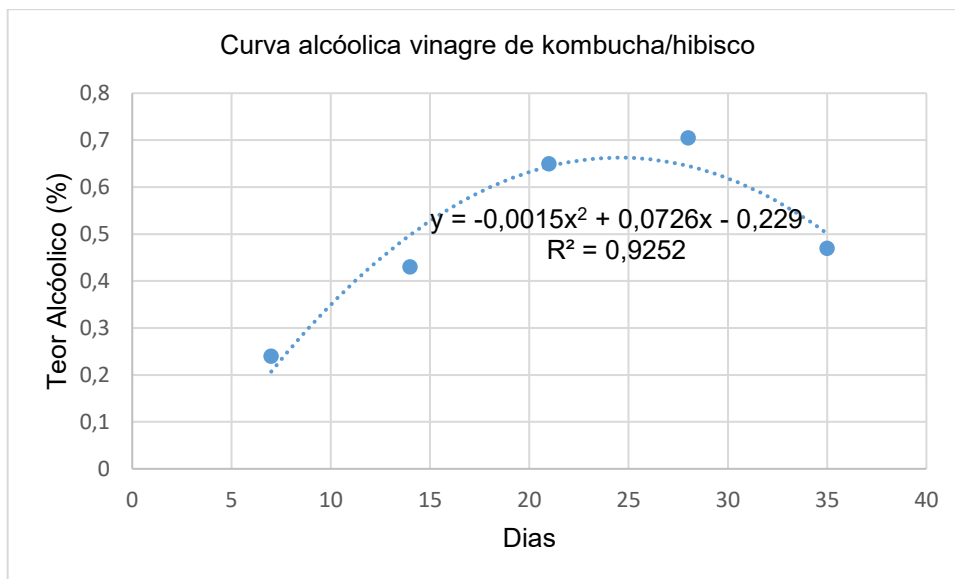
Figura 7 – Evolução alcoólica vinagre de kombucha/abacaxi



Fonte: Autoria própria (2023)

Para formulação de FAKH, Figura 8, obteve-se o maior percentual alcóolico inicial, 0,24%, tendo um pico de álcool entre 20 e 30 dias de fermentação com aproximadamente 0,7% de álcool.

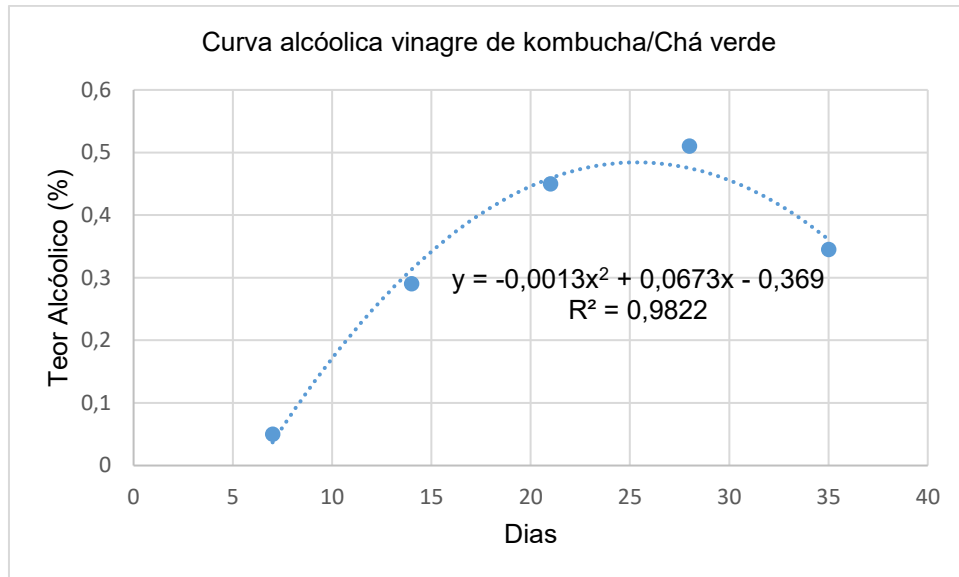
Figura 8 – Evolução alcóolica vinagre de kombucha/hibisco



Fonte: Autoria própria (2023)

Já a formulação de FAKC, Figura 9, teve os teores alcóolicos menores comparados com as demais formulações, o pico de álcool ocorreu entre 20 e 30 dias de fermentação com aproximadamente 0,5% de álcool.

