



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA – UFPB  
CENTRO DE TECNOLOGIA - CT  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA – DEQ  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

RAFAEL FERREIRA SOARES

**OBTENÇÃO DE JUN ALCOÓLICO: ACOMPANHAMENTO CINÉTICO,  
TRATAMENTO TÉRMICO E SABORIZAÇÃO COM POLPA DE ACEROLA**  
*(Malpighia glabra L.)*

João Pessoa  
2023

RAFAEL FERREIRA SOARES

**OBTENÇÃO DE JUN ALCOÓLICO: ACOMPANHAMENTO CINÉTICO,  
TRATAMENTO TÉRMICO E SABORIZAÇÃO COM POLPA DE ACEROLA**  
*(Malpighia glabra L.)*

Trabalho de conclusão de curso apresentado à coordenação de Engenharia Química do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba, Campus I, como parte dos requisitos obrigatórios para graduação e obtenção do título de Engenheiro Químico.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Bispo DeSousa

João Pessoa

2023

Catalogação na publicação  
Seção de Catalogação e Classificação

S676o Soares, Rafael Ferreira.

OBTENÇÃO DE JUN ALCOÓLICO: ACOMPANHAMENTO CINÉTICO,  
TRATAMENTO TÉRMICO E SABORIZAÇÃO COM POLPA DE ACEROLA  
(Malpighia glabra L.) / Rafael Ferreira Soares. - João  
Pessoa, 2023.

58 f. : il.

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

1. Kombucha. 2. Mel de abelhas. 3. Jun. 4. Polpa de  
acerola. 5. Pasteurização. 6. Fervura. 7. Fermentação  
alcoólica. 8. Hard Kombucha. I. Sousa, Carlos Alberto  
Bispo de. II. Título.

UFPB/BSCT

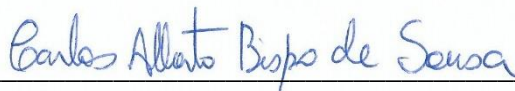
CDU 66.01(043.2)

RAFAEL FERREIRA SOARES

**OBTENÇÃO DE JUN ALCOÓLICO: ACOMPANHAMENTO CINÉTICO,  
TRATAMENTO TÉRMICO E SABORIZAÇÃO COM POLPA DE ACEROLA  
(*Malpighia glabra* L.)**

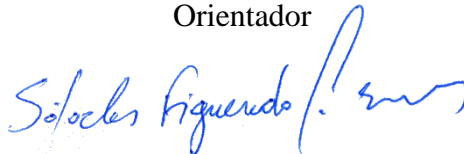
Trabalho Final de Curso apresentado à  
Coordenação do Curso de Engenharia Química  
da Universidade Federal da Paraíba como  
requisito parcial para obtenção do título de  
Bacharel em Engenharia Química.

APROVADO EM: 10/06/2023



Prof. Dr. Carlos Alberto Bispo de Sousa

Orientador



Prof. Dr. Sófacles Figueredo Carreiro Soares

1º Avaliador



Me. Nayara Barbosa dos Santos

2º Avaliador

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer aos meus pais por fornecer meios para que eu conseguisse me formar uma instituição federal longe de casa, aos meus irmãos pelo carinho e ajuda, à minha namorada e aos amigos adquiridos ao longo da graduação, sem eles nada disso seria possível.

Gostaria de agradecer ainda ao Prof. Bispo, coordenador do LPFD, e ao Sóflaces, técnico do laboratório, pela paciência e oportunidade de realizar os estudos para este trabalho em um ambiente muito construtivo e engrandecedor. Sem dúvidas, com vocês essa reta final foi uma experiência única.

## RESUMO

Kombucha é uma bebida fermentada probiótica produzida através da fermentação de um mosto à base de chá de folhas da espécie *Camellia Sinensis*, usualmente chá verde ou preto, adoçado. Para que a fermentação ocorra, é necessária a inoculação de uma cultura simbiótica de bactérias acéticas, ácido-láticas e leveduras chamada de “SCOBY” (*Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast*) através de um chá já fermentado junto com a cultura ou somente com o chá fermentado, também conhecido como “chá de arranque”. Apesar de ser uma bebida tradicionalmente não alcoólica, entre os anos de 2017 e 2019, o segmento de kombucha alcoólica apresentou um crescimento de US\$10,3 mi chegando a ser considerada a bebida de 2020. Através da mudança da fonte de carbono e forma de processamento do chá utilizada para adoçar e preparar o mosto pode-se encontrar outras formas da bebida que também são bastante conhecidas na comunidade de bebidas fermentadas, porém pouco estudadas a nível científico. Ao variar o mosto fermentativo usando o mel de abelhas para adoçar o meio, encontra-se uma bebida mais leve, menos ácida e que carregará as propriedades vindas do mel, sendo conhecida como Jun. A acerola (*Malpighia glabra* L.) é uma fruta tropical cultivada comercialmente no Brasil desde meados dos anos 80, principalmente na região Nordeste onde se destaca os estados: Pernambuco, Paraíba, Bahia e Ceará. Na fruta pode-se encontrar vitamina C (ácido ascórbico) e antocianina (pigmento presente na casca), tornando-a rica em antioxidante, excelente fonte de carotenóides e, além disso, possui baixo valor calórico, o que a torna ainda mais procurada no mercado. Foi realizado o acompanhamento cinético da fermentação para produção do Jun, sua saborização com polpa de acerola, tratamento térmico (pasteurização e fervura) como etapa intermediária para produção e acompanhamento cinético da fermentação alcoólica do Jun base saborizado. As fermentações foram acompanhadas por um total de 21 dias, neste período foi possível observar o comportamento fermentativo na produção do Jun base e na segunda fermentação, as mudanças e consequências encontradas em cada amostra tratada para a formulação do produto final.

**Palavras chave:** Kombucha; Jun; Mel de abelhas; Polpa de acerola; Pasteurização; Fervura; Fermentação alcoólica; *Hard Kombucha*;

## ABSTRACT

Kombucha is a probiotic fermented beverage produced by fermenting a must based on tea leaves of *Camellia Sinensis* species, usually sweetened green or black tea. For fermentation to occur, it is necessary to inoculate a symbiotic culture of acetic, lactic acid and yeast bacteria called "SCOBY" (Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast) through an already fermented tea with the culture or only with the fermented tea, also known as "starter tea". Despite being a traditionally non-alcoholic drink, between 2017 and 2019, the alcoholic kombucha segment grew by US\$10.3 million, reaching the point of being considered the drink of 2020. By changing the carbon source and way of processing the tea used to sweeten and prepare the wort, other forms of the drink can be found that are also well known in the fermented beverage community, but little studied at a scientific level. By varying the fermentative mash using bee honey to sweeten the medium, a lighter, less acidic drink is found that will carry the properties coming from honey, known as Jun. Acerola (*Malpighia glabra L.*) is a tropical fruit that has been commercially grown in Brazil since the mid-1980s, mainly in the Northeast region, where the following states stand out: Pernambuco, Paraíba, Bahia and Ceará. In the fruit you can find vitamin C (ascorbic acid) and anthocyanin (pigment present in the peel), making it rich in antioxidants, an excellent source of carotenoids and, in addition, it has a low caloric value, which makes it sought after in the marketplace. The kinetic monitoring of the fermentation for the production of Jun, its flavoring with acerola pulp, thermal treatment (pasteurization and boiling) as an intermediate step for the production and kinetic monitoring of the alcoholic fermentation of the flavored Jun base was carried out. The fermentations were followed for a total of 21 days, during this period it was possible to observe the fermentative behavior in the production of Jun base and in the second fermentation, the changes and consequences found in each sample treated for the formulation of the final product.

**Keywords:** Kombucha; Jun; Bee honey; Acerola pulp; Pasteurization; Boil; Alcoholic fermentation; *Hard Kombucha*;

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Fluxograma para produção do Jun base .....	23
<b>Figura 2</b> – Fluxograma do processamento do Jun base .....	24
<b>Figura 3</b> - Biorreator usado na fermentação base .....	33
<b>Figura 4</b> – Polpas de acerola (Malpighia emarginata) .....	34
<b>Figura 5</b> – Panela elétrica cervejeira com controle de temperatura .....	35
<b>Figura 6</b> – Biorreatores com mosto base saborizado e inoculado, fermentação alcoólica.....	37
<b>Figura 7</b> – Comportamento do pH durante a fermentação base .....	39
<b>Figura 8</b> – Comportamento dos sólidos solúveis durante a fermentação base.....	40
<b>Figura 9</b> – Comportamento do teor acético durante a fermentação base .....	41
<b>Figura 10</b> – Comportamento do pH durante a fermentação alcoólica .....	43
<b>Figura 11</b> – Comportamento dos sólidos solúveis durante a fermentação alcoólica .....	44
<b>Figura 12</b> – Filtrado pré-envase, amostra Filtrada .....	45
<b>Figura 13</b> – Superfície do mosto da amostra Pasteurizada, dia 6 .....	45
<b>Figura 14</b> – Comportamento do teor acético durante a fermentação alcoólica .....	46
<b>Figura 15</b> – Comportamento do teor alcoólico durante a fermentação alcoólica .....	47
<b>Figura 16</b> - Amostras de Jun alcoólico finalizadas .....	49

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Comparação entre chá verde fermentado e não fermentado.....	17
<b>Tabela 2</b> - Parâmetros analíticos para Kombucha comercializada no Brasil.....	18
<b>Tabela 3</b> - Diferenças entre Jun e Kombucha.....	19
<b>Tabela 4</b> - Classificação de kombuchas .....	20
<b>Tabela 5</b> – Composição química geral da kombucha .....	21
<b>Tabela 6</b> - Composição nutricional do mel de abelhas ( <i>Apis mellifera</i> L.).....	26
<b>Tabela 7</b> - Produção de acerola no Brasil .....	27
<b>Tabela 8</b> - Padrão de comercialização de polpa de acerola .....	28
<b>Tabela 9</b> - Tempo de pasteurização e regimes de temperatura.....	30
<b>Tabela 10</b> - Características físico-químicas do inóculo (starter) .....	32
<b>Tabela 11</b> - Parâmetros exigidos para acidez da kombucha: .....	42
<b>Tabela 12</b> - Valores de sólidos solúveis e pH após adição de açúcar.....	36

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>15</b>
2.1 Objetivo Geral.....	15
2.2 Objetivos específicos.....	15
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....</b>	<b>16</b>
3.1 Kombucha .....	16
3.2 Jun.....	18
3.3 Composição química e microbiológica presentes na kombucha .....	20
3.4 Fermentação .....	22
3.4.1 Fermentação Base .....	22
3.4.2 Fermentações Adicionais .....	23
3.4.3 Mel.....	25
3.4.4 Polpa de acerola .....	26
3.4.5 Tratamento Térmico .....	28
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>31</b>
4.1 Adaptação da colônia para fermentação com mel.....	31
4.2 Metodologia para a produção de cada batelada .....	31
4.3 Fermentação do Jun Base .....	32
4.4 Saborização .....	33
4.5 Tratamento térmico.....	34
4.6 Fermentação Alcoólica .....	35
<b>5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....</b>	<b>38</b>
5.1 Análise do Potencial hidrogeniônico (pH).....	38
5.2 Análise de Sólidos solúveis .....	38
5.3 Análise de Acidez Total.....	38
5.4 Teor alcoólico .....	38
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>39</b>
6.1 Fermentação do Jun Base .....	39
6.1.1 Potencial hidrogeniônico (pH).....	39

<b>6.1.2 Sólidos Solúveis .....</b>	<b>40</b>
<b>6.1.3 Acidez Total e Teor Acético .....</b>	<b>41</b>
<b>6.2 Fermentação Alcoólica .....</b>	<b>42</b>
<b>6.2.1 Preparo da fermentação.....</b>	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
<b>6.2.2 Potencial hidrogeniônico (pH) .....</b>	<b>42</b>
<b>6.2.3 Sólidos Solúveis .....</b>	<b>43</b>
<b>6.2.4 Acidez total e Teor Acético .....</b>	<b>46</b>
<b>6.2.5 Teor Alcoólico (°GL) .....</b>	<b>47</b>
<b>7 APRESENTAÇÃO FINAL DO PRODUTO .....</b>	<b>49</b>
<b>8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>50</b>
<b>9 CONCLUSÃO .....</b>	<b>51</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Devido a crescente necessidade do consumidor por novos produtos com apelo mais saudável, reduzido em calorias, de rápido e fácil consumo, o mercado de bebidas alcoólicas renovou-se ao apresentar alternativas que se encaixam com êxito em tais demandas. As opções que são consideradas leves ou com reduções calóricas totais, ou em açúcar, se apresentam como uma alternativa para o consumidor preocupado com o seu bem-estar, onde 63% dos respondentes, em pesquisa feita pela Mintel, afirmam que o bem-estar físico é uma das razões para manter os hábitos alimentares saudáveis e 52% atribuem os motivos ao bem-estar mental e emocional (TENDÊNCIAS EM ALIMENTAÇÃO SAUDÁVEL BRASIL, 2021; MASTERSENSE 2022). Dessa forma, o mercado de bebidas alcoólicas está se diversificando para oferecer produtos com menores teores alcoólicos e incentivando um consumo mais consciente, já que o cuidado com a saúde é um dos motivos para quase 53% das pessoas consumirem menos bebidas alcoólicas (MASTERSENSE, 2022).

