



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

EDUARDA MAIA RODRIGUES

**AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE FERMENTADO ACÉTICO A PARTIR DE
KOMBUCHA VENCIDA PROVENIENTE DA PRODUÇÃO INDUSTRIAL**

João Pessoa – PB

2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

R696a Rodrigues, Eduarda Maia.

AValiação DA PRODUÇÃO DE FERMENTADO ACÉTICO A PARTIR
DE
KOMBUCHA VENCIDA PROVENIENTE DA PRODUÇÃO INDUSTRIAL /
Eduarda Maia Rodrigues. - João Pessoa, 2021.
45 f.

Orientação: Carlos Alberto Bispo de Sousa.
TCC (Graduação) - UFPB/CT.

1. kombucha. 2. vinagre. 3. fermentação. 4.
reaproveitamento. I. Sousa, Carlos Alberto Bispo de.
II. Título.

UFPB/BSCT

CDU 66.01 (043.2)

EDUARDA MAIA RODRIGUES

**AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE FERMENTADO ACÉTICO A PARTIR DE
KOMBUCHA VENCIDA PROVENIENTE DA PRODUÇÃO INDUSTRIAL**

Trabalho final do curso, submetido ao Departamento do curso de Engenharia Química, do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba, como um dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

Orientador: Profº. Drº. Carlos Alberto B. de Sousa

João Pessoa – PB

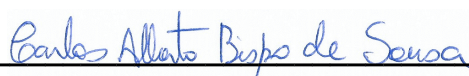
2021

EDUARDA MAIA RODRIGUES

**AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE FERMENTADO ACÉTICO A PARTIR DE
KOMBUCHA VENCIDA PROVENIENTE DA PRODUÇÃO INDUSTRIAL**

Trabalho final do curso, submetido ao Departamento do curso de Engenharia Química, do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba, como um dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Carlos Alberto Bispo de Sousa

DEQ/CT/UFPB

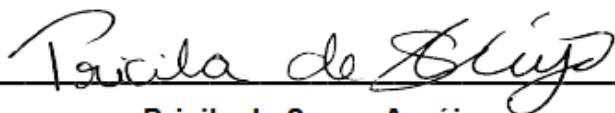
(Orientador)



Prof. Dra. Ana Flavia Santos Coelho

DEQ/CT/UFPB

(Avaliadora)



Pricila de Souza Araújo

PPGEQ/CT/UFPB

(Avaliadora)

AGRADECIMENTOS

Dizer que conquistas são atingidas unicamente pelo esforço próprio, é uma falácia. E, com muita emoção, sei que não alcancei sozinha, sei que cada pessoa abaixo teve sua contribuição para possibilitar eu chegar aqui. Não por ordem de prioridades, pois não saberia ordenar, visto que sei que todos foram necessários nessa caminhada.

Agradeço ao departamento de Engenharia Química da UFPB pela criação do curso na minha cidade natal, permitindo que fosse possível alcançar um sonho perto dos meus.

Ao professor Bispo, coordenador do LPFD que me acolheu nesta reta final e me deu o meio para alcançar meu diploma.

A Nayara e equipe BAUÁ que me proporcionaram, em meio a pandemia viver um pouco dos conhecimentos adquiridos ao longo da graduação imergindo na minha paixão: a fermentação de alimentos.

Agradeço a meu esposo, Célio, pelo apoio constante em todas as minhas ideias, mesmo que soassem loucas, força em momentos difíceis e amor incondicional.

A minha família. Meus pais, Carlos e Rita, pelo desejo de me ver formada e insistir muito por isso me impulsionando até o fim. A minha irmã Gabi por ser minha confidente e me escutar sempre nos momentos de necessidade e me motivar constantemente.

A minha tia Dea por me acolher sempre, em tudo, e me motivar incessantemente.

Aos amigos adquiridos neste curso, Rinaldo e Manoel, que nesta reta final juntos desenvolvemos resiliência, nos impulsionando conseguir chegar até aqui. A Pricila que foi uma parceira de estudos e se tornou uma amiga muito querida, que vou levar sempre comigo. A todos os colegas que fiz no curso até aqui, passar por vocês me adicionou de diversas formas: pessoal e profissional, e espero poder retribuir.

As minhas amigas, Anny, Isabella, Juliane, Rayssa e Luiza por serem verdadeiras companheiras fora do curso.

Aos professores que agregaram a minha formação e que com certeza deixarão marcas positivas para toda a vida.

Agradeço a todos que não mencionei aqui, mas que de certa forma passaram pela minha vida e agregaram pessoal e profissionalmente.

RESUMO

A Kombucha é uma bebida fermentada a partir do chá açucarado da *Camelia sinensis* com a presença de uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras, conhecida por SCOBY. Como todas as produções em larga escala geram resíduos na produção da kombucha há certo desperdício visto que quando os lotes atingem a data de expiração nem sempre todos são comercializados, restando assim, algumas garrafas vencidas que seriam descartadas sem fins rentáveis ou sustentáveis. No presente trabalho foi avaliado a possibilidade de transformar a bebida vencida, que retorna do mercado, em um fermentado acético a partir de uma nova fermentação, com adição de açúcar e inóculo, com o objetivo de se elevar a acidez e obter um produto similar ao vinagre de uso culinário. Os ensaios foram efetuados segundo um planejamento fatorial 2^2 , variando-se a quantidade de açúcar e inóculo. O melhor resultado obtido foi aquele onde houve maior adição de açúcar, atingindo 2,27% de acidez. Este resultado indica que houve a acidificação do mosto, podendo ser ponto de partida para futuros trabalhos. Concluiu-se que a variável que mais influenciou foi a adição de açúcar e que mesmo que, mesmo que não se tenha chegado ao teor de 4% desejado, este valor foi promissor, pois o teor provavelmente aumentaria mais se a fermentação fosse conduzida por mais tempo. Portanto, o aproveitamento da kombucha vencida para obtenção de fermentado acético mostrou-se viável.

Palavras-chave: kombucha, fermentação, vinagre, *Camélia sinensis*.

ABSTRACT

Kombucha is a beverage fermented from a sugary tea of *Camelia sinensis* with the presence of a symbiotic culture of bacteria and yeast, commonly known as SCOBY. As all large-scale productions generate residues in the production of kombucha, there is some waste since when the batches reach their expiration date, not all of them are always sold, leaving some expired bottles that would be discarded without profitable or sustainable purposes. The present work evaluated the possibility of transforming the expired beverage that returns from the market into an acetic fermented beverage by fermenting again, with the addition of sugar and new inoculum, in order to increase the acidity and obtain a product close to the vinegar of culinary use, with 4% acidity, as indicated by Brazilian legislation. The tests were carried out with different proportions on a 2^2 factorial design and the most significant result was from batch 4, which had the most addition of sugar, with 2,27% of acidity. This result indicated that the test was acidified and can be the starting point for future works. In conclusion, the variable that most influenced the acidity was the addition of sugar and even though it did not reach the percentage of 4% desired, can be assumed that it was despite the short fermentation period. Still, it's possible to optimize this process and enable the transformation of kombucha into vinegar.

Key-words: kombucha, fermentation, vinegar, *Camelia sinensis*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Principal atividade metabólica no chá de kombucha	16
Figura 2 – pH-metro com visor digital	20
Figura 3 – Refratômetro portátil	22
Figura 4 – Vasos 500mL teste de produção do fermentado acético	27
Figura 5 – Biorreatores de 500mL usados no planejamento fatorial	30
Figura 6 – Acidez total – Comparação: Início Vs. fim da fermentação.....	34
Figura 7 – pH – Comparação: Início Vs. fim da fermentação	34
Figura 8 – SST – Comparação: Início Vs. fim da fermentação	35
Figura 9 – Desenvolvimento do scoby na fermentação.....	36
Figura 10 – Gráfico de Pareto.....	38
Figura 11 – Superfície de resposta para acidez	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Níveis do planejamento.....	28
Tabela 2 – Matriz do planejamento.....	28
Tabela 3 – Matriz do planejamento desenvolvida	29
Tabela 4 – Parâmetros cinéticos da kombucha a ser estuda (marca: Bauá)	31
Tabela 5 – Teste preliminar 1	32
Tabela 6 – Acidez – início do experimento.....	33
Tabela 7 – Concentração de açúcares redutores totais	35
Tabela 8 – Peso do scoby por ensaio	37
Tabela 9 – Análise de variância.....	39

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS.....	12
2.1. GERAL	12
2.2. ESPECÍFICOS	12
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	13
3.1. KOMBUCHA	13
3.2. PRODUÇÃO DA KOMBUCHA.....	15
3.3. SABORIZAÇÃO DA KOMBUCHA	17
3.4. COMPOSIÇÃO DA KOMBUCHA.....	18
3.5. PARÂMETROS DE PROCESSO.....	19
3.5.1. Acidez	19
3.5.1.1. pH	20
3.5.2. Açúcares Totais	20
3.5.2.1. Brix.....	22
3.6. VINAGRE	23
4. MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1. HOMOGENEIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE KOMBUCHA VENCIDA	26
4.2. ENSAIO PRELIMINAR.....	26
4.3. AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE AÇÚCAR E INÓCULO.....	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1. RESULTADOS DO ENSAIO PRELIMINAR.....	32
5.2. AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE AÇÚCAR E INÓCULO.....	32
5.2.1. Análise estatística	38
6. CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, muito se fala em Química Verde e meios de produção limpa e sustentável nas indústrias de transformação. Um dos objetivos principais da Química Verde é promover e adicionar à fabricação industrial, meios de se produzir sem que se agride o meio ambiente, ou trazer alternativas para não degradar ou gerar resíduos exorbitantes maléficos à natureza. Dentre as técnicas recomendadas para isso, destacam-se as que se referem ao reaproveitamento de materiais para a elaboração de novos produtos.

