



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE FARMÁCIA

ANA LUIZA PEREIRA DE LIMA

**PADRONIZAÇÃO DE PROCESSAMENTO DE VINAGRE DE KOMBUCHA A
PARTIR DE DIFERENTES FONTES VEGETAIS**

Recife
2023

ANA LUIZA PEREIRA DE LIMA

**PADRONIZAÇÃO DE PROCESSAMENTO DE VINAGRE DE KOMBUCHA A
PARTIR DE DIFERENTES FONTES VEGETAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Disciplina de TCC 2 como
requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Farmácia da Universidade
Federal de Pernambuco.

Orientador (a): Prof.^a Ma. Marina Maria Barbosa de Oliveira.

Recife
2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Lima, Ana Luiza Pereira De .

Padronização de processamento de vinagre de kombucha a partir de diferentes fontes vegetais / Ana Luiza Pereira De Lima. - Recife, 2023.

59 p. : il., tab.

Orientador(a): Marina Maria Barbosa de Oliveira

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Farmácia - Bacharelado, 2023.

1. Bebidas fermentadas. 2. Chá de Kombucha. 3. Ácidos orgânicos. 4. Acidez. 5. Fermentação. I. Oliveira, Marina Maria Barbosa de . (Orientação). II. Título.

610 CDD (22.ed.)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA



Aprovada em: _19_/_12_/_2023_____.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
gov.br MARINA MARIA BARBOSA DE OLIVEIRA
Data: 21/12/2023 11:16:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Ma. Marina Maria Barbosa de Oliveira
(Presidente e Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente
gov.br ANTONIO RODOLFO DE FARIA
Data: 22/12/2023 11:49:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria
(Examinador)
Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente
gov.br DANIELLE CRISTINE ALMEIDA SILVA DE SANTANA
Data: 21/12/2023 20:59:21-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Danielle Cristine Almeida Silva de Santana
(Examinadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Ma. Beatriz santana Rocha
(Suplente)
Hospital da Clínicas - UFPE

“Dedico este trabalho a minha mãe por sempre acreditar em mim, por me apoiar infinitamente e por me acolher nos momentos que mais precisei. Agradeço imensamente por todas as orações e por confiar que Deus está sempre fazendo o melhor para nossas vidas.”

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pelo dom da vida, por me abençoar ricamente com tudo o que eu preciso para a minha felicidade, pela saúde da minha família, pelos meus pais, Marinalva e Henrique, que sempre me deram suporte para voar. Agradeço por toda proteção e por colocar sempre pessoas maravilhosas que contribuíram para a minha trajetória profissional.

Agradeço a oportunidade de ingressar no técnico em química industrial no SENAI, curso que abriu portas para estágios e conhecimentos que definiram minha escolha na graduação. Grata pelo meu ingresso na Universidade Federal de Pernambuco no curso de Farmácia e por todas as condições dadas que facilitaram a minha formação.

Sou grata por todas as inspirações, orientações e toda a dedicação que o corpo docente fez para nos tornarmos profissionais competentes frente ao mercado de trabalho, em especial a minha orientadora, professora Marina de Oliveira que acreditou no meu projeto, me apoiou e confiou na minha capacidade como profissional e pesquisadora.

Um agradecimento especial ao professor Rodolfo Farias que sempre me acolheu de braços abertos, por inspirar tantos alunos com seu amor à educação e por sempre vibrar pelo voo dos seus pupilos. Agradeço ao professor Alexandre Góes e a Professora Danielle Macedo por todos os conselhos e acolhimento.

Grata pelos amigos e irmãos que a federal me presenteou, a Beatriz Rocha e a todos do LBQ que me receberam e me ensinaram tanto, a Gabriella Zacarias pela irmandade, pelas risadas e apoio nos mais diversos momentos. Aos tantos amigos dentro e fora da universidade, grata pelos ensinamentos em nos tornar pessoas melhores.

Agradeço ao meu amor, Márcio Suzuki, por se fazer presente em todos os momentos, por todo apoio, cuidado e incentivo. *Arigatou* por acreditar em mim, por vibrar comigo e por me acalmar nos momentos que precisei. Obrigada por ser forte e querer construir o mundo comigo. *Arigatou Kamissama* por ser você!

Obrigada a Universidade Federal de Pernambuco, ao Departamento de Ciências Farmacêuticas que proporcionaram uma experiência única e de muito aprendizado ao longo dessa caminhada.