Dentre elas, se destacam as bebidas conhecidas como *hard seltzer* e a *hard kombucha*. A primeira se apresenta em uma mistura de água gaseificada saborizada com álcool (a base de cana ou cereais) e a segunda na kombucha com teor alcoólico acima de 0,5% até 8% (v/v) (BRASIL, 2019) ou àquela em que houve adição de leveduras exógenas para a formação de álcool, segundo o Kombucha Brewers Internacional (KBI, 2021). De janeiro a outubro de 2020, o mercado de Hard Seltzers movimentou US\$3,2 bi nos EUA, apresentando um crescimento de 188% em relação ao ano anterior e o quarto seguido com crescimento de três dígitos, segundo a consultoria Nielsen (CNN BRASIL BUSINESS, 2021). Entre os anos de 2017 e 2019, o segmento de kombucha alcoólica apresentou um crescimento de US\$10,3 mi (MARKET WATCH, 2020) chegando a ser considerada A bebida de 2020 (FORBES, 2020).

Kombucha é uma bebida fermentada probiótica produzida através da fermentação de um mosto à base de chá de folhas da espécie *Camellia Sinensis*, usualmente chá verde ou preto, adoçado. Para que a fermentação ocorra, é necessária a inoculação de uma cultura simbiótica de bactérias acéticas, ácido-láticas e leveduras chamada de “SCOBY” (*Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast*) através de um chá já fermentado junto com a cultura ou somente com o chá fermentado, também conhecido como “chá de arranque”. (VILARREAL-SOTO *et al*, 2018).

Por se tratar de um processo fermentativo complexo, diversos fatores envolvidos podem ser alterados com o intuito de modular o resultado final alcançado na bebida. Tais fatores incluem a temperatura, pH, quantidade de oxigênio, fonte de carbono, geometria do fermentador, a composição microbiológica da cultura, a qualidade e processamento da matéria-

prima, entre outros. (VILARREAL-SOTO *et al*, 2018; MARSH *et al*, 2014). Através da mudança da fonte de carbono e forma de processamento do chá utilizada para adoçar e preparar o mosto pode-se encontrar outras formas da bebida que também são bastante conhecidas na comunidade de bebidas fermentadas, porém pouco estudadas a nível científico. Ao variar o mosto fermentativo para um suco de frutas adoçado (mantendo-se a inoculação de uma cultura prévia e chá de arranque), por exemplo, resulta-se na bebida conhecida como Kombucha do Himalaia (PORTAL PROBIÓTICOS). Fixando-se somente a utilização do chá verde e usando o mel de abelhas para adoçar o meio, encontra-se uma bebida mais leve, menos ácida e que carregará as propriedades vindas do mel, sendo conhecida como Jun (RANA *et al*, 2021).

O mel (*Apis mellifera* L.) é um produto alimentício produzido por abelhas meliponíneas e é bastante conhecido e apreciado por sua qualidade nutricional graças à presença de minerais, vitaminas, antioxidantes e propriedades medicinais; por sua doçura e sabores característicos que atrai cada vez mais consumidores (ESCOBAR & BLANCHES, 2013; MACEDO, 2007). Apesar do uso do mel como fonte de carbono para a fermentação do Jun poder desagradar o público vegano, ainda representa uma ótima forma de substituição ao açúcar refinado comum graças ao seu caráter mais nutritivo e saudável (GOMES, 2021). Dessa forma, a bebida resultante contará com todos esses benefícios advindos dessa fonte.

A acerola (*Malpighia glabra* L.) é uma fruta tropical cultivada comercialmente no Brasil desde meados dos anos 80, principalmente na região Nordeste onde se destaca os estados: Pernambuco, Paraíba, Bahia e Ceará. (RITZINGER & PRATA, 2011; CODEVASF, 2003). Na fruta pode-se encontrar vitamina C (ácido ascórbico) e antocianina (pigmento presente na casca), tornando-a rica em antioxidante, fonte razoável de pró-vitaminas A, excelente fonte de carotenóides e, além disso, é considerada como um alimento de baixo valor calórico, o que a torna ainda mais procurada no mercado. (RITZINGER & PRATA, 2011; AGOSTINI-COSTA *et al* 2003)

Quando se trabalha com produtos alimentícios fermentados é necessário que haja o controle dos microrganismos presentes desde o processo de fermentação, condições ambientais, condições de operação até o produto final que terá contato direto com o consumidor. Existem diversas formas de se controlar a quantidade ou espécies de microrganismos, sendo um deles o tratamento térmico, ou conservação pelo emprego de altas temperaturas. A exposição a altas temperaturas para a conservação dos alimentos está fundamentada nos efeitos deletérios (desnaturação de proteínas e a inativação de enzimas necessárias ao metabolismo) que o calor tem sobre os microrganismos (FRANCO & LANDGRAF, 2008). O processo pode ocorrer na

forma de cozimento, fervura ou torrefação tanto a nível industrial quanto doméstico (FORSYTHE, 2013).

Para a formação do teor alcoólico superior a 0,5% (v/v), presente na Legislação Brasileira, e seguindo a fundamentação do KBI, será adicionada mais uma etapa de fermentação ao processamento da bebida, sendo que esta será focada na geração de álcool. De tal forma que o desenvolvimento do Jun alcoólico saborizado com acerola apresente todas as características que estão em tendência no mercado de bebidas alcoólicas e conste com a originalidade de uma bebida ainda não comercializada. A sua criação também foi pensada para utilizar insumos produzidos na região local com o intuito de valorizar os seus produtores. Além da sua produção, o estudo tem como objetivo a sua caracterização físico-química e suas mudanças através dos tratamentos térmicos fornecidos à bebida base.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Produzir Jun alcoólico saborizado com polpa de acerola (*Malpighia glabra* L.) e analisar possíveis alterações físico-químicas no produto submetido a diferentes tratamentos térmicos.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Adaptar uma cultura de kombucha para fermentação utilizando mel como fonte de carbono.
- Realizar o acompanhamento cinético da fermentação base do jun (sólidos solúveis, pH, acidez total e teor acético);
  - Realizar ensaios de tratamento térmico do jun base (fervura e pasteurização)
  - Realizar o acompanhamento cinético da fermentação alcoólica do jun (sólidos solúveis, pH, acidez total, teor acético e teor alcoólico) para cada um dos ensaios;
- Produzir um Jun alcoólico sem tratamento térmico para controle;
- Saborizar o Jun base utilizando polpa de acerola;
- Identificar o teor alcoólico final para cada ensaio finalizado;

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Kombucha

A infusão de ervas na forma de chá é considerada uma das mais antigas formas de medicina, sendo utilizada há, pelo menos, 5000 anos na China e posteriormente levada ao continente europeu através exploradores portugueses e holandeses (DUFRESNE & FARNWORTH, 2000; HOLLMAN *et al*, 1996). O seu consumo tinha como finalidade principal o proveito das propriedades estimulantes e antioxidantes na eliminação do álcool e outras toxinas, melhora da circulação, alívio de dores articulares e aumento da imunidade (DUFRESNE & FARNWORTH, 2000; BALENTINE *et al*, 1997). Além disso, se tornou tão popular que é considerado a segunda bebida mais popular, perdendo somente para a água (YANG & WANG, 1993).

Além do consumo direto do chá, foi também na China que se desenvolveu outra forma de consumo medicinal de uma bebida à base de chá adoçado fermentado: a kombucha. Apesar de incerta, a sua origem é atribuída à meados de 220 A.C. no decurso da Dinastia Tsin graças às suas propriedades desintoxicantes e energizantes (DUFRESNE & FARNWORTH, 2000; ROCHE, 1999). Porém, foi através do médico chamado Kombu que, ao levar a bebida da Coreia ao Japão e curar os problemas digestivos do Imperador Inkyo, seu nome foi atribuído como “Chá de Kombu” ou “Kombuchá”( DUFRESNE & FARNWORTH, 2000; GOMES, 2021).

Na Tabela 1 encontra-se diferenças básicas entre propriedades do chá verde comum e o fermentado:

**Tabela 1** - Comparação entre chá verde fermentado e não fermentado

<b>Chá verde fermentado</b>	<b>Chá verde não fermentado</b>
É processado através da fermentação utilizando a cultura simbiótica de bactérias e fungos (SCOBY)	Não é processado por fermentação
Vitamina B, antibióticos e probióticos	Antioxidantes
Fornecer um ambiente rico em ácido acético e ácido glucônico, responsáveis pelo melhor funcionamento das catequinas	Não fornece um ambiente rico em ácidos acético e glucônico
Maior bioatividade	Nível de bioatividade médio
Exemplos: Kombucha, Jun	Exemplos: Chá verde

**Fonte:** RANA *et al*, 2021. Adaptado

A kombucha é obtida através da fermentação simbiótica de bactérias ácido-láticas, acéticas e leveduras na forma de biofilme, chamado de “SCOBY” (*Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast*), inoculado no chá de *Camellia sinensis* (verde ou preto) adoçado. A bebida pronta se apresenta com um sabor levemente ácido, frizzante, carbonatado e refrescante, semelhante aos espumantes. Além disso, é probiótica e na sua composição encontra-se uma série de aminoácidos, vitaminas, ácidos, antioxidantes, propriedades antimicrobianas, anticancerígenas e hepatoprotetora (protege contra lesões e doenças que acometem o fígado) que auxiliam no bem-estar dos consumidores (VILARREAL-SOTO *et al*, 2018; MALBASA *et al*, 2011; GOMES, 2021).

De acordo com a Instrução Normativa (IN) Nº 41, de 17 de setembro de 2019:

“A Kombucha é a bebida fermentada obtida através da respiração aeróbia e fermentação anaeróbia do mosto obtido pela infusão ou extrato de *Camellia sinensis* e açúcares por cultura simbiótica de bactérias e leveduras microbiologicamente ativas (SCOBY)”

Para sua comercialização no mercado nacional é necessário que determinados parâmetros físico-químicos sejam adequados e controlados para a segurança alimentar do consumidor. Para tal, esses parâmetros analíticos também se encontram expressos na IN N° 41 e estão expostos na Tabela 2:

**Tabela 2** - Parâmetros analíticos para Kombucha comercializada no Brasil

<b>Parâmetro</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
<b>pH</b>	2,5	4,2
<b>Graduação</b>		
<b>alcoólica (% v/v) – kombucha não alcoólica</b>	-	0,5
<b>Graduação</b>		
<b>alcoólica (% v/v) – kombucha alcoólica</b>	0,6	8,0
<b>Acidez volátil (mEq/L)</b>	30	130
<b>Pressão (atm a 20°C) na kombucha adicionada de CO<sub>2</sub></b>	1,1	3,9

Fonte: Instrução Normativa N° 41, de 17 de setembro de 2019. Adaptado

### 3.2 Jun

Graças a sua produção milenar, diversas adaptações e diferentes formas de processamento foram testadas e, atualmente, pode-se encontrar diversas formas de apresentação para a kombucha, sendo que o Jun (chá verde fermentado adoçado apenas com mel) e a Kombucha do Himalaia (sucos adoçados fermentados com inóculos de SCOBY) possuem relatos tão antigos quanto a própria kombucha, apesar de pouco estudados e documentados. Na Tabela 3 encontram-se expressas diferenças básicas entre o Jun e a Kombucha:

**Tabela 3 - Diferenças entre Jun e Kombucha**

<b>Jun</b>	<b>Kombucha</b>
É preparado apenas usando chá verde	Pode ser utilizado chá verde ou preto
É fermentado usando apenas mel natural como fonte de carbono	É fermentado usando variações de açúcar de cana de açúcar
O SCOBY é “treinado” para se alimentar apenas de mel como fonte de carbono	Não é necessário adaptações específicas para o SCOBY
Bebida final menos ácida e mais suave	Bebida ácida

**Fonte:** RANA *et al*, 2021. Adaptado.

Com a popularização e desenvolvimento a nível industrial da bebida tornou-se necessário o estabelecimento de algumas regras e parâmetros para sua caracterização e devida segurança de consumo. A nível internacional, através do *Code of Practice*, elaborado pela *Kombucha Brewers Internacional* (KBI), versão 2.2 (Junho, 2022), a kombucha pode ser classificada como:

**Tabela 4 - Classificação de kombuchas**

<b>Tipo de Kombucha</b>	<b>Requisitos</b>
Jun kombucha	Somente mel natural pode ser usado como fonte de açúcar
<i>Honey</i> kombucha	Somente mel pasteurizado pode ser usado como fonte de açúcar
<i>Herbal</i> kombucha	Máximo de 20% das infusões são ervas
<i>Coffee</i> kombucha	Máximo de 20% das infusões são de café
<i>Yerba Mate</i> kombucha e <i>Yaupon</i> kombucha	Máximo de 20% das infusões são de erva Mate ou chá pos apalaches
<i>Hard</i> kombucha	Kombucha adicionada de leveduras para elevar a produção de etanol
<i>Processed</i> kombucha	Kombucha produzida industrialmente
<i>Wild</i> kombucha	SCOBY e <i>starter</i> (chá fermentado) naturais, não desenvolvidos em laboratório

**Fonte:** Kombucha Brewers International, 2022. Adaptado.

Tal como previamente apresentado, de acordo com a classificação presente na Tabela 4, o presente estudo se propôs a produzir uma *Hard* Jun kombucha.