A prática de reaproveitamento pode ser lucrativa para empresas, pois o que é resíduo para uma indústria pode servir de insumos e matéria-prima para outra, reduzindo a utilização de matérias-primas, evitando poluição ambiental ocasionada por descarte inadequado e reduzindo etapas de processos.

A Bauá Fermentados é uma indústria localizada em Cabedelo na Paraíba, cujo foco atual é a produção da bebida fermentada do chá da *Camellia sinensis*, conhecida como kombucha.

Como em toda indústria, em seu processo de fabricação são gerados alguns resíduos que necessitam de tratamento adequado para descarte. Além disso, como a bebida não é pasteurizada e sem adição de conservantes, seu prazo de validade é curto e, portanto, pode vencer antes da venda total do lote, representando um prejuízo para a empresa, que não pode destinar produtos fora do padrão de qualidade ou com vida de prateleira expirada para o mercado consumidor.

Em busca de se obter um processo de produção o mais sustentável e rentável possível, necessita-se desenvolver estudos que avaliem a possibilidade de reaproveitamento dos resíduos.

Na produção industrial de kombucha especificamente, muitos dos resíduos podem ser aproveitados de forma a se obter novos produtos. Os resíduos do chá, que são basicamente folhas trituradas e molhadas, é, portanto, um resíduo orgânico e compostável. O SCOBY (cultura simbiótica de leveduras e bactérias, responsável pela fermentação da bebida) cresce a cada lote, de forma que não se faz necessário utilizá-lo todo, e este, também pode ser destinado a diversos fins, como produção de couro

vegetal, para fins têxteis ou ainda para fins alimentícios, como petisco, visto que sua composição é basicamente uma grande camada celulósica cheia de probióticos, sendo seguro para consumo humano.

Porém, o resíduo que mais chama a atenção é a kombucha que os comerciantes retornam para as empresas após passar a validade, o qual representa grande prejuízo. Esta bebida, por conter a presença de microrganismos vivos, pode ficar muito ácida e desagradável para o consumo com o passar da vida de prateleira, perdendo qualidade.

Uma das alternativas de reaproveitamento da kombucha vencida, seria utilizá-la em um novo processo de fabricação para obtenção de um fermentado acético, com características semelhantes ao vinagre, para ser utilizado em diversas receitas culinárias ou elaboração de produtos em conserva, agregando valor a estes resíduos, e obtendo-se um segundo produto, amenizando o desperdício na indústria de kombucha e representando novas oportunidades de ganho.

Portanto este trabalho de pesquisa pretende avaliar a possibilidade de reaproveitar a kombucha fora da validade (passada) na elaboração de fermentado acético.

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL

- Avaliar o aproveitamento de kombucha vencida na elaboração de fermentado acético.

2.2. ESPECÍFICOS

- Fazer a caracterização físico-química do lote de kombucha vencida.
- Realizar ensaios preliminares para estabelecimento do processo de reaproveitamento da kombucha vencida.
- Estudar a influência da quantidade de inóculo e quantidade de açúcar na refermentação da kombucha.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1.KOMBUCHA

Apesar de ter origem milenar no oriente, a kombucha vem ganhando espaço no mercado ocidental nos últimos anos. A legislação brasileira IN MAPA (Instrução Normativa, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) N °41, de 17 de setembro de 2019, define kombucha como uma bebida fermentada obtida através da respiração aeróbia e fermentação anaeróbia do mosto obtido pela infusão ou extrato da *Camelia sinensis* e açúcares por cultura simbiótica de bactérias e leveduras microbiologicamente ativas (tradução livre para SCOBY, sigla inglês).

Ainda de acordo com a IN MAPA N°41 (2019), os ingredientes obrigatórios para a bebida ser classificada com kombucha são: água potável, infusão ou extrato aquoso da *Camelia sinensis*, açúcares e SCOBY. É autorizado o uso de processos tecnológicos como pasteurização, filtração, entre outros e é possível adição de ingredientes que conferem sabor como frutas, vegetais e especiarias. Os parâmetros analíticos da bebida são: pH entre 2,5 e 4,2; graduação alcóolica (%v/v) da kombucha sem álcool até 0,5; acidez volátil (mEq/L) de 30 a 130.

Segundo Crum e LaGory (2016), a lenda mais antiga da origem da bebida, é encontrada em Manchúria, na China por volta 220 a.C., durante a dinastia Qin, onde muitos consideravam as referências ao “chá da imortalidade” ou “tsche divino” devido suas propriedades desintoxicantes e energizantes. Porém as especificidades deste conto podem não ser totalmente verdadeiras, tendo em vista que Tsche, tradução livre do chinês se refere a um cogumelo reishi, então é possível que suas referências sejam para o cogumelo em si, e não a bebida.

De acordo com Jayabalan *et al.* (2014) um médico conhecido como Kombu levou o fungo presente no chá, que hoje conhecemos como SCOBY, para o Japão, em 414 d.C. e o usou para curar problemas digestórios no imperador Inkyo e com a expansão das rotas de trocas, a kombucha (que originalmente nas rotas de trocas era conhecida como “Mo-Gu”) chegou a Rússia primeiro, depois no Leste da Europa pela Alemanha, por volta do início do século 20.

O sabor característico é ácido, possuindo notas levemente adocicadas. Além disso, por ser naturalmente gaseificada, remete ao sabor de espumante e muitas vezes é comparada a “refrigerante natural” devido a semelhança sensorial. Ao longo dos últimos anos sua composição vem sendo cada vez mais estudada e é possível encontrar diversos estudos falando dos benefícios do produto, como o compilado selecionado por Mendonça et al (2020), que fez análise de 18 referências bibliográficas sobre os benefícios da bebida e chegaram ao resultado de 15 artigos que apresentaram conclusões a respeito das atividades antioxidantes da bebida e outras 7 pesquisas demonstrando o efeito antibacteriano. Além disso, alguns desses estudos fizeram comparativos entre o chá sem fermentação e concluíram que fermentação agrega essas propriedades antioxidantes.

Segundo Bruschi *et al.* (2018) há muitas evidências que a microbiota intestinal desempenha importante papel em nossa saúde e na proteção do organismo contra infecções e também algumas doenças. Sendo assim, a manipulação de comunidades microbianas no intestino poderia ser uma abordagem no tratamento de doenças como obesidade e o chá de kombucha seria uma alternativa de baixo custo por apresentar diversos tipos de microrganismos probióticos e propriedades antioxidantes.

De acordo com a *Kombucha Brewers International (KBI)*, na edição da revista *Symbiosis* publicada em 2020, segundo Amanda Carroll, KBI AUS, o mercado de kombucha na Austrália espera um crescimento de 26,17% até 2027 (atualmente são 60 marcas registradas no país). No Canadá já existem 125 marcas registradas da bebida, segundo Beth Allisson, secretária da KBI Canadá. Na Europa estima-se que haja um crescimento na produção de kombucha de 35-40% por ano até 2023, de acordo com Krister Hall, diretora da KBI Europa.

Devido as diferenças culturais entre os países há uma variação da procura, percebe-se a Inglaterra como mais madura no mercado com maior distribuição. Na América Latina, muitos países estão desenvolvendo a área e o Brasil já registra mais de 200 marcas, o segundo maior número mundial, sendo o primeiro lugar ocupado pelos Estados Unidos, de acordo com a publicação da KBI, escrita por Jamie Carral, representante da KBI no México.

Griffin (2020), em um artigo para a *Symbiosis*, sobre as tendências do mercado de kombucha mundial, conclui que a explosão de crescimento do mercado nos últimos cinco anos se dá devido ao investimento baixo para iniciar no ramo, podendo muitas vezes ser iniciado na cozinha de casa. Além disso, com mais pessoas entendendo os benefícios da bebida, a demanda irá aumentar.

3.2. PRODUÇÃO DA KOMBUCHA

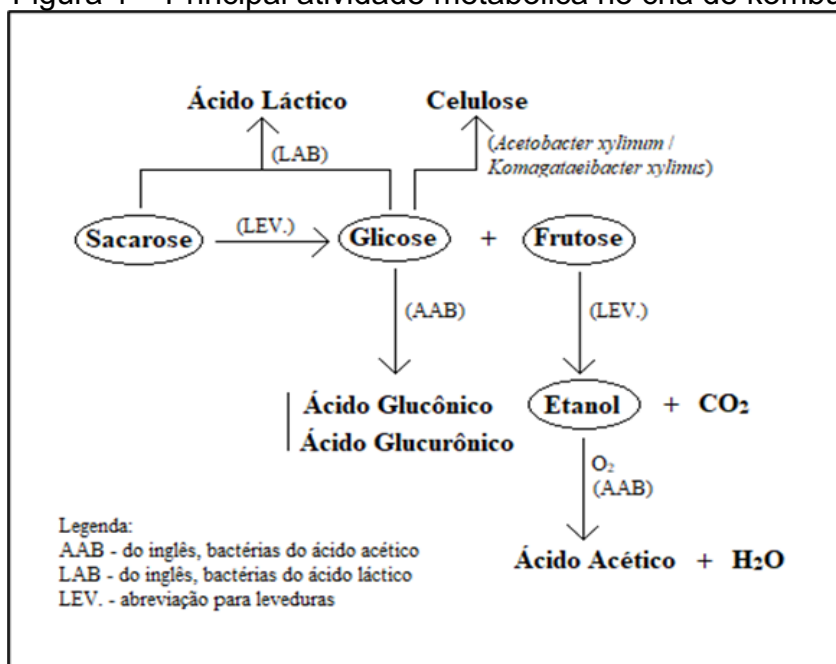
A produção da kombucha é feita em duas etapas: A primeira fermentação, na qual se produz a kombucha tradicional e a segunda etapa, na qual se produz a kombucha saborizada e carbonatada, sendo esta opcional.