RESUMO

A fermentação de produtos alimentícios é utilizada há milhares de anos, principalmente para fins de maior conservação, conferindo características organolépticas e concentração de substâncias bioativas. Assim, bebidas fermentadas como a kombucha e o vinagre são conhecidas pelas suas propriedades nutricionais e medicinais em decorrência do seu consumo regular. Essas propriedades estão diretamente relacionadas à presença de compostos bioativos como flavonóides e ácidos orgânicos. O objetivo deste trabalho foi obter o vinagre de kombucha a partir de diferentes fontes vegetais, através de um processo de produção padronizado, relacionando as etapas do processo com os aspectos físico-químicos. O método Orléans foi utilizado para a obtenção de vinagre de kombucha com mosto de frutas tropicais (acerola, manga e sapoti), partindo de um inóculo proveniente de uma kombucha comercial. As análises foram realizadas durante o processo fermentativo através de medições de pH, determinação do teor de sólidos solúveis (°Brix) e acidez total titulável (mEq/L e % m/v de ácido acético). Além dessas análises, para o produto final foram avaliados a determinação de etanol (%v/v) a 20°C e extrato seco (g/L). Após a obtenção do inóculo (pH 2,57 e °Brix 4,53), realizou-se a fermentação da kombucha e observou-se o decaimento do pH e dos sólidos solúveis totais, além de obter 0,5% de ácido acético. Na fermentação dos vinagres de kombucha de acerola e de manga, observou-se um pico na produção de ácido acético em 30 dias de fermentação e posterior declínio. A maior concentração de ácido acético obtida foi para o vinagre de kombucha de sapoti, 1,24% de ácido acético com 60 dias de fermentação em relação ao vinagre de kombucha controle que apresentou 1,10%. Com a determinação de pH e dos sólidos solúveis totais, observou-se diferentes comportamentos entre os fermentados, dentre eles, o vinagre de kombucha de sapoti e o controle, obtendo uma acidificação gradual, corroborando a diminuição dos sólidos solúveis totais. Na avaliação do vinagre de kombucha pasteurizado verificou-se que não houve grande variação entre os resultados adquiridos. Além disso, obteve-se uma variação de 9,27 a 45,98 g/L de extrato seco total, e uma variação de 0,50 a 0,70% no teor alcoólico final entre os fermentados.

Palavras-chave: Bebidas fermentadas. Ácidos orgânicos. Acidez. Chá de Kombucha. Fermentação.

ABSTRACT

The fermentation of food products has been used for thousands of years, mainly for greater conservation purposes, providing organoleptic characteristics and concentration of bioactive substances. Thus, fermented drinks such as kombucha and vinegar are known for their nutritional and medicinal properties as a result of their regular consumption. These properties are directly related to the presence of bioactive compounds such as flavonoids and organic acids. The objective of this assay is to obtain kombucha vinegar from different vegetable sources, through a standardized production process, relating the stages of the process with the physical-chemical aspects. The Orléans method was used to obtain kombucha vinegar with tropical fruit must (acerola, mango and sapodilla), starting from an inoculum from a commercial kombucha. Analyzes were carried out during the fermentation process through pH measurements, determination of soluble solids content (°Brix) and total titratable acidity (mEq/L and % m/v of acetic acid). In addition to these analyses, the determination of ethanol (%v/v) at 20°C and dry extract (g/L) were evaluated for the final product. After obtaining the inoculum (pH 2.57 and °Brix 4.53), the fermentation of kombucha was carried out and a decrease in pH value and total soluble solids was observed. In addition, 0.5% of acid acetic was obtained. In the fermentation of acerola and mango kombucha vinegars, a peak in acetic acid production was observed in 30 days of fermentation and a subsequent decline. The highest concentration obtained was the sapodilla kombucha vinegar, obtaining 1.24% of acetic acid, with 60 days of fermentation, while the control kombucha vinegar obtained 1.10% of acetic acid. With the determination of pH and total soluble solids, different behaviors were observed between the fermented ones, including sapodilla kombucha vinegar and the control, obtaining gradual acidification, corroborating the decrease in total soluble solids. After evaluating pasteurized kombucha vinegar, there was no great variation between the results obtained. Furthermore, a variation of 9.27 to 45.98 g/L of total dry extract was obtained and a variation of 0.50 to 0.70% in the alcoholic content among the fermented ones.