### 3.3 Composição química e microbiológica presentes na kombucha

Graças à multiplicidade de fatores envolvidos na produção da kombucha, tais como: variedade nas fontes (e suas concentrações) de carbono, ervas e inóculo, tempo de fermentação, geometria do fermentador, temperatura, entre outros; também haverá diversidade na sua composição química e microbiológica, o que indica que nem sempre a via metabólica ocorre da mesma forma. Qualquer alteração nas condições de fermentação podem afetar no produto final (VILLARREAL-SOTO *et. al.*, 2018). Porém os componentes e metabólicos principais, tal

como sua composição média e tempo de fermentação de acordo com a quantidade inicial de sacarose, encontram-se na Tabela 5 abaixo:

**Tabela 5** – Composição química geral da kombucha

<b>Grupo</b>	<b>Composto</b>	<b>Composição média</b>	<b>Sacarose Inicial</b>	<b>Tempo de Fermentação (dias)</b>
Ácidos Orgânicos	Ácido acético	5,6 g/L	70 g/L	15
	Ácido acético	8,36 g/L	100 g/L	18
	Ácido acético	11 g/L	100 g/L	30
	Ácido Glucônico	39 g/L	100 g/L	60
	Ácido Glucônico	0,0160 g/L	70 g/L	21
	Ácido Lático	0,18 g/L	100 g/L	18
Vitaminas	Vitamina B1	0,74 mg/mL	70 g/L	15
	Vitamina B2	0,08 mg/mL	70 g/L	10
	Vitamina B6	0,52 mg/mL	70 g/L	15
	Vitamina B12	0,84 mg/mL	70 g/L	15
	Vitamina C	0,03 mg/mL	70 g/L	10
Outros	Etanol	5,5 g/L	100 g/L	20
	Proteínas	3 g/L	100 g/L	12
Minerais	Cu, Fe, Mn, Ni,Zn	0,1 a 04 µg/mL	70 g/L	15
Ânions	F, Cl, Br, I	0,04 a 3,20 mg/g	100 g/L	7

**Fonte:** VILLARREAL-SOTO *et. al.*, (2018), GOMES (2021)

Apesar de ser marcada pela predominância de ácido acético (ácido carboxílico), outras formas ácidas foram identificadas. Dentre elas, pode-se destacar os ácidos orgânicos: ácidos málico, glucônico, glicurônico, cítrico e o tartárico. Ao ácido acético é atribuído o caráter antimicrobiano do chá fermentado e o maior marcador do seu aroma. Para as formas orgânicas se atribui o caráter medicinal, ajudando a combater problemas de envelhecimento e diabetes (AHMED, 2020; GOMES, 2021).

Assim como o perfil químico, não é possível afirmar com precisão todos os microrganismos que estarão presentes na kombucha pronta, já que estes variam de acordo com as condições fermentativas, como previamente citado. Porém, como também descrito para o perfil químico, diversos estudos foram capazes de caracterizar espécies comuns na maioria das

culturas do fermentado (CHAKRAVORTY *et al*, 2016; COTON *et al*, 2017; REVA *et al*, 2015). Os microrganismos se encontram dispersos no mosto e aglomerados no SCOBY. Esta terminação foi designada por Lean Porzio, em 1990, como acrônimo para *Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast*, e representa o biofilme gelatinoso que se forma a cada nova fermentação na superfície do mosto (VILLARREAL-SOTO *et. al.*, (2018), GOMES (2021).

As leveduras que predominam na cultura da kombucha são: *Schizosaccharomyces pombe*, *Brettanomyces bruxellensis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces rouxii*. Entretanto também são encontradas espécies de *Candida*, *Kloeckera/Hanseniaspora*, *Torulaspora*, *Pichia*, *Brettanomyces/Dekkera*, *Lachancea*, *Saccharomycoides*, *Schizosaccharomyces* e *Kluyveromyces* (CHAKRAVORTY *et al*, 2016; COTON *et al*, 2017; MARSH *et al*, 2014; VILLARREAL-SOTO *et. al*, 2018).

### 3.4 Fermentação

#### 3.4.1 Fermentação Base

A fermentação do chá da *Camellia Sinensis* para a formação de kombucha pode ocorrer de formas variadas a depender do resultado final buscado e das condições disponíveis para o processo, podendo ser a nível caseiro ou até escalonado para nível industrial. Porém, certos parâmetros devem ser respeitados para se adequar aos padrões exigidos por lei. (BRASIL, 2019)

Dufresne e Farnworth (2000) descrevem uma forma padrão para o desenvolvimento da operação (adaptado por JAYABALAN *et al*, 2014; KBI, 2022): folhas do chá são adicionadas à água fervente na proporção de 5 a 10g/L, devem permanecer em infusão por 10 min, após este período o chá é filtrado, recebe a fonte de açúcar na proporção média de 50g/L e deve ser resfriado até atingir temperatura ambiente; o chá adoçado, à temperatura ambiente, é levado para um recipiente (capaz de receber a fermentação sem afetá-la) devidamente higienizado e o inóculo é adicionado para acidificar o meio podendo ser na forma de vinagre, kombucha pronta de outra fermentação (na proporção de 10-20%, também chamado de líquido *starter*) ou kombucha com SCOBY (na proporção de 24g/L); para finalizar o processo, o recipiente deve ser tampado com um pano poroso esterilizado.

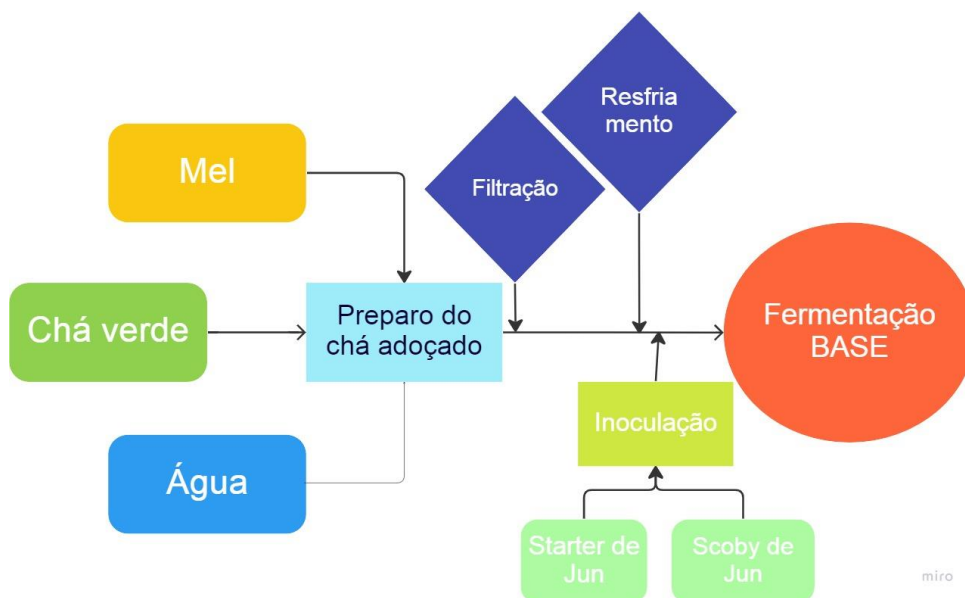
A fermentação pode ocorrer à temperatura ambiente durante 1 a 8 semanas (DUFRESNE & FARNWORTH, 2000), 14 dias (GAGGIA *et al*, 2019; RANA *et al*, 2021) ou até 7 a 14 dias (JAKUBCYK *et al*, 2020; RANA *et al*, 2021). O tempo de fermentação

dependerá principalmente da temperatura de fermentação, a forma de inóculo utilizada e a preferência pessoal do produtor. Rana *et al* (2021) apresenta uma revisão de metodologias estudadas para a fermentação.

Durante a fermentação, a habilidade de sintetizar a película de biofilme, formada na superfície do mosto, é atribuída às bactérias *Acetobacter xylinum* e graças a este comportamento a simbiose entre as bactérias e leveduras é favorecida, sendo ainda estimulado pela cafeína e xantínas provenientes da infusão do chá (BALENTINE *et al*, 1997). As leveduras são responsáveis por clivar as moléculas de sacarose em frutose e glicose, através da enzima invertase, e produzir etanol (REISS, 1994; DUFRESNE & FARNWORTH, 2000). As bactérias acéticas convertem glicose em ácido glucônico e frutose em ácido acético. Este ácido ainda estimula as leveduras a produzir etanol o que auxilia as bactérias acéticas a se desenvolverem e produzirem mais ácido acético. Tanto o etanol quanto o ácido acético possuem atividade antimicrobiana contra bactérias patogênicas, o que protege o meio contra contaminação (LIU *et al*, 1996; DUFRESNE & FARNWORTH, 2000).

Na Figura 1 está representado o fluxograma padrão simplificado para a fermentação base adaptada para o processo deste estudo:

**Figura 1**– Fluxograma para produção do Jun base



Fonte: O autor, 2023

### 3.4.2 Fermentações Adicionais

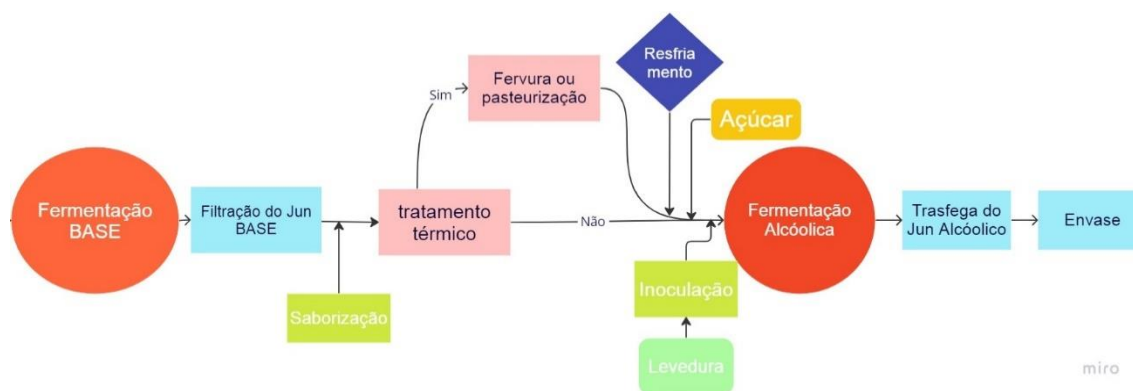
Terminada a fermentação base, a bebida já se encontra pronta para consumo, porém é comum que novas etapas sejam aplicadas para a formulação mais refinada do produto. As etapas mais comuns a serem aplicadas são a carbonatação e saborização do fermentado base,

podendo ser consideradas como novas fermentações graças às mudanças geradas no meio rico em microrganismos. A etapa de saborização consiste na adição de novos insumos para incorporação de novas características como: sabor, gaseificação, cor e até propriedades benéficas presentes nos insumos. A etapa de carbonatação, que pode ser realizada com saborização ou não, tem o intuito principal de agregar gás carbônico (gaseificar), metabólito da fermentação alcoólica, à bebida e ocorre em meio anaeróbico. A gaseificação também pode ser forçada através da utilização de cilindros de CO<sub>2</sub> (SILVA, 2021).

Segundo o *Code of Practice* (2022), para a devida formulação de uma bebida alcoólica à base de chá fermentado, é indicado a adição de mais uma fermentação do mosto base já fermentado. Esta nova fermentação tem por característica a adição de leveduras externas ao meio base, anaerobiose do meio e adição de novos açúcares para o metabolismo das leveduras. Até o presente momento, poucos trabalhos analisaram a co-fermentação entre leveduras comerciais e os microrganismos presentes na cultura da kombucha. Silva (2021) estudou a formulação e caracterização de uma *hard kombucha* (4,4%, v/v) saborizada com frutas vermelhas, sua aplicação no mercado nacional e análise sensorial, resultando na aceitação global média de 4,0 em escala hedônica de 1 a 5. Cardoso *et al* (2021) estudou a influência da adição de kombucha na co-fermentação de cerveja tipo *sour* associada com levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae*, resultando num produto com aceitação global de 6,82 em escala hedônica de 1 a 9 e 2,6% (v/v) de teor alcoólico. Ambos estudos resultaram em bebidas com teor de acidez elevada, sinalizadas pelo público avaliado na análise sensorial e pelos autores.