Na primeira fermentação o SCOBY é inoculado no tanque previamente esterilizado, contendo o chá líquido da *Camelia sinensis*, conhecido comercialmente como chá verde, preto, branco (ou ainda, uma mistura deles, dependendo do produtor) e adoçado com sacarose, além disso adiciona-se mosto de fermentações anteriores, normalmente conhecido como “*starter*” para impulsionar o início da fermentação, segundo Crum e LaGory (2016).

Nesta etapa, ilustrada na Figura 1, o processo é aeróbio, no qual as leveduras presentes no inóculo quebram a molécula de sacarose e a transformam em glicose e frutose. Em seguida, bactérias acéticas transformam a glicose em ácidos glucônico e glucurônico; bactérias lácteas transformam a frutose em etanol e posteriormente em ácido acético e há produção de celulose.

Villarreal-Soto *et al.*, (2018), avaliaram diversos estudos e categorizaram as condições testadas e concluíram que a etapa da primeira fermentação varia de 10-15 dias, havendo variações de acordo com as condições de temperatura, ventilação, agitação (normalmente, o processo industrial ocorre sem presença de agitador), tamanho do tanque e volume, tamanho do SCOBY e quantidade de *starter* adicionado. Segundo Loncar *et al.* (2018), durante a fermentação a acidez vai aumentando e ela deve ser terminada após atingir pH desejado (normalmente, pré-determinado, em torno de 3.8 a 3.7).

Figura 1 – Principal atividade metabólica no chá de kombucha



Fonte: SANTOS, N.B. Apresentação de capacitação BAUÁ, 2021.

O SCOBY é removido após verificação das condições esperadas, ou seja, pH em torno de 3,8 como mencionado anteriormente, e o °Brix ou percentual de açúcares presentes é variável de acordo com o produtor e potencial público-alvo, visto que para alguns, é mais atraente sabor mais adocicado e para outros não. Por fim, a kombucha está pronta para ser envasada. Ainda é importante ressaltar que a presença do SCOBY irá potencializar a fermentação e com isto, a acidez pode reduzir ainda mais, com potencial de chegar a um sabor vinagrado, que não é desejado.

A kombucha é uma bebida considerada “viva” e, por isso, mesmo que se remova a cultura simbiótica celulósica, ainda estarão presentes bactérias e leveduras não possíveis de serem detectadas a olho nu, que conferem caráter probiótico e a presença dos mesmos é fundamental para a produção de gás no envase (Chu e Chen, 2006).

Ao fim desta etapa, a kombucha já deve estar com o sabor açucarado não tão evidente e deve estar levemente ácida, de forma que o aspecto sensorial seja agradável ao paladar e, portanto, a bebida está pronta para ser envasada. Porém, antes do envase, é possível adicionar sabores adicionais para complementar a experiência do consumidor além disso trazer outras fontes de vitaminas e minerais à bebida. Com isso, promove-se

uma segunda fermentação, também conhecida como etapa de saborização (Crum e LaGory, 2016).

3.3. SABORIZAÇÃO DA KOMBUCHA

Com suas propriedades nutricionais e crescente publicação de estudos relatando os benefícios do consumo da kombucha para a saúde, a procura pela bebida vem aumentando, e por consequência, o mercado vem buscando oferecer variedade de sabor para alcançar os mais diversos públicos.

Kim *et al.* (2020) catalogou 201 kombuchas produzidas e comercializadas nos Estados Unidos da América, e ressaltou a presença de sabores adicionais a elas. Dessas 201, quase metade, somando um total de 91 tipos, contavam com dois tipos de saborizantes em sua composição. O segundo maior número foi 48, com três tipos de saborizantes, e o terceiro maior número, continha ao menos adição de um saborizante.

Assim sendo, a maior parte das kombuchas encontradas são flavorizadas e com isto, empresas de kombucha ao entrar no mercado, normalmente estudam sabores ou misturas de sabores atraentes a região a qual ela será comercializada.

Na produção da bebida, como mencionado anteriormente, a etapa de saborização é conhecida como uma segunda fermentação, pois a bebida ainda está muito ativa, mesmo que se retire o SCOBY gerado na primeira fermentação.

Então ao adicionar o sabor, o mosto continua a produzir ácidos orgânicos. Na adição, se for feito com ervas ou condimentos, é provável que o teor de acidez seja mais elevado que aquele comparado a saborização com frutas, isto porque, na adição de frutas, diferente de ervas e condimentos, há maior teor de sacarose, servindo de alimento para as leveduras ainda presentes na bebida. Em escala industrial, os resíduos gerados nesta etapa são descartados sem reutilização, assim foi observado em experiência *in loco* na Indústria de produção de fermentados Bauá.

3.4. COMPOSIÇÃO DA KOMBUCHA

De acordo com Villarreal-Soto *et al.* (2018), a composição da kombucha e sua concentração de metabólitos são dependentes de diversos fatores: fonte do inóculo, açúcar, concentração do chá, tempo de fermentação e temperatura usada, e qualquer uma dessas mudanças pode afetar no produto final.

Em geral, os principais componentes encontrados na bebida são ácidos orgânicos (ácido acético, ácido glucônico, ácido glucurônico, ácido láctico), vitaminas (B1, B2, B6, B12, C), etanol, proteínas, minerais (Cobre, Ferro, Zinco, Manganês, Níquel) e ânions (F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_3^- , HPO_4^- , SO_4^-) (Villarreal-Soto *et al.*, 2018; Jayabalan *et al.*, 2014).

Durante a primeira fermentação parâmetros como pH, ácidos totais, açúcares totais, flavonoides e/ou compostos fenólicos sofrem alterações na medida que há a quebra das moléculas. O metabolismo da reação pode ser diferente em cada fermentação e, portanto, as concentrações finais desses parâmetros podem variar de uma produção para outra (Jayabalan *et al.*, 2014).

Villarreal-Soto *et al.* (2018) descreveu a composição microbiológica do consórcio da kombucha identificando as principais espécies encontradas. Das leveduras presentes na cultura simbiótica, há um destaque para a *Saccharomyces cerevisiae* devido sua alta eficiência em fermentar açúcar em etanol, no entanto, considera-se que no SCOBY estas espécies estejam em plena interação com as do tipo não-*Saccharomyces* que proporcionam diversos benefícios como aroma e sabor. Porém, diversos estudos relatam que a espécie predominantemente encontrada é a *Zygosaccharomyces*.

Além das leveduras, o SCOBY é composto por bactérias e a espécie dominante encontrada é a do tipo AAB (do inglês, bactéria do ácido acético) que produzem ácido acético usando etanol (normalmente gerado pela levedura na quebra da frutose). Essas bactérias requerem oxigênio para a produção do ácido orgânico e por isso, o processo de fermentação da kombucha é feito aerobicamente (Villarreal-Soto *et al.*, 2018).

Durante a primeira fermentação, é observado que o SCOBY vai criando subcamadas celulósicas (também conhecidas como “baby SCOBY”) que algumas espécies de bactérias (do tipo *Aerobacter*, *Acetobacter* entre outras) sintetizam durante sua atividade (Schroeder, 2019).

3.5. PARÂMETROS DE PROCESSO

Diversos são os fatores que influenciam a fermentação, tais como: temperatura, pH, quantidade de oxigênio, CO₂ dissolvido e sistema operacional de produção influenciam diretamente na qualidade do produto final. O tempo de fermentação do chá de kombucha pode variar de 7 a 60 dias, porém, segundo Chu *et al.* 2006, bons resultados são obtidos numa média de 15 dias. Quanto mais prolongada a fermentação, mais ácido se torna o mosto, similar à vinagres.

3.5.1. Acidez

O parâmetro de acidez em bebidas fermentadas indicará quão ácida a bebida está e na fermentação do chá de kombucha este é um parâmetro importante a ser controlado pois se a amostra estiver muito ácida pode se tornar um vinagre e ficará desagradável ao paladar (Oliveira *et. al*, 2012).

Em termos técnicos, este parâmetro informa a concentração de íons de hidrogênio na solução. É possível obter o teor de acidez total através da técnica de titulação de amostras preparadas com solução de hidróxido de sódio padronizada e indicador fenolftaleína (IAL, 2008).

Os ácidos orgânicos que são originados na fermentação alcoólica são indicados no teor de acidez fixa. Este pode ser medido após a obtenção de acidez total, aplicando as amostras em banho maria e fazer novamente a titulação.

De acordo com o IN MAPA N° 14 (2018), a acidez volátil da bebida deve ter entre 30 e 130 mEq/L, em que mEq define-se pelo número de miliequivalentes (mEq) de soluto contido em 1 mililitro de solução.

Para obter a acidez volátil (teor de ácidos voláteis presentes na bebida) é possível através da relação a seguir (Equação 1):

$$A_v = A_t - A_f \quad (1)$$

Em que: A_v: acidez volátil (%); A_t: acidez total (%); A_f: acidez fixa (%).