Keywords: Fermented Beverages. Organic Acids. Acidity. Kombucha Tea. Fermentation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Alimentos fermentados classificados segundo a presença ou ausência de microrganismos vivos	19
Figura 2 -	Processo de fermentação e obtenção da kombucha tradicional	21
Figura 3 -	Fluxograma dos diferentes tipos de processamento para fabricação de vinagre	24
Figura 4 -	Fluxograma de delineamento experimental para processamento de obtenção do vinagre de kombucha	29
Figura 5 -	Fluxograma de delineamento das amostras analisadas para processamento de obtenção do vinagre de kombucha	30
Figura 6 -	Fluxograma do acompanhamento dos parâmetros para padronização de processamento de vinagre de kombucha	33
Figura 7 -	Gráfico de acompanhamento do pH de mosto durante processo de fermentação para obtenção de Kombucha	38
Figura 8 -	Gráfico de acompanhamento do teor de Sólidos solúveis totais em °Brix durante processo de fermentação para obtenção de kombucha	39
Figura 9 -	Acompanhamento do parâmetro pH durante padronização de processo de fermentação do Vinagre de Kombucha de frutas	43
Figura 10 -	Acompanhamento do parâmetro Sólidos Solúveis Totais em °Brix durante padronização de processo de fermentação do Vinagre de Kombucha de frutas	44
Figura 11 -	Gráfico de acompanhamento dos valores de acidez total titulável em % de ácido acético durante processo de fermentação de vinagre de kombucha de frutas	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização de parâmetros físico-químicos no acompanhamento da obtenção do inóculo para obtenção de kombucha	36
Tabela 2 – Parâmetros físico-químicos do chá verde adoçado para obtenção de kombucha	37
Tabela 3 – Parâmetros físico-químicos de sucos de frutas - 50% (m/v) adicionadas a mosto de fermentação para obtenção de vinagre de kombucha	40
Tabela 4 – Acidez Total Titulável dos sucos de frutas adicionados na etapa de saborização ao mosto de fermentação para obtenção de vinagre de kombucha	41
Tabela 5 – Caracterização de parâmetros físico-químicas do vinagre de kombucha de frutas após pasteurização	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAB	Bactérias de Ácido Acético
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
BPF	Boas Práticas de Fabricação
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
ISAPP	Associação Científica Internacional para Probióticos e Prebióticos
IN	Instrução Normativa
LAB	Bactérias de Ácido Lático
MAPA	Ministério da Agricultura e Pecuária
NBR	Normas Brasileiras
PANC	Plantas alimentícias não convencionais
pH	Potencial de Hidrogênio
PRP	Programa de Pré-requisitos
ISO	Organização Internacional para Padronização
SCOBY	Colônia Simbiótica de Bactérias e Leveduras
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
V-ACE	Vinagre de Kombucha de Acerola
V-BRA	Vinagre de Kombucha Controle
V-MAN	Vinagre de Kombucha de Manga
V-SAP	Vinagre de Kombucha de Sapoti

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVO	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3 REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1 PROCESSOS FERMENTATIVOS NA ELABORAÇÃO DE ALIMENTOS: TIPOS E CARACTERÍSTICAS DA FERMENTAÇÃO E PRODUTOS OBTIDOS	17
3.2 KOMBUCHA: DA FUNÇÃO ALIMENTAR A TERAPÊUTICA	20
3.3 VINAGRE: PROCESSAMENTO, USO ALIMENTAR E MEDICINAL	22
3.4 PADRONIZAÇÃO DE PROCESSOS NAS INDÚSTRIAS DE ALIMENTOS	26
4 METODOLOGIA	28
4.1 TIPO DE ESTUDO	28
4.2 MATERIAL DE ESTUDO	28
4.3 PROCESSAMENTO DE VINAGRE DE KOMBUCHA	28
4.3.1 Etapa 1: Preparação do inóculo	30
4.3.2 Etapa 2: Fermentação da Kombucha	31
4.3.2.1 Confecção do mosto de fermentação	31
4.3.2.2 Processo de obtenção da kombucha	31
4.3.3 Etapa 3: Saborização com amostras vegetais	31
4.3.4 Etapa 4: Fermentação do vinagre de kombucha	32
4.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS PARA ACOMPANHAMENTO DE PROCESSO E PRODUTO FINAL	32
4.4.1 Determinação dos sólidos solúveis por refratometria (°Brix)	33
4.4.2 Determinação de pH	34
4.4.3 Determinação de acidez total titulável e em ácido acético	34
4.4.4 Determinação de teor alcoólico (%v/v)	34
4.4.5 Determinação do extrato seco total (m/v)	35
4.5 DETERMINAÇÃO DE PONTOS DE PADRONIZAÇÃO DO PROCESSO	