Na Figura 2 estão representadas as etapas que sucederão o tratamento do Jun base fermentado:

**Figura 2–** Fluxograma do processamento do Jun base



**Fonte:** o Autor, 2023

### 3.4.3 Mel

Produzido por abelhas meliponíneas, o mel é um produto alimentício bastante conhecido por seu sabor e cor característicos, além do seu valor nutricional. Ademais, sua alta qualidade nutricional atrai cada vez mais consumidores graças à presença de minerais, vitaminas, propriedades medicinais e alto valor energético (MACEDO, 2007). A sua composição química, coloração, aroma e propriedades fitoterápicas, relacionam-se diretamente com a fonte de néctar, espécie de abelhas, zonas geográficas e condição climática que o produziu. É indicado para curar fadigas físicas e mentais, no tratamento de tosse, lesões gástricas agudas e crônicas, possui efeito antioxidante, imunológico, anti inflamatório, sedativo, analgésico, expectorante e como agente tópico apresentando efeito antimicrobiano (ESCOBAR & XAVIER, 2013).

É basicamente classificado como mel verde (mel com excesso de água e que ainda não recebeu inversão de açúcares suficiente por ação enzimática) e mel maduro (devidamente pronto, denso, assimilado e desidratado) (ESCOBAR & XAVIER, 2013). Pereira (2007) apresenta outras formas mais específicas de classificação.

O aroma e sabor do mel estão diretamente ligados a sua cor, da forma que quanto mais escuro mais rico será em minerais, sabor e aroma. O mel claro apresenta taxa de minerais, sabor e aromas mais baixos. A cor do mel e, conseqüentemente, suas propriedades dependem da origem floral, fator climático durante o fluxo do néctar e temperatura durante o amadurecimento do mel dentro da colméia. O sabor pode variar do doce suave ao doce forte, apresentando acidez ou amargor. A acidez se fundamenta já que, na sua composição, o mel contém ácidos glucônicos, cítricos, málico e porções menores de fórmico, acético, entre outros (SILVA, 2005).

No Brasil a diversificação da flora, extensão da territorial e variabilidade climática permitem que a produção nacional do mel seja um grande referencial mundial, devido ao fato de poder ser produzido durante todo o ano, ao invés de outros locais no mundo que permitem apenas uma colheita por ano. Apesar desse potencial, é predominantemente de base familiar, gerando renda adicional ao produtor, já que a sua produção exige baixo custo de investimento, não requer dedicação exclusiva e, como previamente mencionado, capacidade de produção durante todo o ano (GOMES, 2021). No panorama nacional, as regiões Nordeste e Sul destacam-se como as maiores produtoras de mel orgânico, no ano de 2021, atingindo 854.416 Mil Reais, mais de 55 toneladas produzidas e com destaque ao Rio Grande do Sul como maior produtor do país, e na região Sul, e o Piauí como terceiro nacional e maior da região Nordeste.

A Tabela 6 apresenta os componentes nutricionais e suas proporções no mel de abelhas européias (*Apis mellifera* L.):

**Tabela 6** - Composição nutricional do mel de abelhas (*Apis mellifera* L.)

<b>Componentes nutricional</b>	<b>Medias</b>
Água (%)	17,2
Frutose (%)	38,19
Glicose (%)	31,28
Sacarose (%)	0,6
pH	3,91
Cinzas (%)	0,169

**Fonte:** SOUZA et. al., (2017), GOMES (2021).

Através do estudo do perfil de açúcares na kombucha, foi demonstrado que o conteúdo de frutose foi menor que o da glicose (metabólitos da clivagem da sacarose), em todas as temperaturas de fermentação, sugerindo que a frutose é a fonte de carbono preferencial da cultura inoculada (NEFFE-SKOCINSKA *et al*, 2017; SILVA, 2021).

A legislação (Brasil, 2017) estabelece que:

“mel é o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre as partes vivas de plantas que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam maturar nos favos dacolmeia”

#### **3.4.4 Polpa de acerola**

A aceroleira é uma frutífera nativa das Ilhas do Caribe, Américas Central, Norte e Sul. Pertence à família *Malpighiaceae*, gênero *Malpighia*, é uma planta arbustiva de hábito de crescimento variante entre prostrado a ereto, com copa aberta ou compacta, podendo atingir entre 2,5 a 3 metros de altura, quando adulta (ARAÚJO & MINAMI, 1994). O cultivo comercial no Brasil começou na década de 80 principalmente na região Nordeste, atualmente responsável por 64% da produção nacional (CAMPO & NEGÓCIOS, 2020), destacando-se os estados de Paraíba, Pernambuco, Bahia e Ceará; a maior parte da produção é deslocada para indústrias de processamento e exportada na forma de polpa, frutos congelados ou suco integral para diversos países da Europa, Japão, Estados Unidos e Antilhas. Estes mercados exigem particularidades no controle físico-químico do produto que é exportado, por exemplo, os

mercados europeus exigem acerola com teor de sólidos solúveis totais e mínimos equivalente a 7,0 °Brix, os japoneses a 7,5 °Brix (RITZINGER *et al*, 2011).

Na Tabela 7 encontra-se mais informações disponíveis sobre a produção nacional de acerola no Brasil:

**Tabela 7 - Produção de acerola no Brasil**

<b>Valor da produção</b>	91.627 Mil Reais (2017)
<b>Quantidade Produzida</b>	60.966 Toneladas (2017)
<b>Área colhida</b>	5.753 Hectares (2017)
<b>Maior produtor</b>	Pernambuco (2017)

**Fonte:** IBGE, 2017

Além de uma excelente fonte de vitamina C (ácido ascórbico), 40 a 80 vezes mais do que o suco de limão ou laranja, a acerola também é fonte de pró-vitaminas A, vitaminas do complexo B (B1, B2 e B3), minerais (Cálcio, Ferro, Magnésio, Manganês e Fósforo). Apresenta ainda baixo valor calórico, em 100 gramas de fruta encontra-se o equivalente a 49 calorias apenas. Geralmente apresenta um sabor ácido e adstringente (RITZINGER *et al*, 2011; IMEN).

A fruta é consumida e comercializada em diversas formas, é utilizada na fabricação de produtos como geléias, néctares, conservas, geléias, licores, vinhos, sorvete, produtos processados, na indústria farmacêutica, entre diversas outras, entretanto sua maior comercialização é na forma de polpa e suco pasteurizados. De acordo com a Instrução Normativa nº 01, de 07 de Janeiro de 2000, esses produtos devem seguir padrões de identidade e qualidade, expostos na Tabela 8 (BRASIL, 2000):

**Tabela 8 - Padrão de comercialização de polpa de acerola**

<b>Cor</b>	Variando de amarelo ao vermelho	
<b>Sabor</b>	Ácido	
<b>Aroma</b>	Próprio	
	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
<b>Sólidos Solúveis em °Brix, a 20°C</b>	5,5	-
<b>Acidez total expressa em ácido cítrico (g/100g)</b>	0,8	-
<b>Ácido Ascórbico (mg/100mg)</b>	800,0	-
<b>Açúcares totais naturais da acerola (g/100g)</b>	4,00	9,5
<b>Sólidos Totais (g/100g)</b>	6,5	-
<b>PH</b>	2,80	-

**Fonte:** Brasil, 2000

### 3.4.5 Tratamento Térmico

O trabalho para garantir a segurança alimentar é de difícil execução devido a complexidade e diversificação das fontes alimentares dos seres humanos. O que ocorre é uma abordagem sistemática que atua em minimizar a contaminação (até um certo nível aceitável de risco) em todos os estágios do seu processamento até o seu consumo (FORSYTHE, 2013).

Há relatos do consumo de produtos fermentados de leite, carnes e vegetais desde as primeiras civilizações do Oriente Médio, desta forma a fermentação é considerada um dos meios mais antigos no processamento de alimentos. Esses alimentos são altamente colonizados por leveduras e bactérias (a depender de cada produto analisado) e, até o presente momento, não há riscos associados ao seu consumo para saúde. Ao conduzir uma fermentação, ou seja, um processo que exige o bom desenvolvimento e atividade de microrganismos é necessário que haja o controle refinado de todas as condições intrínsecas ao mosto e seu ambiente fermentativo (condições extrínsecas) (FORSYTHE, 2013).

A capacidade de multiplicação ou até de sobrevivência dos microrganismos presentes em alimentos dependem de fatores intrínsecos (características próprias do alimento) e extrínsecos (relacionados ao meio externo no qual o alimento se encontra presente) (FRANCO

& LANDGRAF, 2008). Para a segurança dos alimentos fermentados, os fatores mais importantes são: sua acidez (proveniente da produção de ácido láctico), a presença de bacteriocinas, altas concentrações de sais e ambiente anaeróbico (FORSYTHE, 2013).

Com o objetivo de controlar o processo fermentativo, métodos de conservação podem ser aplicados ao processo ou diretamente ao produto. Esses podem ser aplicados com o intuito de aumentar a vida de prateleira ao impedir o acesso de patógenos ao alimento, inativar qualquer patógeno que tenha conquistado acesso e prevenir ou reduzir a multiplicação de patógenos; ou impedir que a fermentação continue acontecendo no produto pronto. Os métodos que inibem ou previnem a multiplicação de microrganismos são: congelamento, secagem, cura, embalagens à vácuo, resfriamento, entre outros. Os que inativam os microrganismos, por exemplo, são a pasteurização, esterilização e a irradiação. De forma geral, podem ser aplicados métodos físicos ou químicos com ambos objetivos. (FORSYTHE, 2013).

A conservação, através de métodos físicos, por tratamento térmico pode ocorrer na forma de cozimento, fervura ou torrefação a nível caseiro ou industrial e causarão mudanças físico-químicas no meio a tal ponto que causa a destruição de bactérias, toxinas e organismos causadores de deterioração, porque esses são sensíveis à temperatura alta. Sendo assim, o tratamento térmico de alimentos pode tanto prolongar a vida de prateleira como reduzir o número de bactérias patogênicas que podem estar presentes. De forma simplificada, os tratamentos aplicados por essa rota serão na forma de aumento da temperatura do meio durante um certo tempo determinado, as variáveis serão aplicadas na determinação da relação temperatura *versus* tempo. Essa relação dependerá do meio e dos possíveis contaminantes. (FORSYTHE, 2013).

A Tabela 9 apresenta relação de temperatura *versus* tempo para uma variedade de produtos, o principal objetivo do tratamento térmico e efeitos secundários:

**Tabela 9** - Tempo de pasteurização e regimes de temperatura

<b>Alimentos</b>	<b>Processo de pasteurização</b>	<b>Principal objetivo</b>	<b>Efeitos secundários</b>
<b>Leite</b>	63 °C, 30min 71,5 °C, 15s	Destruir patógenos	Destrói microrganismos deterioradores
<b>Ovo líquido</b>	64,4 °C, 2,5min 60 °C, 3,5min	Destruir patógenos	Destrói microrganismos deterioradores
<b>Sorvete</b>	65 °C, 30min 71 °C, 10min 80 °C, 15s	Destruir patógenos	Destrói microrganismos deterioradores
<b>Suco de fruta</b>	65 °C, 30min 77 °C, 1min 88 °C, 15s	Inativar as enzimas: pectina esterase e poligalacturonase	Destrói fungos e leveduras deterioradores
<b>Cerveja</b>	65-68 °C, 20min (na garrafa) 72-75 °C, 1-4min (900-10000 kPa)	Destruir os microrganismos deterioradores: leveduras e bactérias ácido-láticas	
<b>Vinagre</b>	75-80 °C, 30-40s 50-65 °C, 20-30min	Baixa temperaturas: inativação de enzimas	Altas temperaturas: destruição dos microrganismos

**Fonte:** FORSYTHE, 2013. COSER *et al.* Adaptado.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Adaptação da colônia para fermentação com mel e proporções utilizadas na fermentação base

Com o intuito de otimizar a rota fermentativa dos microrganismos utilizando o mel de abelhas como fonte de açúcar, o primeiro passo tomado foi a adaptação de um SCOBY de Jun e um líquido *starter* adequado. Para tal, foi utilizado partes iguais de: chá de arranque de kombucha (cultivada pelo autor) e chá verde fresco resfriado (preparado na proporção de 8g de folhas de chá a cada litro de chá fresco produzido) adoçado com mel na proporção de 120g/L (em relação ao volume de chá fresco); de tal forma que usou-se 250mL de cada, logo, uma batelada de 500mL. Este processo foi repetido por três vezes e a cada nova batelada foi aumentado o volume de chá verde fresco em 500mL, ou seja, 1L e 1,5L total na segunda e terceira batelada, respectivamente. Entretanto manteve-se fixo 250mL de *starter*, com a ressalva de que o líquido utilizado passou a ser o fermentado das bateladas anteriores, e as demais proporções de insumos. Para a seleção da proporção de chá verde seguiu-se TORÁN-PEREG, et. al. (2021), para a margem de adição de líquido *starter* seguiu-se Dufresne e Farnworth (2000) e a duração de cada batelada foi fixada em 5 dias à temperatura ambiente, tempo suficiente para a formação de um SCOBY com espessura aproximada de meio centímetro (na primeira batelada) e a presença de sabor e cheiro ácidos característicos. O peso final da película de biofilme formada será exposto posteriormente.