3.5.1.1. pH

O pH é a unidade que descreve o grau de acidez ou de alcalinidade de uma substância, a escala varia de 0 a 14 e quando está abaixo de 7, considera-se ácido e acima disso, básico. Quando o pH é igual 7 é considerado neutro. Muitos estudos indicam este parâmetro como um dos mais importantes influenciadores na fermentação do chá de kombucha, e o menor valor não deve passar de 3, que é o pH do trato digestório (Loncar *et al.*, 2006).

Para medição de pH é possível ser feita através de um medidor eletrônico como mostrado na Figura 2. É um equipamento de uso simples, onde a ponta inferior é mergulhada na amostra que deseja ser analisada, e o visor automaticamente indica o pH e temperatura daquela solução.

Figura 2 – pH-metro com visor digital



Fonte: AKSCO, 20211.

3.5.2. Açúcares Totais

O teor de açúcares totais é determinado ao se somar os açúcares redutores e os não redutores. Açúcares com grupos carbonílico e cetônico livres que na presença de agentes oxidantes em soluções alcalinas são capazes de oxidação são conhecidos por

açúcares redutores (AR) (Dornemann, 2016). Eles podem ser monossacarídeos, como glicose e frutose ou dissacarídeos, como maltose e lactose.

Os não-redutores (ANR) precisam sofrer hidrólise para ser possível ocorrer a oxidação, como por exemplo a sacarose. Normalmente se utiliza ácidos fortes ou enzimas para ser possível sua quebra (Dornemann, 2016).

É importante ressaltar que os diferentes tipos de carboidratos são consumidos por diferentes tipos de leveduras e portanto, na fermentação, é necessário saber se o carboidrato utilizado será consumido pela levedura presente no meio. Por exemplo, leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* consomem mono-, di- e trissacarídeos, porém, oligossacarídeos elas não são capazes de quebrar. (White e Zainasheff, 2010).

Existem diversas formas de se obter o teor de AR, como por exemplo o refratômetro, normalmente utilizado com escala °Brix. Porém, o grau Brix não identifica só os açúcares presentes na amostra, mas também os ácidos orgânicos (a exemplo do ácido acético presentes nas bebidas fermentadas acéticas) e com isso, não é utilizado quando se necessita de um parâmetro mais preciso (Dornemann, 2016).

A espectrofotometria é outra técnica muito comumente utilizada para determinar os açúcares na amostra analisada e é feita através do equipamento que compara a intensidade da luz transmitida através da amostra, com a intensidade da luz absorvida por ela. (Dornemann, 2016).

A cromatografia também é uma opção para avaliar o teor de AR, e o equipamento tem como base uma fase móvel e uma fase fixa, onde a móvel, que é normalmente a amostra, flui pela fixa, um soluto pré-determinado de acordo com a afinidade das moléculas, onde alguns átomos irão se acoplando, ou não, ao passar pela fase estacionária. O leitor do cromatógrafo indicará então onde houve interação (Dornemann, 2016).

Independente da escolha do método de análise, é muito comum em fabricação de fermentados acéticos a utilização do refratômetro, com escala Brix, visto que é uma escala bem difundida nesta área de produção.

3.5.2.1. Brix

O grau Brix é uma escala de índice de refração de uma solução, ou seja, o quanto a luz desvia em relação ao desvio provocado por água destilada, e esta é uma das escalas mais utilizadas na indústria. Em outras palavras, ela medirá a quantidade de sólidos solúveis presentes no mosto e ao indicar 1 grau Brix (1°Bx ou 1%) significa dizer que 1g de sólido do carboidrato utilizado está solubilizado em 100g de mosto.

Atualmente, sua medição é comumente feita com um equipamento analógico medidor com escala brix (também conhecido como refratômetro, podendo haver mais de uma escala para leitura no mesmo equipamento) como mostrado na Figura 3. Para usar este equipamento, se insere a amostra com auxílio de uma pipeta para gotear no vidro (na Figura 3, percebe-se sua cor azul na ponta esquerda), e a resposta é vista instantaneamente pela peça ocular (lente, na direita da Figura 3).

Figura 3 – Refratômetro portátil



Fonte: Loja IMPAC, 2021.

3.5.3. Álcool

A designação normalmente utilizada para determinar o teor alcoólico em bebidas fermentas, é a ABV (*alcohol by volume*, tradução livre: álcool por volume). É possível determinar este teor através de técnicas como destilação, cromatografia e NIR (*Near Infrared*, tradução livre: infravermelho próximo). Esta última tem sido bastante utilizada

devido ser uma técnica analítica simples e rápida (cerca de 20 segundos se obtém o resultado), além de ter o resultado ser preciso e ter um baixo custo.

De acordo com o IN MAPA N°41 (2019), para kombuchas comercializadas como não alcoólicas elas devem ter um teor alcoólico menor ou igual a 0,5% v/v. Acima disso, a kombucha deve ser comercializada como alcoólica, e esta deve conter no máximo 8,0% v/v.

3.6. VINAGRE

Um dos ingredientes culinários mais antigos principalmente pela sua capacidade de preservação de alimentos, de acordo com o Instituto do Vinagre (tradução livre para *Vinegar Institute*, 2005), um poderoso produto que é encontrado na literatura há mais de 10.000 anos (seja da forma mais antiga em escrituras às atuais em artigos científicos), o vinagre está presente no dia a dia dos consumidores.

Além de existir a muito tempo, atualmente, é possível perceber a ampla gama de opções de vinagres no mercado, devido diversidade em seu uso. É encontrado sendo empregado em molhos, tempero para saladas, pickles, mostarda, produtos com tomate, entre outros.

De acordo com a Instrução Normativa N°14, de 8 de fevereiro de 2018, publicada pelo Diário Oficial da União, o vinagre é um produto definido no artigo 24 da Lei n° 7.678 de 1988 elaborado a partir de um mosto acetificado. Deve estar na fase líquida e seus parâmetros sensoriais são sabor ácido, com aspecto límpido e ausente de corpos estranhos à sua natureza.

Além disso, em sua fabricação podem ser adicionados suco de fruta, vegetais (inteiros ou partes), aromas naturais, condimentos ou misturas de todos esses elementos. A rotulagem para comercialização deste produto se dá identificando a sua cor e quais adicionais foram utilizados na sua fabricação, um exemplo é vinagre branco de maçã, amplamente comercializado para fins culinários, e por ser anti-inflamatório, antifúngico e antibacteriano, é popularmente conhecido com propriedades benéficas de dermo-cosmético natural e uma de suas aplicações populares é o de controlar pH do couro cabeludo.

A produção de vinagres é feita a partir de um mosto limpo, sem presença de matérias ou corpos (seja vegetal ou animal). A esse mosto, podem ser adicionados sais nutrientes ou açúcares para desenvolvimento da fermentação.

Na literatura e produção industrial são encontrados diferentes métodos de produção do vinagre, onde se observa desde métodos mais tradicionais como a fermentação do mosto em barris de madeira à métodos acelerados de fermentação com o uso de geradores de culturas de superfícies, sendo impulsionado a transformação do etanol em ácido acético. A escolha do método vai variar conforme demanda do produtor. Porém, com a tecnologia atual, é possível produzir grandes volumes com níveis controlados de fermentação (Siepmann *et al*, 2015).

O método Orleans (ou francês) é considerado um processo contínuo e lento e na literatura encontra menções da sua utilização desde 1670 na França. Até hoje é muito aplicado para produções menores ou caseiras. Feito em barris de madeira (normalmente carvalho ou outra madeira que não interfira no processo) e o mosto é deixado para fermentar de 1 a 3 meses a temperatura ambiente (máximo 25°C para evitar perda de compostos alcoólicos por evaporação). Devido ao tempo longo de produção, o custo normalmente é mais elevado, e, portanto, este método é utilizado principalmente por produtores tradicionais ou selecionados.

Neste método, de acordo com Siepmann *et al*. (2015), as bactérias acéticas são inoculadas na superfície superior onde o líquido encontra o ar (como uma espécie de biofilme), também denominado de vinagre mãe ou forte.

Apesar do Orleans ser o mais tradicional, a forma de produção mais utilizada atualmente no setor industrial é o submerso, no qual as bactérias acéticas ficam suspensas no líquido, com aplicação de forte aeração para garantir a demanda de oxigênio (Siepmann *et al*, 2015). Este método confere rapidez ao processo, porém deve ser feito em baixas temperaturas para manter o controle. A eficiência deste é maior. Independente do método de produção escolhido, a fabricação de vinagres segue o princípio básico de fermentação aeróbia a partir de qualquer álcool ou açúcar fermentável.

Segundo Joyeux *et. al* (1984), bactérias de ácido acético estão presentes durante todos os estágios da produção de vinho, desde o mosto de uvas até dias após o início

da sua fermentação. Ao entrar em contato com o ar, foi perceptível a aceleração da proliferação da bactéria, inclusive este é um dos motivos, de após abrir um vinho, se não for consumido em poucos dias, o sabor avinagrado se tornará mais perceptível e, portanto, normalmente se utiliza o vinho não bebido para cozinhar risotos, pois os compostos alcóolicos presentes são excelentes para liberar o amido do arroz e deixá-lo mais cremoso, não sobressaindo o sabor avinagrado que o vinho incorporou.

Outro tipo de vinagre comumente encontrado para uso culinário é o vinagre balsâmico e sua principal diferença além da coloração mais escura ao ser comparado aos de álcool ou frutas por exemplo, é devido a fermentação ser feita a partir de vinho branco ou tinto, onde este é submetido a um processo de envelhecimento em tanque de madeira por no mínimo seis meses, segundo a legislação. Nele, também pode ser adicionado vegetais, sucos, extratos e aromas vegetais, além de açúcares, mel, condimentos (BRASIL, 2018).