FERMENTATIVO DO VINAGRE DE KOMBUCHA	35
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS OBTIDAS DURANTE ACOMPANHAMENTO DO PROCESSO E PRODUTO FINAL DE VINAGRE DE KOMBUCHA	36
5.1.1 Etapa 1: Obtenção do inóculo	36
4.3.2 Etapa 2: Fermentação da Kombucha	37
4.3.2.1 Confeção do mosto de fermentação	37
4.3.2.2 Processo de obtenção da kombucha	37
4.3.3 Etapa 3: Saborização com amostras vegetais	39
4.3.4 Etapa 4: Fermentação do vinagre de kombucha	42
4.3.2.1 Obtenção do Vinagre de Kombucha pasteurizado	46
4.5 DETERMINAÇÃO DE PONTOS DE PADRONIZAÇÃO DO PROCESSO FERMENTATIVO DO VINAGRE DE KOMBUCHA	47
6 CONCLUSÃO	49
REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

A kombucha é uma bebida milenar de origem asiática, fermentada a partir do chá verde (*Camellia sinensis*) por uma Colônia Simbiótica de Bactérias e Leveduras (SCOBY) e atualmente é conhecida em todo o mundo pelas suas propriedades nutricionais e funcionais (Da Silva Júnior *et al.*, 2022; De Filippis *et al.*, 2018). No Brasil, a Instrução Normativa que rege os padrões de identidade e qualidade da kombucha é a IN nº 41/2019 publicada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2019).

O SCOBY é um consórcio de microrganismos em que as leveduras metabolizam o açúcar produzindo etanol e dióxido de carbono e as bactérias utilizam esse etanol para produzir diferentes ácidos orgânicos (Miranda *et al.*, 2016). Dentre eles, podemos citar o ácido acético, glucônico, tartárico, málico e, em menor proporção, o ácido cítrico. Do mesmo modo, encontra-se na kombucha enzimas, vitamina C e vitaminas do complexo B (Villarreal-Soto *et al.*, 2018).

Estudos recentes correlacionam benefícios observados em consumidores regulares da bebida à compostos bioativos presentes em sua composição, conferindo à esta, atividades como: regulação da pressão arterial; a ação desintoxicante; antidiabético e anticancerígenos (De Filippis *et al.*, 2018; Greenwalt; Steinkraus; Ledford, 2000).

O vinagre é outro exemplo de bebida milenar, originalmente obtido a partir da fermentação do vinho de uvas e da cerveja. Utilizado no preparo de molhos para salada e como conservante em alimentos, possui propriedades nutritivas e atividades biorreguladoras no organismo humano (Aquarone *et al.*, 2001; Veloso, 2013; Budak *et al.*, 2014).

A diversidade de compostos fenólicos e antioxidantes presentes em vegetais e bebidas dependem da matéria-prima utilizada, por isto os vinagres de frutas são considerados superiores em qualidades sensoriais e nutricionais (Marques *et al.*, 2010). Algumas propriedades funcionais foram estudadas demonstrando efeito anti-glicêmico do vinagre (Salbe *et al.*, 2009). Segundo Hashimoto *et al.* (2013), muitos componentes microbianos possuem efeito antitumoral ligados principalmente ao vinagre *kurozu*, obtido a partir de um arroz tradicional japonês.

O processamento de produção do vinagre inicia-se com uma fermentação alcoólica seguida de uma fermentação acética, decorrente ao metabolismo de

leveduras e bactérias acéticas presentes no mosto. Os principais métodos de processamento utilizados são o método artesanal, Orleans (lento e contínuo) e submerso (rápido e semi-contínuo) (Siepmann *et al.*, 2015).

A padronização de um processo de produção é fundamental para a reprodutibilidade da fabricação de um determinado produto, assim como o estabelecimento de parâmetros analíticos durante a fermentação e no produto final são fundamentais para a determinação de padrões de qualidade. No Brasil, a Instrução Normativa de nº06/2012 estabelece os padrões de identidade de fermentados acéticos, em todo o território nacional (Brasil, 2012).

O vinagre de Kombucha é obtido a partir da acetificação do mosto do chá verde proveniente da fermentação da kombucha, este fermentado acético atualmente é produzido de forma artesanal. Contudo, as substâncias bioativas provenientes da kombucha podem acrescentar propriedades nutritivas ao vinagre de kombucha. Rodrigues (2021) analisou a viabilidade da fermentação de kombucha vencidas para a produção de vinagre, obtendo um fermentado acético.