### 4.2 Metodologia para a produção de cada batelada

A metodologia utilizada para a produção de todas as bateladas seguiu o mesmo padrão e proporção com a devida adaptação em relação ao volume produzido. Em termos quantitativos, para a produção da primeira batelada de adaptação, 300mL de água proveniente da torneira foi fervida por 3 minutos (volume considerando a perda no processo de fervura), as folhas foram adicionadas ainda na fonte quente por mais 2min, para garantir uma maior esterilização das ervas e da água.. Transcorridos os 5 minutos totais, desligou-se o aquecimento e as ervas permaneceram 15 minutos em infusão. Ainda quente, 250mL do chá foi filtrado, trasfegado para um biorreator de vidro de 2L de capacidade e, após leve resfriamento, foi adicionado 60g de mel e o líquido foi vividamente agitado com o intuito de dissolver todo o mel adicionado. Após atingir a temperatura ambiente, foi adicionado a alíquota de 250mL de chá *starter* ao chá

adoçado resfriado e o vidro foi “tampado” com duas folhas de papel toalha presas com um elástico. O biorreator ficou em ambiente escuro à temperatura ambiente por 5 dias.

Para as demais bateladas, os valores foram ajustados seguindo as proporções explicitadas no tópico anterior.

### 4.3 Fermentação do Jun Base

As folhas de chá verde utilizadas para a produção de todas as fermentações foram adquiridas em mercado local na cidade de João Pessoa-PB. O mel utilizado foi adquirido na Feira Agroecológica Ecovarzea realizada toda semana na UFPB como incentivo aos pequenos produtores da capital e interior do estado da Paraíba.

Após a devida adaptação da cultura microbiológica (*starter* e SCOBY), foi realizado o aumento de escala da fermentação do Jun Base para 9,5L de volume total, seguindo a metodologia exposta em 4.1.2 e proporções apresentadas em 4.1.

Para o preparo da fermentação foi utilizado:  $209,17 \pm 1$  g de SCOBY e 1,610 L de líquido *starter*, cultivados a partir das bateladas de adaptação, representando a proporção de 22g de biofilme e 16,95% de chá de arranque para cada litro total da batelada;  $63,42 \pm 1$  g de folhas de chá e  $949,8 \pm 1$  g de mel de abelhas verde para o preparo de 7,890 L de chá fresco. As características físico-químicas do inóculo estão apresentadas na Tabela 10:

**Tabela 10** - Características físico-químicas do inóculo (*starter*)

pH	°Brix	Cácido Acético (g/L)	Teor Acético (%)
2,71	6,2	9,0075	0,90075

Fonte: o Autor, 2023

Devido ao aumento da escala da produção, foi necessário outros equipamentos para realizar a batelada final e estes estavam disponíveis no Laboratório de Produtos Fermento-destillados (LPFD), local no qual foi realizado todo o procedimento e análises.

O volume de 9,5L do mosto adoçado, homogeneizado e inoculado foi alocado em biorreator com capacidade de 15 L e com uma torneira, na base, pela foi possível realizar as coletas para serem analisadas. Este então foi coberto com tecido voal preso ao fermentador de tal forma que houvesse o fluxo de ar livre entre o mosto e o meio, porém com a devida proteção física contra possíveis pragas como formigas e moscas, foi também alocado em ambiente escuro no laboratório. A torneira na base foi tampada com papel alumínio com o mesmo intuito.

Foram coletadas alíquotas de 50 mL do mosto base diariamente durante 5 dias. Ao final do quinto dia de fermentação, o Jun base foi armazenado em refrigerador, com temperatura

controlada para faixa de 2-4 °C, por dois dias até que o fornecedor das polpas pudesse entregar o produto. As amostras foram coletadas e analisadas no mesmo dia, os resultados serão descritos posteriormente. Na Figura 3 está representado o biorreator onde ocorreu a fermentação.

**Figura 3** - Biorreator usado na fermentação base



**Fonte:** o Autor, 2023

#### **4.4 Saborização**

A polpa de acerola foi adquirida através de um produtor local especializado em produzir polpas com formulação de 100% de frutas e sem nenhum aditivo de conservantes. Tal escolha foi pautada em produzir uma bebida com aspecto mais natural possível e sem a possível inibição, ou desaceleração, do processo fermentativo causada pela ação dos conservantes.

O processo de saborização foi feito através da adição direta das polpas no biorreator, em temperatura ambiente, do Jun base já sem a presença da película de biofilme e antes de realizar o tratamento térmico. Não foi feita a diluição da polpa em água para evitar diluir o mosto fermentado e favorecer o sabor mais concentrado da fruta. Desta forma, foram utilizadas 2 polpas (200g total), que em temperatura ambiente representaram o volume de 100mL, para cada litro de Jun, obtendo uma proporção de 10% (v/v) de polpa concentrada líquida em relação ao volume total.

**Figura 4** – Polpas de acerola (Malpighia emarginata)



**Fonte:** Fornecedor, 2023

#### 4.5 Tratamento térmico

Finalizado o procedimento de saborização do fermentado base, o volume total final foi de 9 L. Estes foram divididos em 3 partes iguais e duas delas foram submetidas a um tratamento térmico diferente que serão descritos ao longo deste tópico. A terceira parte foi considerada como controle e não passou por esta etapa adicional, será chamada de “*In Natura*”. Esta etapa adicional foi introduzida no estudo com o intuito de inativar os microrganismos selvagens provenientes da primeira fermentação para que não houvesse competição com as leveduras externas, que foram adicionadas na etapa seguinte com objetivo de realizar a fermentação alcoólica, e evitar o aumento da acidez do meio.

Uma das amostras foi submetida ao processo de pasteurização à temperatura de 65 °C durante 20 minutos, esta relação de temperatura e tempo foi escolhida por ser um ponto de interseção entre a metodologia aplicada para amostras de vinagre e de cerveja já que a amostra analisada neste trabalho é proveniente, majoritariamente, de uma fermentação acética (FORSYTHE, 2013. COSER *et al.*). Para realizar este procedimento foi utilizada uma panela cervejeira elétrica com controle de temperatura. Esta foi programada para a temperatura de 65°C e garrafas de vidro vazias, de 600mL de capacidade, foram colocadas no seu interior até atingir o equilíbrio térmico na referida temperatura. Após atingir o equilíbrio (aferido com termômetro digital infravermelho Dikang HG-01) a amostra foi dividida nas garrafas que logo em seguida foram lacradas com tampa metálica. As garrafas cheias foram novamente postas na panela elétrica, seguindo a relação de tempo previamente descrita. Na Figura 5 é possível observar o modelo de panela elétrica utilizado para conduzir o processo de pasteurização:

**Figura 5** – Panela elétrica cervejeira com controle de temperatura



**Fonte:** o Autor, 2023

Para o processo de fervura, foi selecionado o tempo de 2 minutos. Esta seleção foi uma adaptação baseada no estudo feito por Sousa (2006) que estudou diferentes tratamentos térmicos aplicados ao suco de açaí. Sousa demonstrou que a fervura do suco do açaí por 1 minuto demonstrou eficiência na erradicação dos microrganismos, manutenção das características sensoriais e conservação do suco do açaí por 120 dias sob refrigeração. Um ensaio preliminar foi realizado seguindo esta metodologia, porém houve formação de uma nova película de biofilme com poucos dias de fermentação, o que demonstrou tempo insuficiente de fervura. Desta forma, para o ensaio final o tempo de fervura foi dobrado.

As amostras que passaram por tratamento térmico foram resfriadas em banho com água e gelo antes de serem inoculadas para a nova fermentação. As três amostras foram nomeadas como “*In Natura*”, “Pasteurizada” e “Fervida”.

#### **4.6 Fermentação Alcoólica**

Após a finalização das análises da primeira fermentação, foi estabelecido o referencial do valor °Brix do sétimo dia como determinante para a quantidade de açúcar que seria adicionado no mosto base para atingir o teor alcoólico desejado. A etapa de saborização foi considerada irrelevante para este fim já que a acerola é uma fruta com pouca quantidade de açúcares.

A fermentação alcoólica foi conduzida de acordo com a metodologia exposta no KBI, pelo *Codice of Practice*, adaptado para este estudo. Foi definido como teor alcoólico máximo

desejado o valor de 5% (v/v) já que este foi o limite superior encontrado a partir da pesquisa quantitativa, por Silva (2021). Desta forma, considerando que é necessária uma concentração de 17g/L de açúcar para a formação de 1% (v/v) de álcool (GIOVANNI & MANFROI, 2009), para atingir o potencial de 5% (v/v) de álcool é necessária uma concentração final de 85 g/L de açúcar (SILVA, 2021). A partir do valor de 7,4 °Brix pode-se calcular que no mosto possuía uma concentração aproximada de 71,35 g/L de açúcares, logo, foi adicionado açúcar cristal na proporção de 13, 65g/L, totalizando 122,88g em 9 litros de Jun base. Na Tabela 12 está expresso os valores finais de °Brix e pH atingidos após a adição:

**Tabela 11** - Valores de sólidos solúveis e pH após adição de açúcar

<b>°Brix</b>	<b>pH</b>
9,2	<b>3,63</b>

**Fonte:** o Autor, 2023

Mileski (2016) em seu estudo “Produção e caracterização de hidromel utilizando diferentes cepas de leveduras *Saccharomyces*”, concluiu que a levedura *Fleischmann* foi a preferida sensorialmente ao produzir o fermentado à base de mel, ou hidromel, com teor alcoólico final de 14,39% (v/v). De tal forma que por ser esperado mel residual da fermentação base e com a adição de açúcar refinado (substrato energético utilizado na panificação), esta foi a levedura escolhida para a fermentação alcoólica. Para a determinação da inoculação das leveduras *Fleischmann* foi utilizado como referência principal a faixa indicada nas embalagens de leveduras especializadas na produção de vinhos fermentados. Entretanto, com o intuito de vencer a possível competição com outros microrganismos ainda presentes no meio, o valor inicialmente indicado foi dobrado, de tal forma que utilizou-se 0,5 g de levedura para cada litro de Jun base saborizado.

Para a hidratação do inóculo, foi preparada uma solução com 50 mL de água destilada e 5 mL de mosto saborizado (individualizado para cada uma das 3 amostras). Estas soluções foram aquecidas até a temperatura de 35 °C e então foram inoculadas, a adaptação ao meio ocorreu por um período de 2 horas.

As três amostras resultantes da divisão do mosto base foram reservadas em biorreatores de 4 L de capacidade, de tal modo que não houve perda de volume significativa durante o tratamento térmico, ou seja, ambas amostras foram consideradas com 3 L de volume total para fins de cálculo. Cada biorreator recebeu uma fita para diferenciação, foram tampados com papel filme preso com fita adesiva e com folhas de alumínio presas no topo. Os biorreatores ficaram

em ambiente escuro no laboratório e após finalizadas as 2 horas de adaptação dos inóculos, cada um deles foi adicionado ao seu respectivo biorreator. Na Figura 6 está representado os biorreatores após todo o processamento realizado.

**Figura 6** – Biorreatores com mosto base saborizado e inoculado, fermentação alcoólica



**Fonte:** o Autor, 2023

Amostras de 60 mL foram retiradas a cada 2 dias, através do topo do biorreator, com precaução para evitar perturbações e oxigenação no meio. A fermentação alcoólica durou um total de 14 dias e foi finalizada quando o critério crítico de parada foi atingido:  $\text{pH} < 3,30$ . Este critério foi escolhido baseado em Silva (2021) ao concluir que para diminuir a rejeição do produto seria indicado uma diminuição da acidez encontrada em seu estudo ( $\text{pH}=3,20$ ).

## **5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS**

### **5.1 Análise do Potencial hidrogeniônico (pH)**

Para realizar a determinação do pH foi utilizado pHmetro, marca AJ Micronal, ref. AJX-474 PLUS, com eletrodo de vidro combinado e sonda de temperatura, previamente calibrado e operado de acordo com as instruções do fabricante. O pH foi determinado diretamente na amostra (LUTZ, 1985).