É importante ressaltar que ao obter o produto final, o vinagre não deve ultrapassar os seguintes parâmetros para álcool etílico 1,0 % v/v a 20°C e acidez volátil ácido acético mínima de 4,0g/100mL. Já o vinagre balsâmico é permita acidez volátil ácido acético mínima de 5,0g/100mL (BRASIL, 2018).

4. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida em forma domiciliar, por conta da pandemia da Covid 19. As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Produtos Fermento-destillados (LPFD) pertencente ao Departamento de Engenharia Química do Centro de Tecnologia da UFPB, Campus I.

A Kombucha vencida foi fornecida pela Bauá Kombucha. Consistia em garrafas devolvidas pelos comerciantes locais, nos sabores de caju e hibisco com canela, por terem passado da validade.

O estudo consistiu na avaliação da possibilidade de se aumentar a acidez da kombucha vencida, por meio de uma fermentação, com o objetivo de transformá-la em um fermentado acético.

4.1. HOMOGENEIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE KOMBUCHA VENCIDA

Inicialmente, as garrafas contendo kombucha vencida foram abertas e despejadas em um recipiente para homogeneização da amostra. Como haviam dois sabores, caju e hibisco com canela, obteve-se duas amostras para o estudo. Ambas as amostras foram caracterizadas quanto ao pH e sólidos solúveis totais (° Brix) utilizando métodos indicados pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2018). Os resultados obtidos foram comparados com os apresentados pelas kombuchas recém engarrafadas de cada sabor.

4.2. ENSAIO PRELIMINAR

Como a kombucha apresenta naturalmente uma grande quantidade de microrganismos vivos, um teste inicial foi realizado para verificar se após o vencimento ainda havia uma quantidade de microrganismos viáveis na kombucha, capazes de iniciar uma nova etapa de formação e elevar a acidez do meio.

Para tanto, utilizou-se a amostra de kombucha de caju. Foram transferidos 500mL das amostras para potes de vidro em duplicata, como ilustrado na Figura 4. Foram feitos

dois ensaios: no primeiro foram adicionados 60g de açúcar cristal e no segundo ensaio, 90g. Estes valores foram escolhidos com base em um balanço de massa, levando em conta a quantidade de açúcar necessário para se obter 4% e 6% de teor acético, caso se estivesse trabalhando com a produção de vinagre convencional, em sistema orleanense.

Figura 4 – Vasos 500mL teste de produção do fermentado acético



FONTE: Autoral.

4.3. AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE AÇÚCAR E INÓCULO

Com o objetivo de se verificar a influência da adição de açúcar e de inóculo no estudo do aproveitamento da Kombucha vencida para obtenção de vinagre de kombucha, foi realizado um planejamento fatorial completo 2^2 com três repetições no ponto central. As variáveis do planejamento serão a concentração de açúcar e a concentração inicial de inóculo (cultura *starter*). Os níveis e a matriz do planejamento encontram-se respectivamente nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Níveis do planejamento

Variável	Nível		
	-1	0	+1
Concentração de açúcar (g/l)	25	50	100
Concentração de inóculo (%)	5	10	15

Tabela 2 – Matriz do planejamento

Ensaio	Conc. Açúcar	Conc. Inóculo
1	-1	-1
2	+1	-1
3	-1	+1
4	+1	+1
5	0	0
6	0	0
7	0	0

A variável resposta foi o teor de ácido acético (IAL, 2008) e a massa de SCOBY formado ao final do ensaio. Também foram analisados o pH, °Brix, acidez (Métodos indicados pelo Instituto Adolfo Lutz, IAL (2018)):

- A medição do pH foi realizada mediante leitura direta, em triplicata, em pHmetro calibrado.

- O teor de sólidos solúveis totais foi determinado por medição em refratômetro de ABBE, em triplicata, e expresso como °Brix.

- A acidez total foi determinada por meio titulação com hidróxido de sódio (NaOH 0,1M) usando fenolftaleína como indicador.

Também foi feita a análise de açúcares redutores totais, por meio do método de Miller (1959) adaptado por Vasconcelos et al. (2013).

A matriz do planejamento foi desenvolvida na Tabela 3 com valores de cada ensaio.

Tabela 3 – Matriz do planejamento desenvolvida

Ensaio	Conc. Açúcar (g)	Conc. Inóculo (mL)	Kombucha adicionada (mL)
1	8	16	309
2	32	16	309
3	8	48	277
4	32	48	277
5	16	32	293
6	16	32	293
7	16	32	293

Os ensaios foram conduzidos em recipientes de vidro idênticos de 500 mL de capacidade (ilustrados na Figura 5). Em cada um deles foram colocados 325 mL de meio de cultivo, formado por kombucha de hibisco e canela, com validade vencida, com adição de açúcar cristal e inóculo conforme planejamento.

Os recipientes foram cobertos com voal e mantidos em local escuro e arejado por 10 dias, em temperatura ambiente. Ao final deste tempo, foram recolhidas amostras dos sete ensaios e congeladas em tubos falcon de 50mL de capacidade para posterior análise de acidez, pH, Brix e teor de ácido acético (IAL, 2018), além do teor de açúcares redutores totais (ART) (Miller 1959, Vasconcelos et al, 2013). O SCOBY formado foi recuperado e pesado.

De posse dos resultados, foi feito um tratamento estatístico de seus valores, por meio de análise de variância (ANOVA) para se determinar a influência de cada variável nos resultados.

Figura 5 – Biorreatores de 500mL usados no planejamento fatorial



Fonte: Autoral.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a formação das amostras de kombucha de caju e hibisco com canela que seriam utilizadas neste estudo, foram obtidos os valores de pH e sólidos solúveis totais apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Parâmetros cinéticos da kombucha a ser estuda (marca: Bauá)

Parâmetro	Sabor caju		Sabor hibisco e canela	
	Envasada ¹	Vencida ²	Envasada ¹	Vencida ²
pH	2,90	2,31	2,82	2,80
SST	4,70	3,50	4,30	1,90

¹Pronta para comercializar. É o ponto que se tira após a fermentação de saborização e logo em seguida é envasada.

²As kombuchas que após envasadas, não foram vendidas, e retornaram à empresa após validade.

Os dados da Tabela 4 mostram que após o vencimento, o pH das Kombuchas tende a ficar mais ácido, o que causa alteração de sabor. A Kombucha contém microrganismos vivos, muitos dos quais permanecem viáveis durante a vida de prateleira da bebida. Isso explica a redução do °Brix observado para as duas amostras. Se levarmos em consideração que o °Brix é influenciado pela presença de açúcares, podemos supor que os carboidratos ainda presentes na kombucha envasada são metabolizados pelos microrganismos durante a vida de prateleira, diminuindo o sabor doce na bebida e aumentando o sabor ácido.

É importante levar em conta que a bebida é armazenada sob refrigeração, e a garrafa está fechada. Assim, podemos supor que os microrganismos que conseguem manter-se viáveis quando a bebida perde sua validade, são aqueles que conseguem viver sem oxigênio (anaeróbios) e toleram baixas temperaturas. Dessa forma, a cultura existente na kombucha passada não é a mesma do momento do engarrafamento da bebida, por conta do desequilíbrio que as condições de armazenamento promovem.

5.1.RESULTADOS DO ENSAIO PRELIMINAR

Os resultados do ensaio preliminar estão na Tabela 5, onde B1 e B2 são duplicatas com adição de 60g de açúcar e L1 e L2, com adição de 90g de açúcar.

Tabela 5 – Teste preliminar 1

<i>Ensaio</i>	<i>Brix</i>	
	<i>Dia 0</i>	<i>Dia 14</i>
B1	14,0	14,0
B2	15,0	15,0
L1	18,2	18,2
L2	19,0	19,0

Esta parte do estudo foi realizada em domicílio, por isso só foi medido o °Brix. Esperava-se que o valor deste parâmetro diminuísse, uma vez que fora adicionado açúcar cristal às amostras.

Porém, o grau Brix não diminuiu, apesar de ter sido observado uma fina película de SCOBY na superfície dos meios de cultivo.

O não consumo de fonte de carbono nesse período pode indicar uma pouca quantidade de microrganismos ainda viáveis na Kombucha vencida, os quais não têm quantidade suficiente para iniciar uma outra fermentação, que converteria o açúcar em ácidos orgânicos.

O resultado deste teste mostrou a necessidade de se adicionar microrganismos viáveis à kombucha vencida para verificar a ocorrência de uma outra etapa de fermentação, que elevaria a acidez da kombucha, convertendo-a em vinagre.

5.2.AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE AÇÚCAR E INÓCULO

Ao iniciar-se o ensaio, observou-se atividade microbiana logo nas primeiras horas em todos os sete potes. Ao longo dos dias, observou-se a presença de bolhas e formação de SCOBY, que foi crescendo de forma diferente em cada ensaio. Além disso, o odor

característico de vinagre também se fez presente e mais forte com o passar dos 10 dias de fermentação.

Os valores de acidez no início do experimento, e ao final de dez dias para cada ensaio estão na Tabela 6, assim como os valores iniciais de acidez do lote de kombucha e do inóculo utilizado.