A Instrução Normativa nº06/2012 não contempla parâmetros de identidade e qualidade deste fermentado acético, por isso há necessidade da obtenção do vinagre de kombucha por um processo fermentativo padronizado. Neste sentido, o presente trabalho tem como objetivo a obtenção do vinagre de kombucha a partir de diferentes fontes vegetais, estabelecendo parâmetros de produção durante a fermentação com intuito de minimizar diferenças entre os lotes produzidos, garantindo a segurança e a presença de substâncias bioativas responsáveis pelas propriedades farmacológicas e nutricionais associadas.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Obter o vinagre de kombucha a partir de um processo padronizado, utilizando diferentes fontes vegetais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elaborar kombucha a partir de chá verde e sucos de fruta tropicais nordestinas;
- Avaliar o processo de fermentação acética sob parâmetros físico-químicos (pH, acidez total e teor de sólidos solúveis) durante o desenvolvimento do vinagre;
- Realizar controle de parâmetros físico-químicos relacionados ao processo produtivo e do produto final (pH, acidez total, sólidos solúveis, extrato seco total e teor alcoólico);
- Determinar fluxograma final de processo e pontos do processo de desenvolvimento da kombucha e do vinagre.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PROCESSOS FERMENTATIVOS NA ELABORAÇÃO DE ALIMENTOS: TIPOS E CARACTERÍSTICAS DA FERMENTAÇÃO E PRODUTOS OBTIDOS

A fermentação de produtos alimentícios é utilizada desde a antiguidade para diferentes finalidades, seja para conservação de alimentos, aumento da qualidade nutricional pela formação de compostos bioativos, seja para melhorar a digestibilidade e conferir características sensoriais específicas (Hur *et al.*, 2014; Martin; De Dea Lindner, 2022).

Existem diversos tipos de alimentos fermentados espalhados pelo mundo, consumidos culturalmente e provenientes de diferentes fontes, tais como: vegetais, laticínios, grãos, frutas, mel, peixes, carnes e chás (Xiang *et al.*, 2019). Estima-se que aproximadamente um terço dos alimentos consumidos no mundo são fermentados, alguns dos mais conhecidos são queijos, leites fermentados, o pão, bebidas alcoólicas e não alcoólicas, molhos, condimentos, entre outros (Xiang *et al.*, 2019; Martin; De Dea Lindner, 2022; Tamang *et al.*, 2020).

Segundo a definição bioquímica, a fermentação é um processo de transformações químicas realizadas por microrganismos em anaerobiose para obtenção de energia, o que abrange principalmente as fermentações alcoólicas e lácticas, mas esse conceito não se aplica a outros tipos de produtos fermentados (Martin; De Dea Lindner, 2022).

De acordo com a Associação Científica Internacional para Probióticos e Prebióticos (ISAPP), o processo fermentativo pode envolver variações nas vias metabólicas, incluindo o metabolismo aeróbio, o que abrange produtos como a kombucha e o vinagre que são fermentados, principalmente por bactérias de ácido acético (AAB) (Marco *et al.*, 2021). Assim, entende-se como fermentação o processo natural realizado pelo crescimento microbiano através do catabolismo de substâncias orgânicas complexas por ação enzimática, gerando produtos metabólitos secundários (Marco *et al.*, 2021; Xiang *et al.*, 2019).

A atividade enzimática durante a fermentação é definida, desejada e controlada para obtenção de substâncias específicas, com atividade que vão atribuir características, texturas, substâncias bioativas e aromas específicos. Sendo assim, fica explícita a diferença entre a fermentação e o processo de deterioração de alimentos, visto que ambos prosseguem durante o crescimento microbiano, mas