### **5.2 Análise de Sólidos solúveis**

Para realizar a determinação da concentração de sólidos solúveis foi utilizado refratômetro de bancada do tipo ABBE, calibrado e operado de acordo com o fabricante (LUTZ, 1985).

### **5.3 Análise de Acidez Total**

Para realizar a análise de acidez total foi utilizado o método de acidez total em vinhos (LUTZ, 1985).

### **5.4 Teor alcoólico**

Para determinar o teor alcoólico das amostras foi utilizado o processo de ebulliometria através de ebuliômetro, devidamente calibrado, e sua régua de relação entre temperatura de ebulição e teor alcoólico (°GL).

Para calibração da régua junto ao equipamento, foram utilizadas 50 mL de água destilada na caldeira que foi aquecida (através da lamparina) até sua temperatura de ebulição, aferida por termômetro acoplado ao equipamento. O condensador, também acoplado ao equipamento, foi preenchido com água destilada. Ao atingir esta temperatura, esperou-se um tempo de 1 minuto em equilíbrio térmico para então utilizar este valor como referencial para o 0 °GL.

Para as amostras coletadas, seguiu-se o mesmo procedimento substituindo as 50 mL de água destilada por 50 mL de cada amostra.

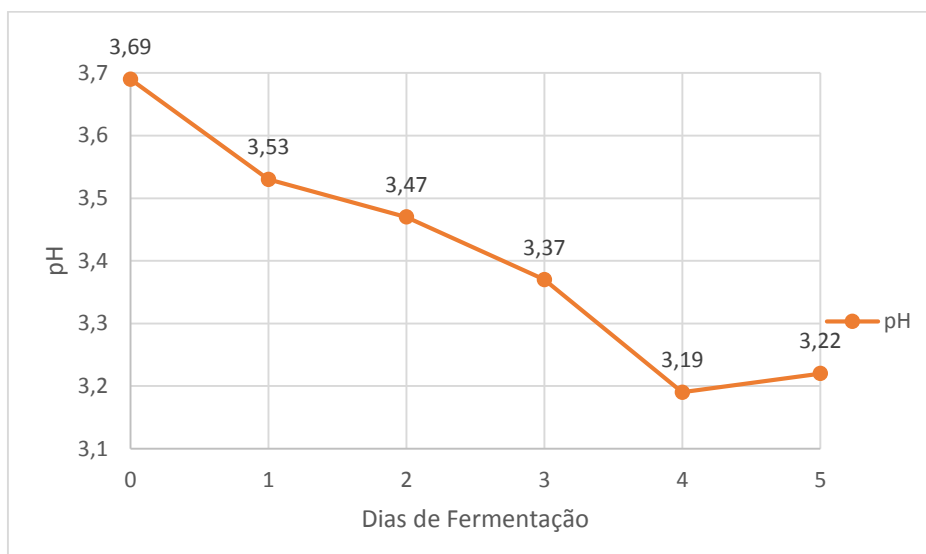
## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Fermentação do Jun Base

#### 6.1.1 Potencial hidrogeniônico (pH)

Na Figura 7 estão representados os valores de pH observados durante o processo de fermentação do Jun.

**Figura 7** – Comportamento do pH durante a fermentação base



**Fonte:** o Autor, 2023

O valor inicial de pH, no momento da produção da batelada, foi de 3,69 e a cada 24h este valor decai até encontrar o seu valor mais baixo no quarto dia de fermentação (pH 3,19). No quinto dia houve um aumento no valor resultando no pH 3,22, entretanto a variação não foi significativa.

Gomes (2021) ao comparar o processo fermentativo da kombucha utilizando diferentes fontes de carbono encontrou para sua amostra utilizando o mel de abelhas o valor inicial de pH 3,26 e 2,87 ao final de sete dias de fermentação em temperatura ambiente. A diferença dos resultados pode ser explicada devido ao fato dos substratos utilizados como fonte de carbono serem diferentes, já que cada perfil de mel tenderá a produzir uma fermentação particular, ou graças ao perfil físico-químico do inóculo utilizado. Gomes (2021) ainda levanta a possibilidade de que kombuchas obtidas com mel de abelhas, em comparação com as demais em seu estudo, indicam uma maior produção de ácidos orgânicos durante a fermentação, fato este que condiz com o menor tempo de fermentação.

Os valores mais altos encontrados neste estudo também podem expressar que o mel de marmeleiro tem o perfil de produzir outras formas de ácidos orgânicos em relação à kombucha utilizando mel produzida por Gomes (2021) .

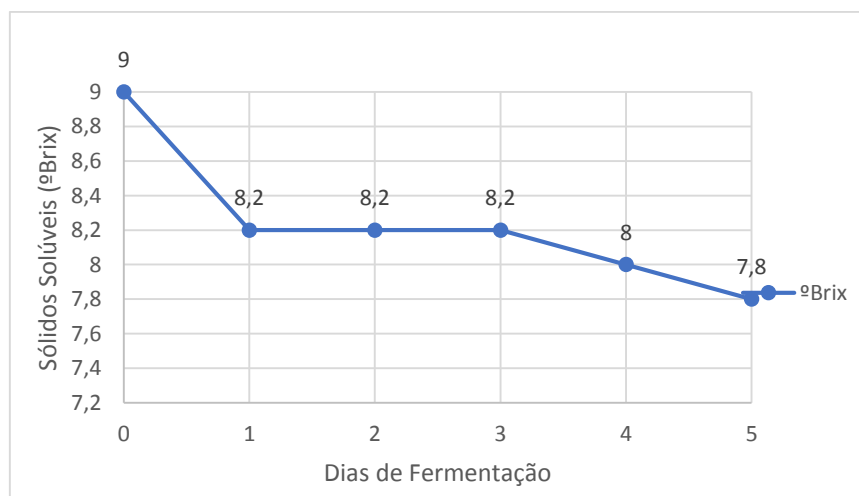
A redução nos valores de pH é esperada ao longo do processo fermentativo e pode ser explicada através da ação dos microrganismos presentes no mosto após inoculação. As leveduras são as responsáveis pela metabolização dos açúcares no meio em etanol e gás carbônico enquanto as bactérias acéticas serão responsáveis por metabolizar o etanol em ácidos orgânicos, sendo o ácido acético um dos principais responsáveis pelo decaimento do pH (SOARES et al., 2021). Entretanto, é necessário que o decaimento ocorra até uma determinada faixa para que não gere riscos ao consumo humano. Valores muito baixos de pH acarretarão em riscos diretos à saúde do consumidor além da baixa comercialização do produto graças à queda da qualidade sensorial. Silva (2021) encontrou em sua pesquisa de teste de mercado, em atributos que desagradaram os provadores, uma marca de 11% para acidez elevada. Valores altos de pH podem significar uma baixa segurança microbiológica do produto, já que é através da redução do pH que se tem o efeito de controle de patógenos na bebida.

Para efeito de caracterização, o Jun base (resultante da primeira fermentação) é uma bebida que se encaixa nos parâmetros exigidos pela IN N° 41 no que tange seu valor de pH (mínimo 2,5 e máximo 4,5) (BRASIL, 2017).

### 6.1.2 Sólidos Solúveis

Na Figura 8 estão representados os valores das leituras de sólidos solúveis em °Brix observados durante o processo de fermentação do Jun base.

**Figura 8** – Comportamento dos sólidos solúveis durante a fermentação base



**Fonte:** o Autor, 2023

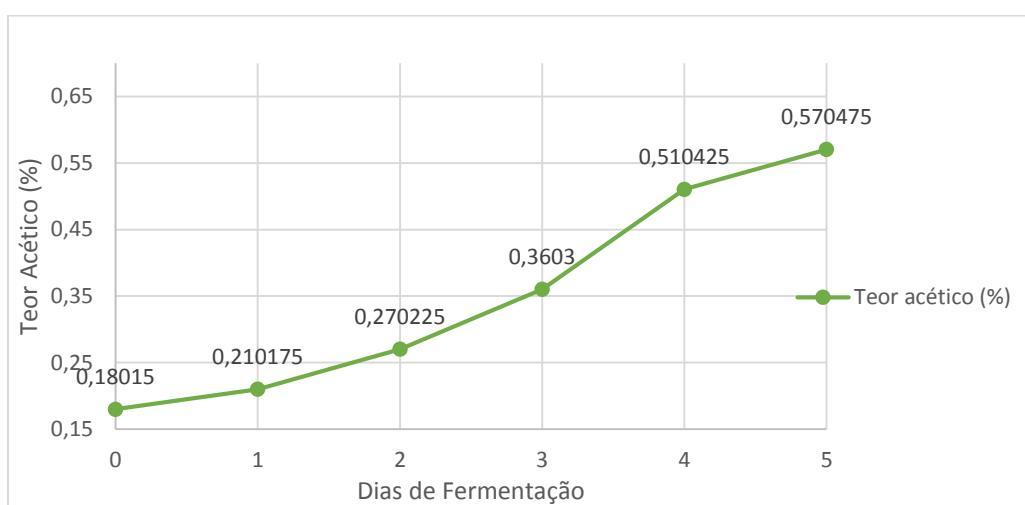
Após a completa preparação do mosto, e a devida dissolução do mel no meio, foi realizada a primeira leitura de sólidos solúveis (°Brix) que indicou a marca de 9 °Brix. Apesar da queda inicial, nos três primeiros dias de fermentação o valor estacionou na marca de 8,2 °Brix o que pode ser justificado por uma possível adaptação do inóculo ao meio graças ao aumento de escala na batelada analisada. Este argumento ganha força ao longo das análises feitas nos dias subsequentes, que mostram a redução, aproximadamente linear, nos valores das leituras até atingir o seu valor final de 7,8 °Brix.

Rossoni (2019) e Gomes (2021) entretanto encontraram inconsistências no padrão de comportamento das concentrações de sólidos solúveis em kombuchas feitas utilizando o mel como fonte de carbono. Os autores levantam a hipótese de que este fato pode ocorrer graças a um consumo, pelos microrganismos, diferente do padrão nos açúcares presentes no mel ou até de que outros constituintes no mosto podem afetar as leituras do refratômetro ao provocar um desvio da luz, tal como metabólitos resultantes da fermentação ou produção de células no meio.

### 6.1.3 Teor Acético

Na Figura 9 estão representados os valores de acidez total expresso em teor acético (%) ao longo da batelada base. O controle deste parâmetro é importante para que a bebida fermentada esteja de acordo com o exigido pela legislação nacional e pelo KBI.

**Figura 9** – Comportamento do teor acético durante a fermentação base



**Fonte:** o Autor, 2023

O valor inicial de teor acético no momento do preparo da batelada foi de 0,18%. Este valor foi crescendo ao longo dos dias de fermentação até o valor final de 0,66%. Em termos de

legislação, a IN nº41/2019 expressa a sua exigência de acidez em termos de acidez volátil em mEq/L, ou seja, miliequivalentes por litro de solução. Desta forma, pode-se expressar o valor final de acidez total, em termos de ácido acético, encontrado neste estudo como 110mEq/L. Por sua vez, o KBI exige em termos de acidez titulável em % de ácido acético, neste estudo, como já apresentado, foi encontrado o valor final de 0,66%. Sendo assim, o Jun base está de acordo com o parâmetro internacional Na Tabela 11 encontra-se expresso os limites exigidos para os parâmetros citados:

**Tabela 12 - Parâmetros exigidos para acidez da kombucha:**

<b>Parâmetros</b>	<b>IN 41/2019</b>	<b>KBI</b>
<b>Acidez volátil (mEq/L)</b>	30-130	-
<b>Acidez titulável (% ácido acético)</b>	-	0,27-2,03

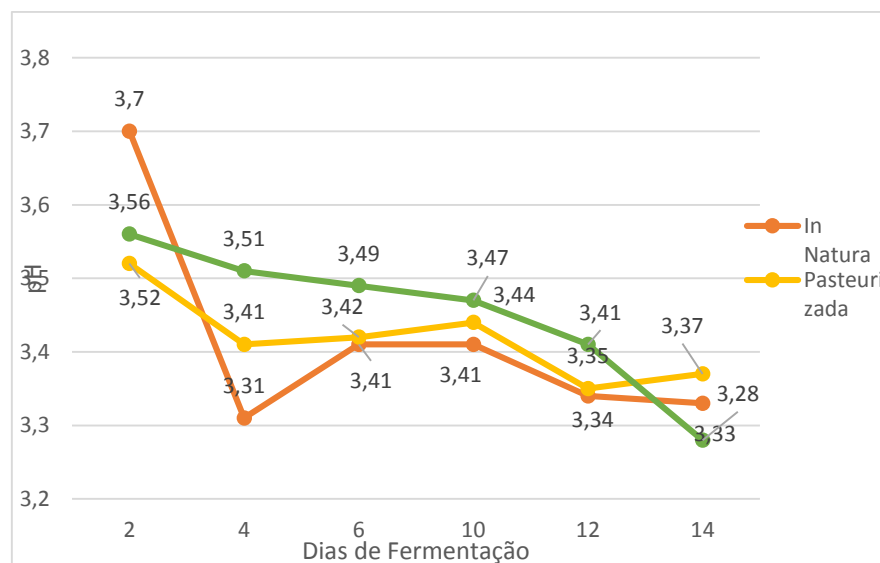
**Fonte: o** Autor, 2023

Em seu trabalho GOMES (2021) encontrou para a amostra com mel de abelhas o valor de 4,9 g/L ao final de sete dias de fermentação e o valor de 8,5 g/L para a amostra com sacarose, de tal forma que, no presente estudo, o valor encontrado de 5,7 g/L, na referida unidade pode ser considerado como intermediário. A diferença entre os valores encontrados para as amostras com mel pode ser justificada por uma série de fatores como: diferença de inóculo, diferença da florada do mel e diferença entre a concentração de mel utilizada (GOMES utilizou a proporção de 70 g/L enquanto no presente estudo foi utilizada 120 g/L).