Tabela 6 – Acidez – início do experimento

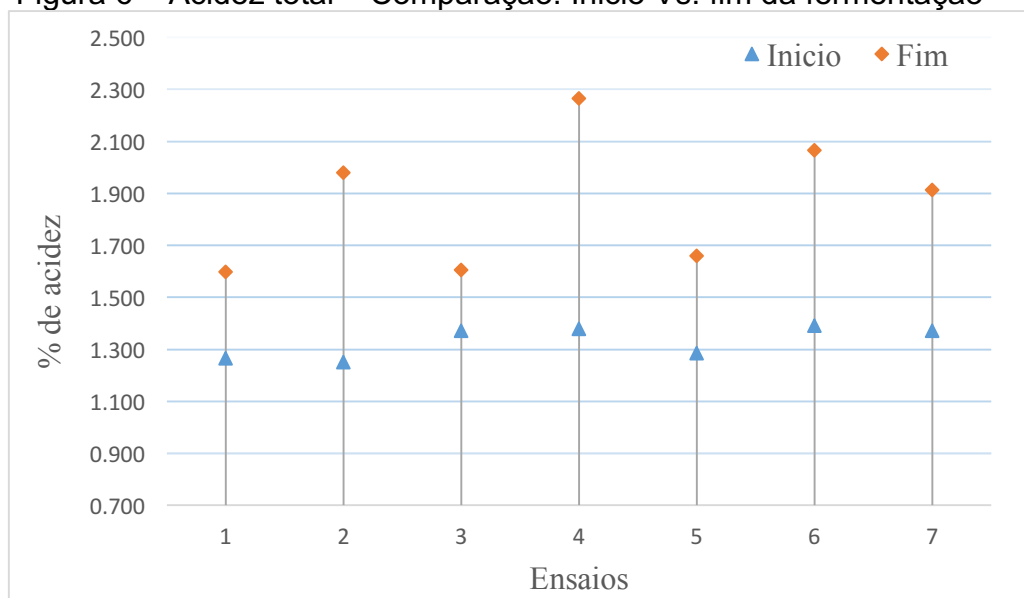
<i>Ensaio</i>	<i>Acidez inicial (%)</i>	<i>Acidez Final (%)</i>	<i>Acidez produzida (%)</i>	<i>Acidez em ácido acético (%)</i>
1	1,267	1,600	0,333	0,960
2	1,253	1,980	0,727	1,188
3	1,373	1,607	0,233	0,964
4	1,380	2,267	0,887	1,360
5	1,287	1,660	0,373	0,996
6	1,393	2,067	0,673	1,240
7	1,373	1,913	0,540	1,148
Starter	2,627			1,577
Kombucha vencida	0,760			0,456

Os dados da Tabela 06 mostram que nos primeiros 10 dias foram produzidas substâncias ácidas nos meios de cultivo, elevando o valor da acidez em todas as amostras. Porém, ao se estimar o teor de acidez como ácido acético, nenhuma amostra atingiu o teor mínimo de 4,0% estabelecido pela legislação brasileira (IN MAPA, 2018).

Porém, como foi utilizado o sistema tipo orleanense, é possível que os dez dias tenham sido insuficientes, haja vista que é um processo lento.

O Gráfico da Figura 6 mostra a variação de acidez sofrida em cada ensaio. As maiores variações foram observadas nos ensaios que receberam maior quantidade de açúcar.

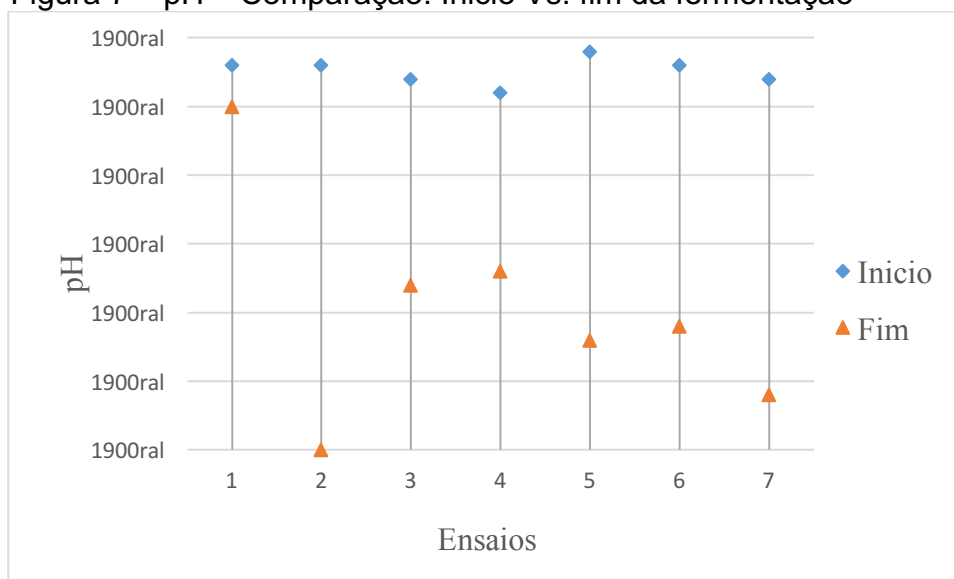
Figura 6 – Acidez total – Comparação: Início Vs. fim da fermentação



Fonte: Autoral

Em relação ao pH, o Gráfico da Figura 7 mostra que houve uma diminuição deste parâmetro em todos os ensaios, o que demonstra a conversão de açúcares em ácidos orgânicos promovida pelos microrganismos presentes.

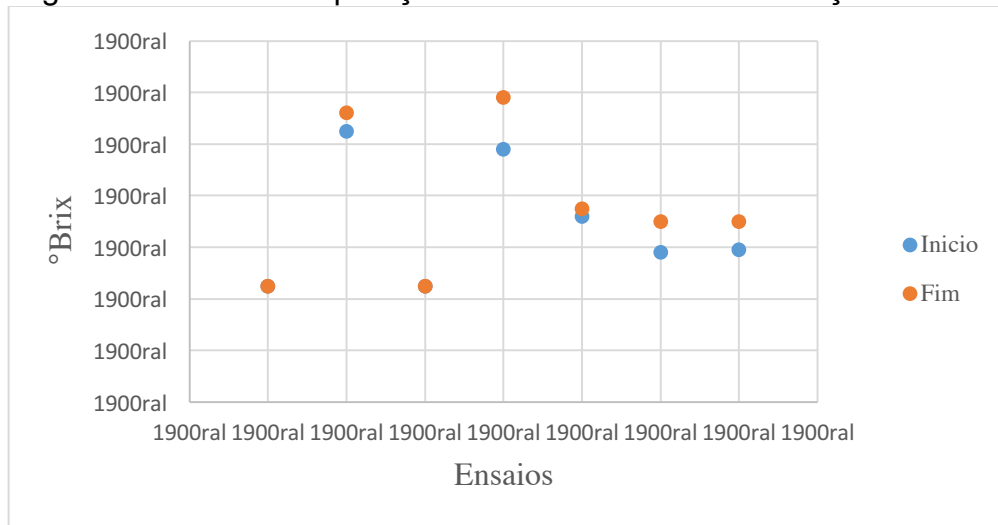
Figura 7 – pH – Comparação: Início Vs. fim da fermentação



Fonte: Autoral

Em relação aos SST, observa-se na Figura 8 o aumento deste parâmetro em alguns dos ensaios, especialmente os que receberam maiores quantidades de açúcar cristal. Este aumento pode ser explicado pelo desvio no índice de refração promovido pelos ácidos produzidos ou pela presença de um número maior de células microbianas.

Figura 8 – SST – Comparação: Início Vs. fim da fermentação



Fonte: Autoral

Os dados de ART exibidos na Tabela 7, mostram que, passados dez dias, as amostras ainda continham açúcares presentes, um indício de que a fermentação poderia ter sido conduzida por mais alguns dias.

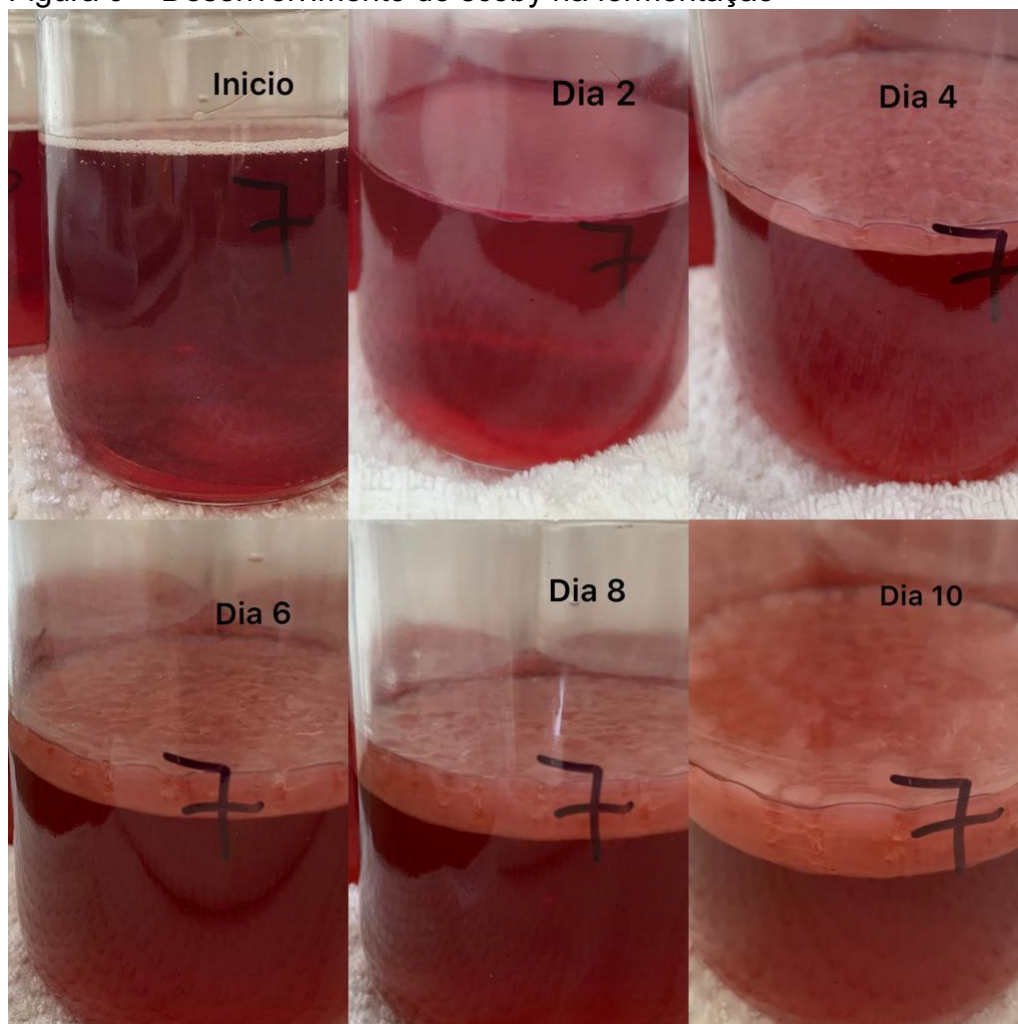
Tabela 7 – Concentração de açúcares redutores totais