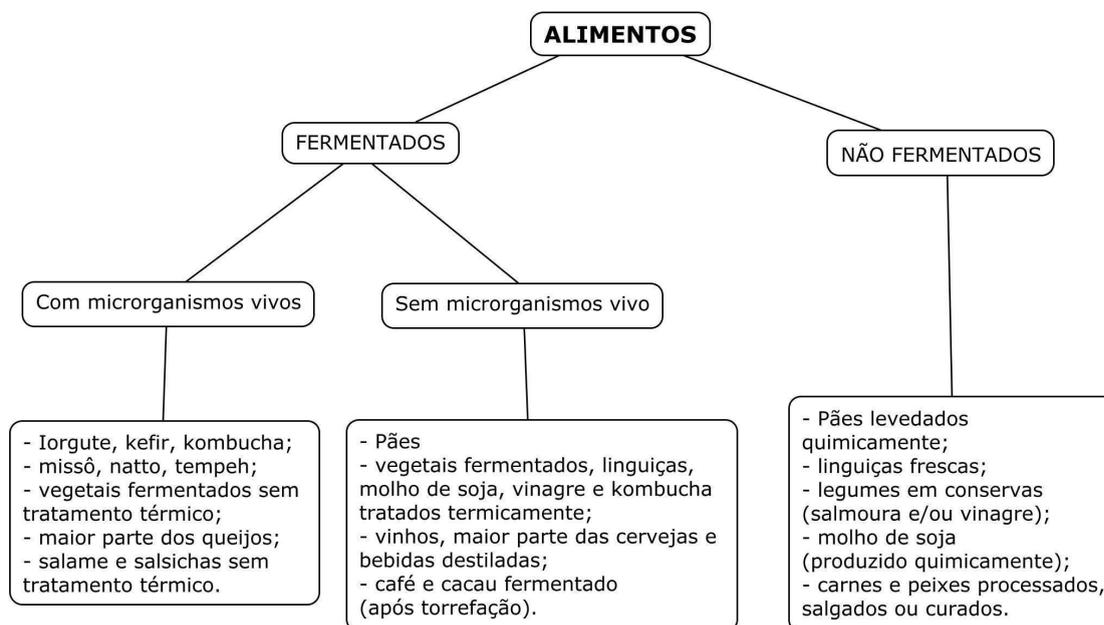
este último não é intencional e inviabiliza o consumo seguro do alimento (Marco *et al.*, 2021).

Os microrganismos relacionados à fermentação de matrizes alimentares são bactérias, fungos e leveduras. De acordo com o processo de fermentação e dada a concentração de seus metabólitos principais podem ser caracterizadas segundo essa produção: alcoólica, acética, láctica, propiônica, com produção de amônia e ácidos graxos (Marco *et al.*, 2017).

A principal espécie de microrganismo relacionada à produção de etanol é a *Saccharomyces cerevisiae*, utilizada na fermentação de bebidas alcoólicas como a cerveja. Já lactatos são obtidos por bactérias de ácido láctico (LAB), como exemplo os gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* e *Bifidobacterium*, que são encontradas em alimentos lácteos fermentados, vegetais, carne e cereais fermentados. Além destes, podemos encontrar as AAB, representadas pelo gênero *Acetobacter*, responsáveis pela fermentação de ácidos orgânicos, produtores de ácidos propiônicos como o *Propionibacterium freudenreichii*, assim como os produtores de amônia e ácidos graxos produzidos por bacilos e bolores (Villarreal-Soto, 2018; Marco *et al.*, 2017).

Durante o processo de fermentação de alguns produtos, alguns alimentos podem ser submetidos a operações unitárias que vão inativar esses microrganismos antes do consumo, como na produção de pães e vinhos. Assim, os alimentos fermentados podem ser classificados segundo a presença ou ausência desses microrganismos viáveis no produto final, como mostra a Figura 1 (Marco *et al.*, 2021). Mesmo sem viabilidade, esses alimentos possuem substâncias ativas e vitaminas que foram produzidas ao decorrer da fermentação, conferindo benefícios ao serem consumidas (Martin; De Dea Lindner, 2022; Rezac *et al.*, 2018).

Figura 1: Alimentos fermentados classificados segundo a presença ou ausência de microrganismos vivos.



Fonte: baseado e adaptado de Marco *et al.* (2021).

Portanto, os alimentos fermentados podem ser incluídos na classificação de alimentos funcionais e subdivididos em probióticos, prebióticos e simbióticos (Xiang *et al.*, 2019). Os alimentos probióticos são definidos internacionalmente pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) como alimentos que contém microrganismos vivos que ao serem administrados em quantidades adequadas, vão conferir benefícios à saúde do hospedeiro (Saad, 2006; Hotel *et al.*, 2001).

O Ministério da Saúde através da RDC Nº 241/ 2018 reforça a necessidade de garantir a segurança e os benefícios que traz o consumo, sendo necessário uma série de exigências para que um produto seja rotulado como probiótico. Algumas delas são a caracterização da espécie desses microrganismos conhecidos, estando estes viáveis e em concentrações suficientes nos alimentos que garantam o efeito após a sua ingestão, trazendo benefícios consideráveis e conhecidos à saúde (Colegiada *et al.*, 2018).