Figura 9 – Evolução alcóolica vinagre de kombucha/chá verde



Fonte: Autoria própria (2023)

O comportamento das curvas é semelhante aos estudos conduzidos por Blanc (1996), embora a concentração máxima (1,34 g/L) se deu após 5 dias na formulação com 100 g/l de sacarose e 25 dias de fermentação

Logo, os valores finais alcoólicos não representam valores expressivos, atendendo parâmetros de caracterização de produtos sem álcool (BRASIL, 2018).

É importante, ressaltar que a 'bebida' kombucha é consumida geralmente entre 7 e 10 dias. Porém verifica-se pelos gráficos que entre os dias 10 e 30 foi o intervalo crescente de produção de etanol. Um estudo conduzido por Chen e Liu (2000) apresentou um comportamento semelhante das curvas obtidas neste estudo. Os autores apontaram que o pico alcoólico ocorreu no 20º dia de fermentação prolongada de kombucha.

No entanto, se uma segunda fermentação fosse realizada, F2, poderia resultar em parâmetros acentuados de álcool, bem como a saborização com frutas também poderia contribuir significativamente para um produto final alcoólico.

De acordo com a legislação o produto kombucha caracteriza como alcoólico quando atinge teores acima de 0,6% de etanol (BRASIL, 2019). Logo, a atenção deve estar nas kombuchas saborizada com frutas, a formulação com abacaxi registrou 1,35% no 14º dia, valores que permitem dizer que o produto é alcoólico. De acordo com a literatura, foi reportado uma formulação de kombucha com suco de uva apresentou um comportamento semelhante, com alta concentração de álcool no sexto dia de fermentação ($0,52 \pm 0,03$ g/mL) (AYED; ABID; HAMDÍ, 2016). Jayabalan e

Waisundara (2019) ressaltaram a importância de melhorar a redução da presença de álcool na kombucha.

5 CONCLUSÃO

Conforme apontado por muitos pesquisadores, a kombucha se apresenta de maneira complexa, não existindo uma cultura padrão que permita aferir certo grau de certeza a respeito dos produtos produzidos, contudo foi certificado que períodos longos de fermentação há um aumento na acidez, que variou de acordo com a quantidade de açúcar disponível para o mosto.

A produção de um fermentado acético de kombucha se mostrou pertinente, tendo em vista a produção de ácido acético para as três diferentes composições, com destaque a o fermentado acético de kombucha com hibisco, que apresentou maior teor em ácido acético, porém restam perguntas a serem respondidas para uma melhor compreensão dos fatores envolvidos, tais como se a quantidade de álcool e ácido acético inibem ou dificultam a cultura de se desenvolver, pois foi possível identificar que após 63 dias de fermentação ainda havia açúcares.

Outra questão de suma importância levantada no estudo, diz respeito a curva alcoólica do produto. Ao assumir uma postura de ingestão de produtos saudáveis, descartamos o consumo de bebidas alcoólicas ou derivados, e ao sugerir que a bebida kombucha ou até mesmo o vinagre de kombucha são produtos naturais, estamos descartando essa possibilidade. Os resultados dos três diferentes fermentados permitiram aferir a produção alcoólica, com o pico de produção entre os dias 20 e 30, com destaque para o fermentado com fruta, logo, deve-se adotar uma postura apreensiva para esse quesito.

Pode-se aferir também que existe uma relação inversa entre os açúcares e a produção de ácido acético, ou seja, uma maior ou menor quantidade de açúcar determinará a quantidade de ácido acético no produto final. Um estudo com diferentes formulações de açúcar possibilitaria uma melhor compreensão a esse respeito.