Ensaio	Concentração (g.L ⁻¹)
1	15,9252
2	20,8073
3	15,5930
4	20,4918
5	21,1394
6	21,7871
7	20,6579

Outro fator observado na fermentação, foi o desenvolvimento do scoby na superfície superior dos vasos. Não foi possível fazer a análise microbiológica dos mesmos, porém foi notado o seu desenvolvimento dia após dia, como ilustrado na Figura 9, fotos a cada 2 dias tiradas do ensaio 7. O mesmo, pode ser um indicado da presença de atividade fermentativa, visto que o biofilme aumenta com o passar dos dias de fermentação.

Após 10 dias de fermentação o scoby de cada ensaio foi pesado, pode-se acompanhar as diferenças na Tabela 8.

Figura 9 – Desenvolvimento do scoby na fermentação



Fonte: Autoral

Tabela 8 – Peso do scoby por ensaio

Ensaio	Peso (g)
1	26,84
2	18,57
3	23,50
4	27,76
5	18,27
6	27,77
7	18,25

O desenvolvimento dos SCOBYS mostra que o processo fermentativo ainda estava acontecendo, e que havia condições favoráveis para a reprodução dos microrganismos da kombucha.

Devido a pandemia SARS-COVID 19, os testes foram conduzidos de forma domiciliar e, portanto, podem contar com presença de agentes não desejados, visto que o ambiente não foi 100% controlado e como não foi possível refazer os testes em ambiente laboratorial (o mesmo foi utilizado apenas para coletar os dados presentes nos resultados), pois os mesmos não estavam disponíveis no período em que este trabalho estava sendo desenvolvido, percebeu-se que a ideia é promissora porém necessita de alguns ajustes na elaboração, como o aumento dos dias de fermentação para possibilitar o alcance da acidez de 4%.

Como foi constatado por Carvalho (2016), ao fazer ensaios testando variações da sacarose e adição de inóculo proveniente de vinagre e de kombucha. Seus testes correram por 15 dias, e em sua maioria o teor de acidez foram 10g/L de ácido acético no teste feito com kombucha, utilizando de 10 a 12% de sacarose adicional. Indicando percentual de 1% de teor de acidez em ácido acético, enquanto o maior resultado nos ensaios feitos neste trabalho foi no ensaio 4, com 1,36% de acidez em ácido acético, sendo o mesmo feito com concentração de açúcar próximas.

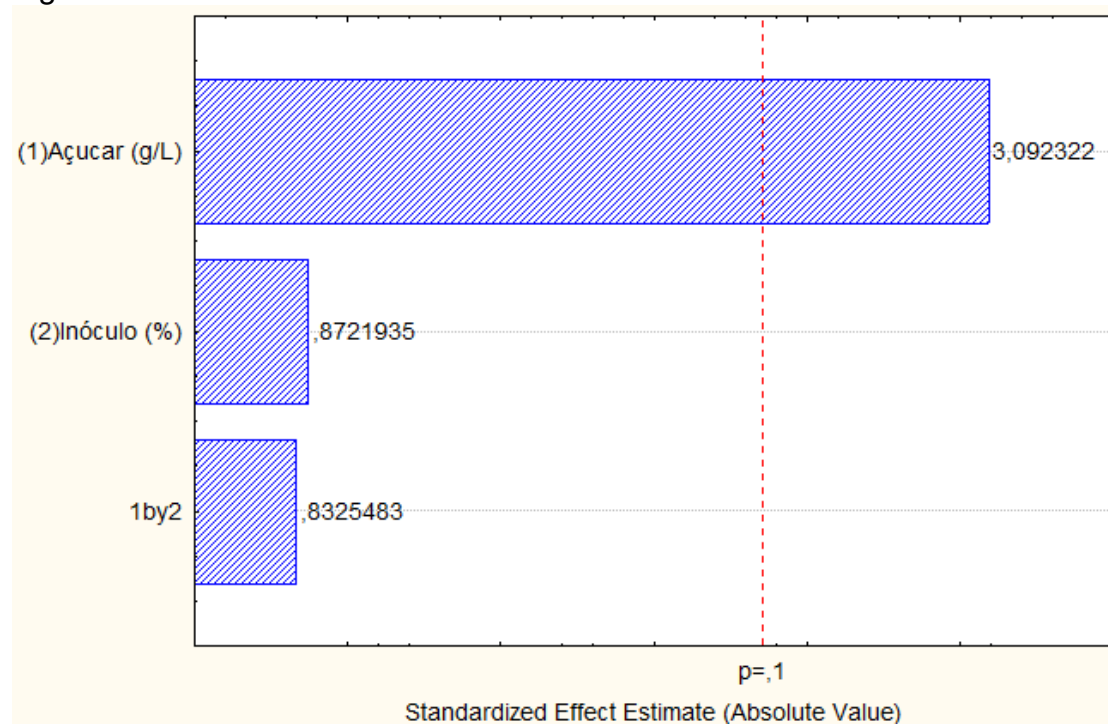
5.2.1. Análise estatística

Com o auxílio de um software de análise estatística, *Statsoft Statistica 7.0*, os dados obtidos em cada ensaio foram analisados para se avaliar a influência da adição de açúcar e quantidade de inóculo na acidez após dez dias de fermentação.

Como os valores dos pontos centrais não foram reprodutíveis, as análises estatísticas foram feitas com base no erro residual e não no erro puro.

O gráfico de Pareto da Figura 10 mostra que a concentração de açúcar no início da fermentação é o único parâmetro estatisticamente significativo (ao nível de 10%). Isso faz sentido, pois foram nas maiores concentrações de açúcares que foram observados os maiores valores de acidez. Além disso, a quantidade de inóculo e sua interação com o teor de açúcar contribuem também pra o aumento da variável resposta acidez.

Figura 10 – Gráfico de Pareto



Fonte: Autoral.

Um modelo de regressão linear foi proposto para este processo. Nele o teor de açúcar é representado pela variável A e o teor de inóculo pela variável B. Os termos em **negrito** são significativos no intervalo de confiança de 90%:

$$Acidez = 1,870 + 0,260 A + 0,073 B + 0,070 AB \quad (2)$$

O modelo da Equação 2 tem coeficiente de correlação de 78,6 % e ajuste de 75 %, ou seja, explica apenas 75 % das variações observadas.

A análise de variância para este processo está na Tabela 9.