Os prebióticos são substratos alimentares digeríveis apenas pela microbiota intestinal, o que afetam benéficamente o hospedeiro, já os simbióticos são aqueles em que o probiótico e o prebiótico estão associados e essa interação pode potencializar a sobrevivência do probiótico no intestino (Saad, 2006). O consumo de alimentos fermentados, assim como seus produtos metabólicos, podem levar a

algumas melhorias na saúde e na qualidade de vida dos seus usuários, como por exemplo: diminuição de distúrbios gastrointestinais, melhoria na digestibilidade, aumento na tolerância à glicose, diminuição dos riscos de doenças cardiovasculares, diabetes, doença artrítica, problemas hepáticos e outros (Xiang *et al.*, 2019).

Os benefícios supracitados estão relacionados às enzimas e compostos bioativos presentes em sua composição, como enzimas ligninolíticas, que são capazes de metabolizar carboidratos hidrolisando glicosídeos fenólicos, liberando agliconas livres com potencial antioxidante, sendo muito utilizados na indústria de alimentos e bebidas (Hur *et al.*, 2014; Vatter; Shetty, 2003). A popularização destas propriedades resultou em um aumento no número de vendas e uma ascensão no mercado de alimentos funcionais, principalmente em decorrência da pandemia do coronavírus, visto que a população passou a consumir mais alimentos associados à saúde e bem-estar (Mckinsey; Company, 2021).

3.2 KOMBUCHA: DA FUNÇÃO ALIMENTAR A TERAPÊUTICA

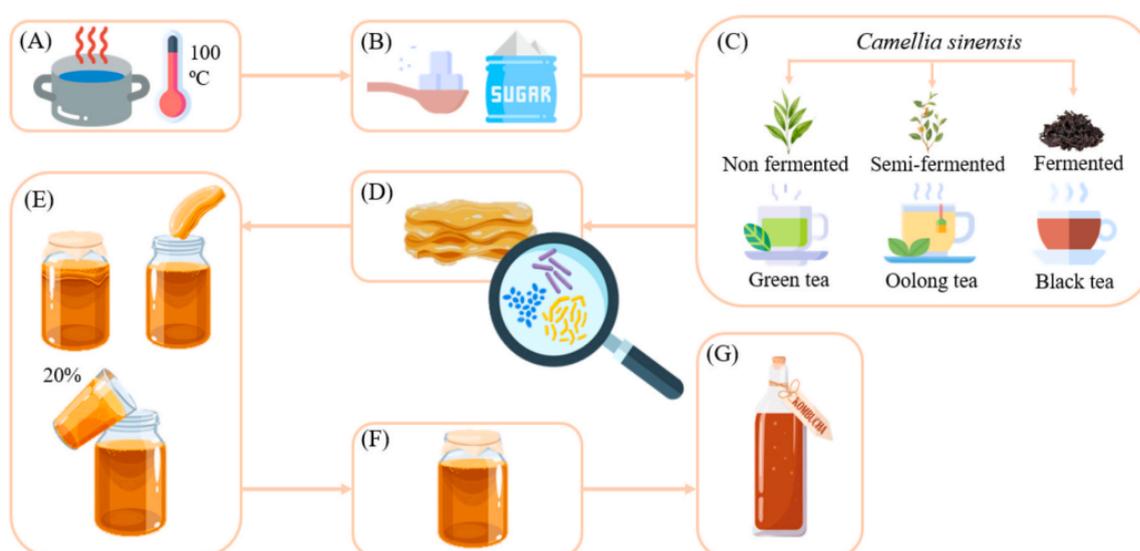
A Kombucha é uma bebida milenar tradicional na Ásia que começou a ser consumida por volta de 220 a.C, na Manchúria, no nordeste da China. Devido às suas propriedades energéticas e desintoxicantes ganhou popularidade, se disseminando ao longo dos anos pelas rotas comerciais. Por volta de 414 dC o médico coreano Kombu começou a tratar problemas intestinais do Imperador da época, acarretando na introdução da bebida no Japão. A bebida ficou conhecida como “Kombucha” em homenagem ao médico, e logo depois foi introduzida em vários países do mundo sendo conhecido pelos benefícios nutricionais e funcionais que desempenha no organismo (Da Silva Júnior *et al.*, 2022).