A substituição da sacarose por mel de abelha *Apis Mellifera* mostrou-se pertinente, sendo possível identificar já nas primeiras análises o baixo teor de sacarose, apontando para o teor maior de açúcares redutores e bom desenvolvimento do SCOBY. Como sugestão para estudos futuros, há necessidade da caracterização

do mel antes do seu uso, o que permitiria uma melhor comparação com produtos que usam sacarose em sua base.

Outra sugestão de estudo diz a respeito aos vinagres de kombuchas comerciais, o que não era objeto desse estudo, mas foi identificado um teor de acidez diferente da rotulação com valores aquém dos descritos no rótulo. Assim, sugere-se realizar estudos em produtos disponíveis no mercado.

REFERÊNCIAS

ANTÔNIO, M. *et al.* Produção e caracterização de vinagre de manga. **Jornada de Iniciação Científica e Extensão**, Instituto Federal de Tocantins. Disponível em: <https://propi.ifto.edu.br/ocs/index.php/jice/8jice/paper/viewFile/8585/3831>. Acesso em: 29 maio 2022.

AYED, L.; ABID, S. B.; HAMD, M. Development of a beverage from red grape juice ferment with the kombucha consortium, **Annals of Microbiology**, v. 67, 2016. Disponível em: <https://annalsmicrobiology.biomedcentral.com/articles/10.1007/s13213-016-1242-2>. Acesso em: 29 maio 2023.

BARBOSA JUNIOR, A. D. S. Parâmetros físico-químicos como descritores de qualidade do abacaxi perola (*Ananas comosus L. Merrill*) produzido no município de Salvaterra-Marajó/PA. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 16, n. 1, p. 3788-3814, 2022.

BARBOSA, L.; MADI, L.; TOLEDO, M. A.; REGO, R. A. As tendências da alimentação. **Brasil Food Trends 2020**, p. 39-47. São Paulo: Ital. disponível em: <https://alimentosprocessados.com.br/arquivos/Consumo-tendencias-e-inovacoes/Brasil-Food-Trends-2020.pdf>. acesso em: 29 maio 2022.

BLANC, P. J. Characterization of the tea fungus metabolites. **Biotechnology Letters**, v. 18, n. 2, p. 139–142, 1996. Disponível em: https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/44081338/Characterization_of_the_tea_fungus_metab-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1653870194&Signature=Zy6JWw0irTWOHc0wHkftfv~ChvpZGNc-8wjGsFLxTHMuzvoasXmH-y8aCem4ak-YKiN~kUPK5lu2xd~Pdql-Ut6UOuGXqihjxXruLAT88uULuAusesJN6BA3AiVICOvrF6WW6NwsupYydZd~qYM6bpFXmcKJEEX6qLWY7B6GVpqctwF1~Qbh-pWZYMQEZmEayiLm2XjF5laHEQWP1b1GIksY3IIGNQwaZuyBNgEUMfPBNZuH4UIj9iQdQrsckaAG4-CzxtwdRrYff9ONjqvUp48x~TUGAa3Y4~PWY0BE6Li-m~2PXR4AJo76XYzBtLZ1NOufILTnn14p21t1-Xyw__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA. Acesso: 29 maio 2022.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia alimentar para a população brasileira: 2ª Edição**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-brasil/publicacoes-para-promocao-a-saude/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf/view. Acesso em: 29 maio 2023.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa n. 41**. Brasília: Diário Oficial da União, 17 set. 2019. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-41-de-17-de-setembro-de-2019-216803534>. Acesso em: 27 maio 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n. 14**, Brasília: Diário Oficial da União, 8 fev. 2018. Disponível em:

https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/5809096/do1-2018-03-09-instrucao-normativa-n-14-de-8-de-fevereiro-de-2018-5809092. Acesso em 29 maio 2022.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa n. 11**. Brasília: Diário Oficial da União, 23 out. 2000. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/defesa-agropecuaria/copy_of_suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/IN11de2000.pdf. Acesso em: 29 maio 2023.