## **6.2 Fermentação Alcoólica**

### **6.2.1 Potencial hidrogeniônico (pH)**

Na Figura 10 estão representados os valor de pH observados durante o processo de fermentação alcoólica para as 3 amostras:

**Figura 10** – Comportamento do pH durante a fermentação alcoólica

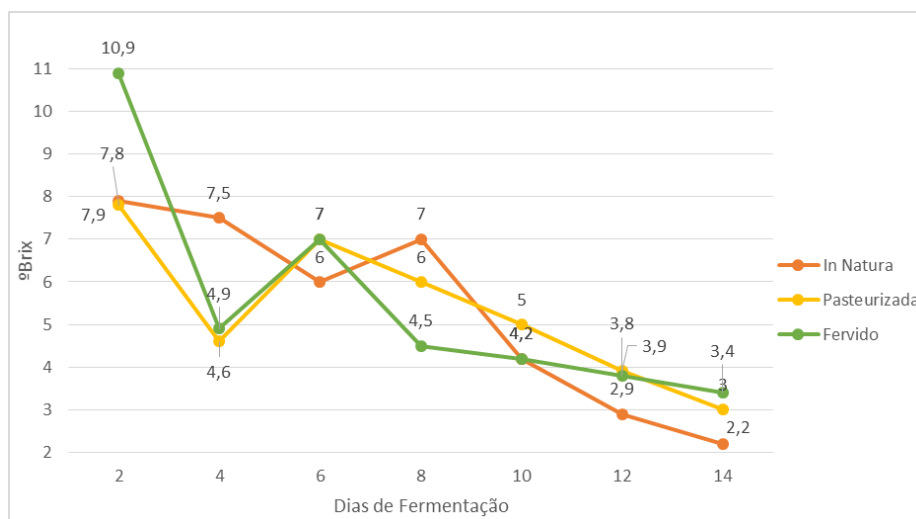
Fonte: o Autor, 2023

O valor inicial de pH foi diferente para todas as amostras apesar de que a única diferença entre as mesmas foi o tratamento térmico, o que pode sugerir que estes tenham influenciado no potencial hidrogeniônico do meio. A amostra *In natura* começou com o valor de 3,7 e atingiu o valor final 3,33 (variação de -0,37); a Pasteurizada iniciou com o valor de 3,52 e finalizou com 3,37 (-0,15) e a Fervida foi do seu valor inicial de 3,56 para o final de 3,28 (-0,28) atingindo a margem crítica estabelecida no planejamento da batelada alcoólica, estabelecendo o fim da segunda fermentação. Sendo assim, a amostra que passou pelo processo de pasteurização foi a que finalizou com o maior valor de pH e apresentou menor variação nestes valores, o que pode indicar um ponto positivo para o método já que este parâmetro é crucial para a aceitação do produto.

É possível observar no gráfico da Figura 10 que houve a supressão do ponto do dia 8. Esta escolha foi tomada graças ao resultado anômalo encontrado na análise ao apresentar uma grande variação positiva e resultados similares para as três amostras. Este comportamento pode encontrar embasamento no fato de que houve instabilidade elétrica, durante a primeira semana de fermentação, no bloco no qual se encontra o LPFD, prejudicando assim a precisão instrumental.

### 6.2.2 Sólidos Solúveis

Na Figura 11 estão representados os valores das leituras de sólidos solúveis em °Brix observados durante o processo de fermentação alcoólica para as 3 amostras:

**Figura 11** – Comportamento dos sólidos solúveis durante a fermentação alcoólica

**Fonte:** o Autor, 2023

A amostra Fervida foi a última a passar pelo processo de trasfega e consequente tratamento térmico, de tal forma que houve bastante formação de sedimentos, provenientes da polpa de fruta, na referida amostra. Graças a este fato, a amostra passou pelo procedimento de filtração com peneira simples em 3 estágios: na trasfega do biorreator para a fervura, da saída da fervura para o banho frio e do novo biorreator para o envase. Além disso, após as análises do dia 2 o processo de centrifuga foi alterado de 10min totais para 15min para favorecer a sedimentação, este tempo foi utilizado para todas as amostras do dia 4 até o 14.

O valor inicial de sólidos solúveis foi diferente para todas as amostras apesar de que a diferença entre as amostras Pasteurizada e *In natura* foi apenas de 0,1° (7,9° para *In natura* e 7,8° Brix para Pasteurizada) enquanto a amostra Fervida marcou o valor de 10,9° Brix. Os valores oscilaram em maior grau nas análises entre os dias 2 e 6, o que pode ser justificado pela alteração na metodologia. Nos dias seguintes manteve-se o comportamento de redução esperados e os valores finais foram de 3,4° , 3° e 2,2° Brix para as amostras Fervidas, Pasteurizada e *In Natura*, respectivamente.

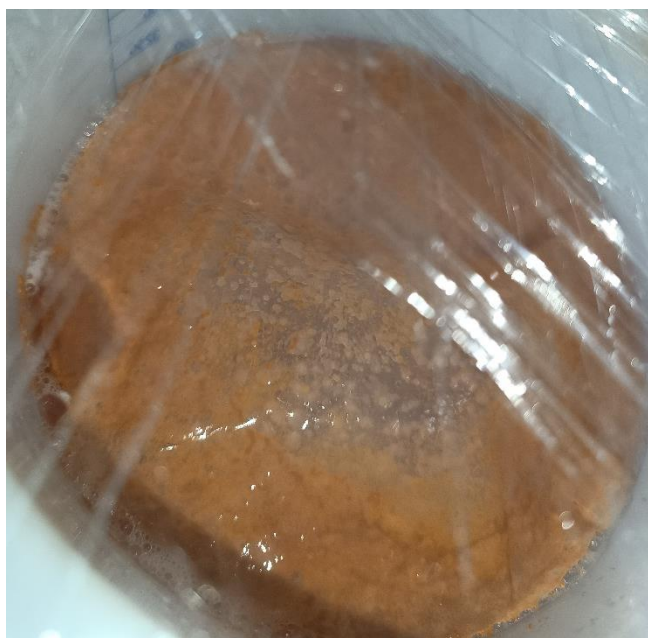
Através da Figura 11 é possível notar o padrão de comportamento mais linear para a amostra Pasteurizada o que novamente pode ser encarado como um ponto positivo. Na Figura 12 é possível visualizar o filtrado pré-envase e na Figura 13 está representada a amostra Pasteurizada no dia 6 para visualização da película de biofilme e outros sinais de fermentação no topo do mosto:

**Figura 12** – Filtrado pré-envase, amostra Filtrada



**Fonte:** o Autor, 2023

**Figura 13** – Superfície do mosto da amostra Pasteurizada, dia 6



**Fonte:** o Autor, 2023

### 6.2.3 Teor Acético

Na Figura 14 estão representados os valores de acidez total expresso em teor acético (%), ao longo da fermentação alcoólica.

**Figura 14** – Comportamento do teor acético durante a fermentação alcoólica



**Fonte:** o Autor, 2023

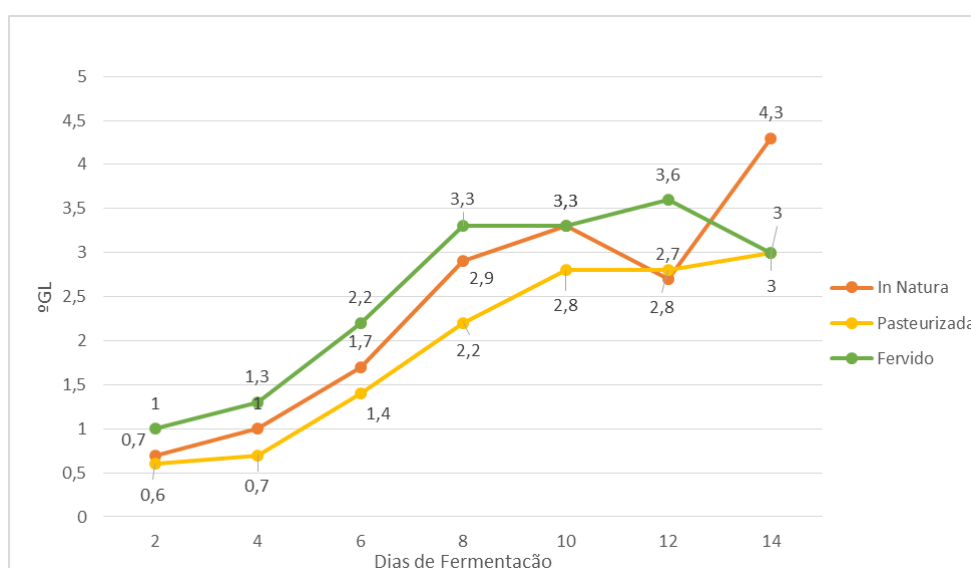
Seguindo o mesmo padrão de comportamento para os outros parâmetros analisados, cada amostra teve o seu comportamento singular desde o início da fermentação até seu final. Os valores iniciais de teor acético no segundo dia de fermentação foram: 0,48%; 0,57 % e 0,87%, para amostras Pasteurizada, *In Natura* e Fervida, respectivamente. Estes valores foram crescendo ao longo dos dias de fermentação até o valor final de 1,35%; 1,20% e 1,44%, para amostras Pasteurizada, *In Natura* e Fervida, respectivamente. O comportamento observado não foi uniforme de tal maneira que é possível observar oscilações durante toda a fermentação alcoólica. Este fato pode sugerir que houve um erro amostral graças a dificuldade em coletar a amostra através do topo do fermentador, impactando em resultados distintos por conta dos pontos de coleta no mosto. Além disso, a cada momento de abertura das folhas plásticas no topo do biorreator para realizar a coleta havia entrada de oxigênio no meio fermentativo, o que pode impactar de maneira positiva e direta na fermentação das bactérias do meio. Isto pode indicar que houve prejuízo na fermentação alcoólica.

Em termos de legislação nacional, os valores encontrados em acidez total foram de: 225,19; 200,17 e 240, 20 mEq/L para amostras Pasteurizada, *In Natura* e Fervida, respectivamente. De acordo com a norma internacional, as amostras seguem adequadas para a comercialização.

#### 6.2.4 Teor Alcoólico (°GL)

Na Figura 15 estão representados os valores de teor alcoólico (v/v) em °GL observados durante o processo de fermentação alcoólica.

**Figura 15** – Comportamento do teor alcoólico durante a fermentação alcoólica



Fonte: o Autor, 2023

Seguindo o mesmo padrão de comportamento para os outros parâmetros analisados, cada amostra teve o seu comportamento singular desde o início da fermentação até seu final. Os valores iniciais das três amostras apresentaram pouca variação entre si, marcando 0,6 para Pasteurizada, 0,7 para *In Natura* e 1°GL para Fervida. No intervalo do dia 0 até o dia 4 de fermentação houve o aumento mais contido do teor alcoólico das amostras, o que pode indicar o período de adaptação da levedura ao mosto. Do quarto dia até o décimo, todas as amostras passaram por aumento de forma mais acentuada, comportamento este que pode ser observado através da inclinação das curvas no gráfico. Entre os dias 10 e 14 houve quebra do comportamento ascendente do teor alcoólico, de tal forma que todas as amostras passaram por alguma queda, ainda que em dias diferentes. Ao final dos 14 dias nenhuma das amostras conseguiu atingir o percentual máximo desejado de 5°GL, os valores finais encontrados foram: 3°GL para amostras Pasteurizada e Fervida e 4,3°GL para *In Natura*.

Através do gráfico de Teor Acético representado na Figura 14 e as consequências do método de coleta é possível que as amostras não tenham atingido o valor estimado em °GL pela oxigenação indesejada no meio, o que prejudica a fermentação alcoólica. Entretanto, através da análise do comportamento das curvas no gráfico da Figura 15 é possível observar que a amostra Pasteurizada foi manteve um certo grau de padronização.