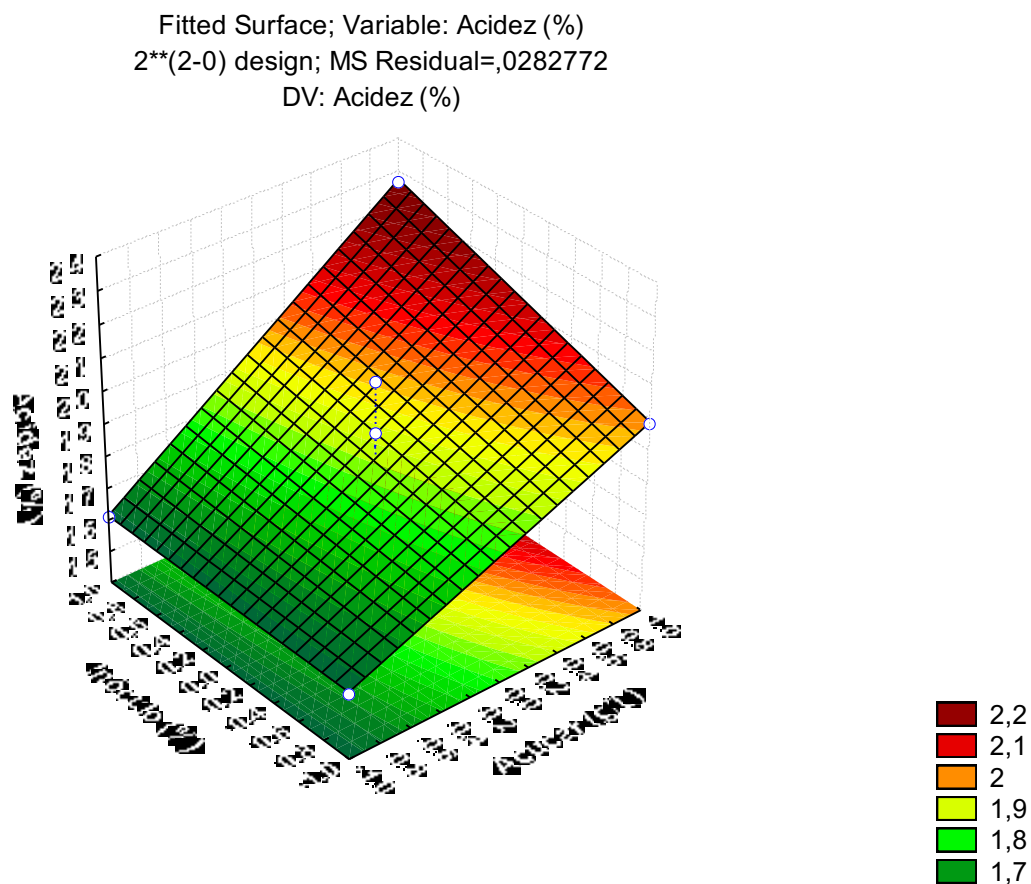
Tabela 9 – Análise de variância

Fonte de variação	Σ Quadrática	° Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Conc. de açúcar	0,27	1	0,27	$F_c=10,88$
Resíduo	0,124	5	0,0248	
F_{tab} (10%)	4,545			$F_c/F_{tab}=2,44$

A análise de variância para a acidez na Tabela 8, apresenta um resultado de 2,44 para o Teste F. Portanto, o modelo da Equação 2 é estatisticamente significativo por apresentar F superior à unidade. Porém ele não poderá ser usado para fins preditivos, já que o Teste F apresentou um valor inferior a 4,0; necessário para o modelo ser considerado preditivo e aplicável em simulações (BARROS NETO, SCARMÍNIO E BRUNS, 1995).

A influência da concentração de açúcar e inóculo podem ainda ser examinada com o auxílio da superfície de resposta da Figura 11:

Figura 11 – Superfície de resposta para acidez



Fonte: Autoral.

Como pode ser observado na Figura 11, tanto o teor de açúcar quanto a concentração do inóculo contribuem para se obter um aumento de acidez na kombucha vencida durante o processo fermentativo.

É possível que o teor de acidez obtido na fermentação da kombucha vencida tivesse sido maior.

6. CONCLUSÕES

O presente trabalho possibilitou a avaliação do aproveitamento de kombucha vencida para elaboração de fermentado acético, a partir da refermentação da mesma com adição de inóculo e açúcar usando o planejamento fatorial 2^2 , para se observar as influências das diferentes proporções no aumento da acidez e elaborar um potencial fermentado similar ao do vinagre, se atingido, conforme a legislação brasileira, de teor 4% de ácido acético (IN MAPA, 2018).

Constatou-se no ensaio preliminar que os microrganismos presentes na kombucha não são capazes de desenvolver a fermentação, e foi necessário adicionar inóculo para fermentar novamente, visto que a kombucha vencida não contém microrganismos suficientes para impulsionar esta nova fermentação.

Foi concluído, que apesar de não ter atingido o teor desejado, que a acidez aumentou e o principal agente, foi a adição de açúcar, de modo que o ensaio 4, onde houve maior adição, atingiu maior acidez, com 2,267%.

Ainda, assume-se que o aumento dos dias de fermentação poderia ser benéfico ao aumento da acidez.

Ademais, foi perceptível a evolução do SCOBY durante a fermentação, indicando a atividade presente nos ensaios. Além disso, sensorialmente o odor avinagrado foi aumentando com o passar dos dias de fermentação, o que também pode indicar o desenvolvimento da acidez.

Em futuros trabalhos sugere-se o aumento dos dias de fermentação, pois então provavelmente poderá se atingir o teor de acidez desejado e estudar a pasteurização do mesmo, para este fermentado acético ser considerado vinagre. Ainda, sugere-se o estudo do mesmo fermentado para ser utilizado na própria indústria de kombucha como starter (inóculo) de novos lotes. Também pode ser estudado a possibilidade de utilizar este fermentado como conserva de alimentos

Constata-se então, a importância do estudo no desenvolvimento de soluções rentáveis e sustentáveis dentro da indústria, uma vez que com a globalização e aumento das produções industriais, se admite a necessidade de produções mais limpas, com menos (ou quase nenhum) resíduos que possam também trazer bons rendimentos a

empresa ou até mesmo aumentar o catálogo de produtos com esta inovação. É possível que este trabalho possa ser ponto de partida para futuras pesquisas a respeito do reaproveitamento das kombuchas vencidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKSO. Loja Virtual. Link: < <https://loja.akso.com.br/produto/ak90---medidor-de-ph-de-bolso-ph-basic-123> > Acesso em 20/05/2021.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, J. S.; BRUNS, R. E. Planejamento e otimização de experimentos. Campinas: Editora da Unicamp, 1995, 480 p

BRUSCHI, J.S.; SOUSA, R.C.S; MODESTO, K.R.; O Ressurgimento do Chá de Kombucha. Revista de Iniciação Científica e Extensão – REIcEN; 1(ESP):162-8. 2018.

CARVALHO, S.; Desenvolvimento de Vinagres a partir de Chás e Infusões. Dissertação para obtenção de Grau de Mestre em Engenharia Alimentar. Universidade de Lisboa, 2016.

Chu, S.; Chen, C. Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of Kombucha. Food Chemistry, 98(3), 502–507. 2006.

CRUM, H.; LAGLORY, A.; The Big Book of Kombucha. Brewing, Flavoring and Enjoying the Health Benefits of Fermented Tea. Storey Publishing, 2016.

DORNEMANN, G.M. Comparação de Métodos para Determinação de Açúcares Redutores e Não-redutores. Porto Alegre, UFRGS. 2016.

JAYABALAN R.; MALBASA R.; LONCAR E.; VITAS, J.; SATHISHKUMAR, M. A Review On Kombucha Tea – Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, Vol. 13, 2014.

JOYEUX, A.; LAFON-LAFOURCADE, S.; RIBEREAU-GAYON, P. 1984. Evolution of acetic acid bacteria during fermentation and storage of wine. Applied and Environmental Microbiology 48: 153-156. American Society for Microbiology.

IMPAC. Loja Virtual. Link < <https://loja.impac.com.br/refratometro-0-32-brix-ip32kt-impac> > Acesso em 20/05/2021.

Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). Métodos físico-químicos para análise de alimentos /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea - São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

KBI (Kombucha Brewers International) PUBLIC MAGAZINES: SYMBIOSIS MAGAZINE – SUMMER 2020. Acesso em 21/04/2021. < <https://symbiosismagazine.com> >

KIM J.; ADHIKARI, K. Current Trends in Kombucha: Marketing Perspectives and the Need for Improved Sensory Research. Beverages 2020, 6, 15; doi:10.339/beverages6010015. Acesso em 20/09/2021 < www.mdpi.com/journal/beverages >

LEGISLAÇÃO BRASILEIRA - INSTRUÇÃO NORMATIVA, Nº14, 08 DE FEVEREIRO DE 2018. Acesso em 25/09/2021. < 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 >

LEGISLAÇÃO BRASILEIRA - INSTRUÇÃO NORMATIVA, Nº41, 17 DE SETEMBRO DE 2019. Acesso em 20/04/2021. < <http://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-41-de-17-de-setembro-de-2019-216803534> >

LONCAR, E.; MALBASA, R.; DJURIC, M.; KOLAROV, LJ.; MARKOV, S. Scale-up of Black Tea Batch Fermentation By Kombucha. Trans IChemE, Part C, Food and Bioproducts Processing, 2006, 84 (C3): 193-199.

MENDONÇA, G.; PEREIRA, A.; FERREIRA, A.; SANTOS NETO, M.; DUTRA, R.; ABREU, V. Propriedades Antioxidantes e Efeitos Antimicrobianos da Kombucha: Revisão da Evidência Científica. Revista Contexto & Saúde, Editora Unijuí, vol. 20, n.40, jul./dez.2020.

OLIVEIRA, L.; LORDELO, F.; TAVARES, J.; CAZETTA, M. Elaboração de Bebida Fermentada Utilizando Calda Residual da Desidratação Osmótica de Abacaxi (*Ananas comusus L.*). Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial. V.06, n.01: p. 702-712. UTFPR. Paraná, 2012.

SANTOS, N.B. Apresentação capacitação de equipe na BAUÁ Ltda, 2021.

SCHROEDER, J. Kombucha Fermentada a Partir de Resíduo de Acerola. Florianópolis, 2019.

SIEPMANN, F.B.; CANAN, C.; COLLA, E. Processos e Substratos para Produção de Vinagres: Uma Revisão. Revista Eletrônica Científica Inovação e Tecnologia. V.2, n.12, p.12-22, jul./dez.2015. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Medianeira, Paraná, Brasil.

VILLARREAL-SOTO, S.A; BEAUFORT, S.; BOUAJILA, J.; SOUCHARD, J.P; TAILLANDIER, P. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A review. Journal of Food Science, Vol. 83, Nr. 3, 2018.

VINEGAR INSTITUTE. 5775 G Peachtree-Dunwoody Rd., Suite 500 Atlanta, GA 30342. 2005. Acesso em 25/09/2021. < <http://www.versatilevinegar.org/index.html> >

WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. YEAST: The Practical Guide to Beer Fermentation. 2010.