CHEN, C.; LIU, B. Y. Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 89, n. 5, p. 834–839, 2000. Disponível em: <https://research.kombuchabrewers.org/wp-content/uploads/kk-research-files/changes-in-major-components-of-tea-fungus-metabolites-during-prolonged-fermentation.pdf>. Acesso em: 29 maio 2022.

COELHO, R. M. D. *et al.* Kombucha: Review. **International Journal Of Gastronomy and Food Science**, v. 22, 2020. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez48.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S1878450X20301499?via%3Dihub>. Acesso em: 29 maio 2023.

DUFRESNE, C.; FARNWORTH, E. Tea, Kombucha, and health: A review. **Food Research International**, v. 33, n. 6, p. 409–421, 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996900000673>. Acesso em: 29 maio 2022.

GAZZOLA, R.; FRONGLAZIA, T.; CAMPOS, K. **Ampliação do consumo saudável**. Visão de futuro do agro. 2022. Disponível: <https://www.embrapa.br/visao-de-futuro/transformacoes-rapidas-no-consumo-e-na-agregacao-de-valor/sinal-e-tendencia/amplicacao-do-consumo-saudavel>. Acesso em 09 maio 2023.

JAYABALAN, R. *et al.* Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. **Food Chemistry**, v. 109, n. 1, p. 227–234, 2008. Disponível em: <https://research.kombuchabrewers.org/wp-content/uploads/kk-research-files/changes-in-free-radical-scavenging-ability-of-kombucha-tea-during-fermentation.pdf>. Acesso em: 29 maio 2022.

JAYABALAN, R. WAISAUNDARA, V. Y.; Kombucha as functional beverage. **Functional and Medicinal Beverages**, v. 11, p. 413-443, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128163979000121>. Acesso em: 29 maio 2023.

LEÃO VELOSO, C. **Sistema de produção de vinagre vinagres**. Instituto Euvaldo Lodi. 2013. Disponível em: <http://respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/Mjc2Nzc=>. Acesso em: 29 maio 2022.

LIMA, C. *et al.* **Padrões de identidade e qualidade do mel de *Apis Mellifera***: uma breve revisão. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DA AGROINDÚSTRIA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO: DO CAMPO À MESA, 2020. Disponível em: <https://ciagro.institutoidv.org/ciagro/uploads/977.pdf>. Acesso em: 29 maio 2023.

LUTZ, I. A. **Procedimentos e determinações gerais métodos físico-químicos para análise de alimentos**, 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. Disponível em: http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimento_sial_2008.pdf. Acesso em: 29 maio 2022.

MARQUES, F. P. P. *et al.* Padrões de identidade e qualidade de fermentados acéticos comerciais de frutas e vegetais. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. SUPPL. 1, p. 119–126, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/rkCQxrR4xvPZhsmHbsKQhL/?lang=pt>. Acesso em: 29 maio 2022.

MARSH, A. J. *et al.* Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives. **Trends in Food Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 113–124, 2014a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224414001058>. Acesso em: 29 maio 2022.

MARSH, A. J. *et al.* Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. **Food Microbiology**, v. 38, p. 171–178, 2014b. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2013.09.003>. Acesso em: 29 maio 2022.

MARTINS, T. FS Saúde: um verdadeiro coringa na cozinha. **Food Service News**, , 2018. Disponível em: <https://www.foodservicenews.com.br/fs-saude-um-verdadeiro-coringa-na-cozinha/#:~:text=Anualmente%2C aproximadamente 170 milhões de,preferem o vinagre de álcool.> acesso em 27 maio 2022.

NASATO, L. S. *et al.* **Pesquisando os benefícios da bebida Kombucha para a saúde**, 2019.

NETTO, C. G. Vinagre brasileiro ainda está distante do padrão de qualidade internacional. **Jornal Unicamp**, Campinas, n. 332, p. 9, 2006. Disponível em: https://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/jornalPDF/ju332pg09.pdf. acesso em 27 maio 2022.