## 7 APRESENTAÇÃO FINAL DO PRODUTO

Na Figura 16 é possível observar a finalização das três amostras em termos de cor e clarificação. Ambas gaseificaram naturalmente sem que houvesse a necessidade de uma etapa *priming*:

**Figura 16** - Amostras de Jun alcoólico finalizadas



**Fonte:** o Autor, 2023

## 8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Ao longo da discussão deste trabalho foi possível observar que o critério de parada crítico não foi adequado para a devida formulação do produto final visando a sua comercialização porque apesar de se encaixar nos parâmetros internacionais, a acidez ficou elevada. Desta forma, possivelmente seria mais adequado estabelecer esse critério utilizando o parâmetro de acidez total (e teor acético) como marcador.

Além disso, foi possível observar que os tratamentos térmicos empregados podem ter sido insuficientes na completa inativação dos microrganismos selvagens provenientes da primeira fermentação graças a presença de biofilme em todas as amostras ou que pode ter ocorrido favorecimento da fermentação bacteriana pela oxigenação do mosto graças a metodologia de retirada das amostras ou ainda alguma forma de contaminação durante este processo. Desta forma, para estudos futuros seria interessante se analisar outras relações de tempo vs temperatura para os tratamentos com o intuito de encontrar a faixa ideal de completa inativação e utilizar biorreatores com torneiras na base.

## 9 CONCLUSÃO

Com a finalização deste trabalho foi possível produzir com sucesso uma bebida fermentada à base de *Camellia sinensis* adoçada com mel de abelhas, como resultado de primeira fermentação, própria para o consumo e comercialização. Além disso, foi realizado duas modalidades de tratamento térmico nesta bebida base produzida com o intuito de realizar uma nova fermentação e sua saborização com polpa de acerola (*Malpighia emarginata*), conseqüentemente, a formulação de um novo produto na modalidade bebida alcoólica. Para tal foi realizado o acompanhamento cinético dos parâmetros, para ambas fermentações: Potencial hidrogeniônico, Sólidos solúveis, Acidez total, Teor Acético e Teor Alcoólico (segunda fermentação exclusivamente).

A bebida de primeira fermentação, ou Jun base, comportou-se de maneira esperada em todos os seus parâmetros analisados ao longo dos dias, resultando assim em um produto devidamente legal para comercialização, de acordo com normas nacionais e internacionais.

As relações de tempo vs temperatura para os métodos de tratamento térmico empregados podem ter sido insuficientes para a completa inativação dos microrganismos selvagens provenientes do inóculo *starter* já que houve formação de biofilme em todas as amostras, desta forma novos estudos seriam necessários para encontrar a relação ideal. De toda forma, a metodologia de coleta de amostras deve ser melhor adequada.

As bebidas de segunda fermentação, ou Jun alcoólico saborizado com acerola, comportaram-se de maneira singular apesar de que não houve grandes discrepâncias entre as amostras. Entretanto, o ponto crítico de controle foi atingido antes de se atingir o critério de parada ideal (5°GL) o que acabou por resultar em um produto com acidez elevada. Novos estudos poderiam estipular tais pontos de forma mais efetiva e realizar análises sensoriais do produto finalizado.

## REFERÊNCIAS

- AHMED, Rania F.; HIKAL, Mohamed S.; ABOU-TALEB, Khadiga A. Biological, chemical and antioxidant activities of different types Kombucha. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 65, n. 1, p. 35-41, 2020.
- ARAÚJO, P. S. R de; MINAMI, K. **Acerola**. Campinas: Fundação Cargill, 1994. 81p
- ASSUNÇÃO DA COSTA SOUZA, Maria *et al.* Suco de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.): avaliação microbiológica, tratamento térmico e vida de prateleira. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 36, ed. 4, p. 497-502, 2006.
- BALENTINE, D. A.; Special issue: tea and health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 8, p. 691-692, 1997.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 41, DE 17 DE SETEMBRO DE 2019**.
- CARDOSO, Marina Passos Soares *et al.* Desenvolvimento de duas formulações base de cerveja estilo sour empregando kefir e kombucha na fermentação. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 5616-5628, 2021.
- CESAR DIAS SILVEIRA, Gustavo *et al.* **Acerola**: detalhes do cultivo no Brasil. [S. l.], 9 dez. 2022. Disponível em: <https://revistacampoenegocios.com.br/acerola-detalhes-do-cultivo-no-brasil/>. Acesso em: 10 fev. 2023.
- CHAKRAVORTY, Somnath *et al.* Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. **International journal of food microbiology**, v. 220, p. 63-72, 2016.
- CORRADINI DOMINGUES, Fatima *et al.* **Acerola na dietoterapia**. São Paulo: Instituto de Metabolismo e Nutrição, 9 dez. 2022. Disponível em: <https://www.nutricaoclinica.com.br/conteudo/profissionais/3-nutricao-clinica/104-acerola-na-dietoterapia>. Acesso em: 13 fev. 2023.
- COSER, Letícia Cornélio *et al.* **Pasteurização do vinagre**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2017. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/alimentus1/feira/prfruta/vinagre/pasteur.htm>. Acesso em: 15 fev. 2023.
- COTON, Monika *et al.* Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. **FEMS Microbiology Ecology**, [s. l.], v. 93, ed. 5, 2017.
- DA SILVEIRA AGOSTINI-COSTAI, Tânia; NOBRE DE ABREU, Luciana; GUIMARÃES ROSSETTI, Adroaldo. Efeito do congelamento e do tempo de estocagem da polpa de acerola sobre o teor de carotenóides. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s. l.], 2003.
- DE OLIVEIRA, Carla. **MSXPlore**: Bebidas com baixo teor alcoólico. MasterSense, 18 jan. 2022. Disponível em: <https://www.mastersense.com/mxsplore-bebidas-com-baixo-teor-alcoolico/>. Acesso em: 3 fev. 2023.
- DETERMINAÇÃO do teor alcoólico por ebuliometria. João Pessoa: Laboratório de Produtos Fermento-destilados, 2017. Disponível em:

[https://www.youtube.com/watch?v=LL6tg8ddF2c&ab\\_channel=biotecnologiaindustrialufpb](https://www.youtube.com/watch?v=LL6tg8ddF2c&ab_channel=biotecnologiaindustrialufpb). Acesso em: 13 fev. 2023.

DUFRESNE, C.; FARNWORTH, E. Tea, Kombucha, and health: a review. **Food Research International**, Canadá, v. 33, p. 409-421, 12 jul. 2000. ISSN 0963-9969

FORSYTHE, Stephen J. Flora microbiana e conservação de alimentos. In: FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. São José dos Campos: Artmed, 2013. cap. 03, p. 143-192. ISBN 978-85-363-2706-8.

GIOVANNINI, Eduardo; MANFROI, Vitor. **Viticultura e enologia: elaboração de grandes vinhos nos terroirs brasileiros**. IFRS, 2009.

GOMES, Cristiano A. **OBTENÇÃO DE KOMBUCHA COM DIFERENTES FONTES DE CARBONO SABORIZADA COM POLPA DE CAJU (*Anacardium occidentale*)**. Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Bispo de Sousa. 2021. 38 p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Química Industrial) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2021.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Mapa: Acerola**. [S. l.], 2018. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/acerola/br>. Acesso em: 10 fev. 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Mapa: Mel de abelha**. [S. l.], 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/mel-de-abelha/br>. Acesso em: 10 fev. 2023.

JAYABALAN, R.; MALBAŠA, R. V.; LONČAR, E. S.; VITAS, J. S.; SATHISHKUMAR, M. A review on Kombucha tea: Microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 4, p. 538-550, 2014.

KOMBUCHA BREWERS INTERNATIONAL. **Kombucha Code of Practice Version 2.2**. [S. l.], junho 2022. Disponível em: <https://kombuchabrewers.org/kombucha-code%20of-practice/>. Acesso em: 1 jun. 2023.

LANDGRAF, Mariza. Controle do desenvolvimento microbiano nos alimentos. In: D. GOMBOSSY DE MELO FRANCO, Bernadette; LANDGRAF, Mariza. **Microbiologia dos Alimentos**. 1. ed. São José dos Campos: Atheneu, 2008. cap. 07, p. 109-148. ISBN 8573791217.

MACEDO, L.N. **Propriedades Prebióticas e Antimicrobianas de Mel de Abelha**. 73f. Dissertação de Mestrado (Ciências do Alimento). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, 2007.

MARSH J., Alan *et al.* Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. **Food Microbiology**, [s. l.], v. 28, p. 171-178, 2014.

MILESKI, João Paulo Fernando. **Produção e caracterização de hidromel utilizando diferentes cepas de leveduras *saccharomyces***. Londrina, 2016. Disponível em: [http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/1901/1/LD\\_PPGTAL\\_M\\_Mileski%2C%20Jo%C3%A3o%20Paulo%20Fernando\\_2016.pdf](http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/1901/1/LD_PPGTAL_M_Mileski%2C%20Jo%C3%A3o%20Paulo%20Fernando_2016.pdf). Acesso em: 20 mar. 2023.

NEFFE-SKOCINSKA, K., Sionek, B., Scibisz, I., Kolozyn-Krajewska, D. Acid contents 289 and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, 290 microbiological and sensory properties. **Journal of Food**, v.15, n. 4, p. 601-607, 2017.

PEREIRA, P.M.J.F. **Propriedades antimicrobianas do mel**. 44f. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade do Porto. Porto, 2007.

PILLING, Sérgio. Prática 2: Soluções & Titulação Condutométrica. **Universidade do Vale do Paraíba**, São José dos Campos, 2009. Disponível em: [https://www1.univap.br/spilling/FQE1/FQE1\\_EXP2\\_Soluc,TitCondut.pdf](https://www1.univap.br/spilling/FQE1/FQE1_EXP2_Soluc,TitCondut.pdf). Acesso em: 13 mar. 2023.

PRADO, Matheus. **Hard Seltzer**: bebida que rouba mercado da cerveja nos EUA cresce no Brasil. São Paulo, 6 jan. 2021. Disponível em: <https://www.cnnbrasil.com.br/economia/hard-seltzer-bebida-que-rouba-mercado-da-cerveja-nos-eua-cresce-no-brasil/>. Acesso em: 6 fev. 2023.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N. P. **Normas analíticas do instituto Adolfo Lutz**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985.

RANA, Perna *et al.* Production of fermented green tea and its nutrient analysis: a mini review. **Journal of Postharvest Technology**, India, v. 9, ed. 2, p. 101-113, 28 mar. 2021. ISSN 2348-4330

REISS, J. ; **Influence of diferent sugars on the metabolism of the tea fungus**. Zeitschrift fuÈr Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung, v. 198, p. 258-261, 1994.

RITZINGER, Rogério; SILVINO PRATA RITZINGER, Cecília Helena. Acerola. **Informe Agropecuário**: Cultivo tropical de fruteiras, Belo Horizonte, v. 32, ed. 264, p. 17-25, 2011.

ROSSONI, Milena Araújo. Desenvolvimento e caracterização da bebida kombucha de erva mate (*Ilex paraguariensis*) utilizando diferentes fontes de carboidratos. 2019.

SHIRVELL, Bridget. **How Hard Kombucha Became The Drink Of 2020**. [S. l.], 13 ago. 2020. Disponível em: <https://www.forbes.com/sites/bridgetshirvell/2020/08/13/how-hard-kombucha-became-the-drink-of-2020/?sh=61e390d2550c>. Acesso em: 6 fev. 2023.

SILVA ESCOBAR, ANA LUCIA; BRANCHES XAVIER, FÁBIO. Propriedades fitoterápicas do mel de abelhas. **Revista UNINGÁ**, Maringá, ed. 37, p. 159-172, 2013.

SILVA, Maria E. S. H. A. **DESENVOLVIMENTO DE UMA KOMBUCHA ALCOÓLICA: PROTÓTIPO INDUSTRIAL**. Orientador: Prof. Dra. Simone Hickmann Flôres. 2021. 62 p. Trabalho de conclusão de curso (Engenheiro de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2021.

SILVA, R.A. et al. Composição e propriedades terapêuticas do Mel de Abelha. **Alimentos e Nutrição**. Araraquara, v. 17, n. 1, p. 113-20, jan./mar., 2006.

SOARES, Marcelo Gomes; DE LIMA, Marieli; SCHMIDT, Vivian Consuelo Reolon. Technological aspects of kombucha, its applications and the symbiotic culture (SCOBY), and

extraction of compounds of interest: A literature review. **Trends in Food Science & Technology**, 2021.

TORÁN-PEREG, Paula et al. Microbiological and sensory characterization of kombucha SCOBY for culinary applications. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 23, p. 100314, 2021.

VILLARREAL-SOTO, Silvia Alejandra et al. Understanding kombucha tea fermentation: a review. **Journal of food science**, v. 83, n. 3, p. 580-588, 2018.