REINHARDT, L. A. *et al.* Gradientes de qualidade em abacaxi “Pérola” em função do tamanho e do estágio de maturação do fruto. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.26, n. 3, p. 544-546, 2004. Disponível: <https://www.scielo.br/j/rbf/a/BFY5whK8hjRgTXXz59MJXnz/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 29 maio 2023.

PALUDO, N. **Desenvolvimento e caracterização de kombucha obtida a partir de chá verde e extrato de erva-mate: processo artesanal e escala laboratorial**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso – Bacharel em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/174899>. Acesso em: 27 maio 2022.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J. **Elaboração de Vinagre**. 1. ed. Bento Gonçalves: Embrapa uva e vinho, p. 31, 2002. Disponível em:

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/26037/1/Doc36.pdf>. Acesso em: 29 maio 2022.

SANTOS, J. S. DOS; NÓBREGA, G. S. DA. Kombucha: consumo, benefícios e comercialização. **Anais da 22ª Semana de mobilização científica – SEMOC**, p. 1-8, 2019. Disponível: <http://ri.ucsal.br:8080/jspui/bitstream/prefix/1383/1/Kombuch%C3%A1%3A%20consumo%2C%20benef%C3%ADcios%20e%20comercializa%C3%A7%C3%A3o%20.pdf>. Acesso em: 29 maio 2023.

SANTOS, M. J. DOS. **Kombucha**: caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Gastronomicas) , Universidade de Lisboa, p. 1–119, 2016. Disponível em: https://run.unl.pt/bitstream/10362/19346/1/Santos_2016.pdf. Acesso em: 29 maio 2022.

SANTOS, Y. M. A. *et al.* **Caracterização química de kombucha a base de chás de hibisco e preto**. In: IV ENCONTRO NACIONAL DA AGROINDÚSTRIA, 2018. Disponível em: <https://proceedings.science/enag/enag-2018/papers/caracterizacao-quimica-de-kombucha-a-base-de-chas-de-hibisco-e-preto?lang=en>. Acesso em: 20 maio 2022.

SELVARAJ, S.; GURUMURTHY, K. An Overview of probiotic health booster-kombucha tea. **Chinese Herbal Medicines**, v. 15, n. 1, p. 27-30, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1674638422001289>. Acesso em: 29 maio 2023.

TESSARO, D. *et al.* Avaliação das fermentações alcoólica e acética para produção de vinagre a partir de suco de laranja. **Acta Scientiarum - Technology**, v. 32, n. 2, p. 201–205, 2010. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/267266834_Avaliacao_das_fermentacoes_alcoolica_e_acetica_para_producao_de_vinagre_a_partir_de_suco_de_laranja. Acesso em: 29 maio 2022.

Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
 Diretoria de Graduação e Educação Profissional
Secretaria de Gestão Acadêmica
 Departamento de Biblioteca

APLICAÇÃO DO QUESTIONÁRIO PARA TRABALHOS ACADÊMICOS

1. Você tem conhecimento do trabalho que está sendo realizado na UTFPR que criará o padrão da instituição para elaboração de trabalhos acadêmicos?

	EM	G	PG	P	TA	TOTAL
Sim						
Não						

2. Se a resposta da pergunta anterior foi afirmativa, de que maneira tomou conhecimento?

	EM	G	PG	P	TA	TOTAL
Pela Internet, na página da instituição						
Pelo jornal da instituição						
Por outra maneira						

3. Na realização de trabalhos acadêmicos (relatório, TCC, dissertação, tese, etc.) você costuma consultar normas que norteiam a elaboração dos mesmos?

	EM	G	PG	P	TA	TOTAL
Sempre						
Nunca						
Às vezes						

4. Se utiliza normas para elaboração de trabalhos acadêmicos, quais costuma consultar?

	EM	G	PG	P	TA	TOTAL
ABNT						
UTFPR						
A que seu orientador passou						
A elaborada pela biblioteca e professores de nosso Campus						
De outra instituição						