A kombucha é uma bebida fermentada a partir do chá de folhas de *Camellia sinensis*, geralmente utiliza-se o chá verde adoçado, chá oolong ou o chá preto, utilizando um consórcio de bactérias e leveduras, conhecido como fungo do chá ou Colônia Simbiótica de Bactérias e Leveduras (SCOBY) como inóculo (De Filippis *et al.*, 2018; Brasil, 2019). No Brasil, os padrões de identidade e qualidade da kombucha estão descritos na Instrução Normativa nº 41, publicada em 2019 pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2019).

O processo tradicional de fermentação utiliza equipamentos simples e ingredientes de fácil acesso, as principais etapas estão descritas na Figura 2,

começando pelo preparo da infusão da *Camellia sinensis* geralmente do chá verde, seguindo da inoculação do SCOBY, contendo o consórcio de bactérias e leveduras, adicionando o líquido *starter* oriundo de uma fermentação anterior (Da Silva Júnior *et al.*, 2022). Essa fermentação consiste em duas etapas, aeróbica e anaeróbica, sendo a última realizada durante o envase da bebida, sendo a metodologia descrita por Jayabalan *et al.* (2014) é referido como o processo padrão (Dutta; Paul, 2019; Da Silva Júnior *et al.*, 2022).

Figura 2: Processo de fermentação e obtenção da kombucha tradicional.



Legenda: A - Aquecimento de água potável a 100 C; B - Adição de açúcar; C- Infusão do chá verde (*Camélia sinensis*); D - Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras (SCOBY); E - Inoculação do SCOBY no chá verde adoçado, seguido da adição do líquido *starter*; F- Fermentação aeróbica; G- Fermentação anaeróbica.

Fonte: Da Silva Júnior *et al.*(2022).

A fermentação consiste na metabolização do açúcar presente no chá pelas leveduras obtendo etanol e dióxido de carbono, ao mesmo tempo que as AAB metabolizam o etanol produzindo ácidos orgânicos, como o ácido acético e glicurônico (Miranda *et al.*, 2016). Esse consórcio desenvolve uma película celulósica na interface entre o líquido e o ar atmosférico, sendo esse processo realizado em aerobiose (De Filippis *et al.*, 2018). O biofilme composto por celulose microbiana proveniente de diferentes fontes de carbono, como a glicose, etanol, sacarose e glicerol, passa por diversas reações bioquímicas extracelulares por bactérias principalmente do gênero *Acetobacter*. As fibrilas de celulose se ligam à célula bacteriana, permitindo o seu crescimento rápido sob condições controladas,

formando a estrutura do SCOBY (Villarreal-Soto *et al.*, 2018).

Três tipos de fermentação compõem o processo de fabricação da kombucha, sendo elas a fermentação alcoólica, láctica e acética (Villarreal-Soto *et al.*, 2018). Os principais microrganismos representados são as AAB do gênero *Komagataeibacter*, *Gluconobacter* e *Acetobacter* (De Roos; De Vuyst, 2018), as LAB são do gênero *Lactobacillus* e *Lactococcus* (Marsh *et al.*, 2014), e leveduras sendo elas representadas pela *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomycodes ludwigii*, *Kloeckera apiculata*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Torulaspota delbrueckii* e *Brettanomyces bruxellensis* (Villarreal-Soto *et al.*, 2018).

Outros metabólitos são produzidos por este consórcio de bactérias e leveduras, como ácidos orgânicos: o acético, glucônico, tartárico, málico e, em menor proporção, o ácido cítrico, que atribuem sabor azedo característico (Villarreal-Soto *et al.*, 2018). Além de vitaminas hidrossolúveis como C, B1, B2, B3, B6 e B12, além do ácido fólico e várias enzimas (Miranda *et al.*, 2016).

A composição química do Kombucha, assim como os polifenóis presentes no chá (Jayabalan *et al.*, 2014), podem ser responsáveis pela associação do consumo dessa bebida aos vários benefícios relacionados à saúde (De Filippis *et al.*, 2018). Alguns deles estão associados ao melhoramento da resposta imunológica, redução da pressão arterial, ação desintoxicante, antidiabético, antioxidantes e anticancerígenos (De Filippis *et al.*, 2018; Greenwalt; Steinkraus; Ledford, 2000). Assim, com a divulgação no mercado mundial de bebidas funcionais, a kombucha vem ganhando popularidade graças aos seus benefícios (Dutta e Paul, 2019).

3.3 VINAGRE: PROCESSAMENTO, USO ALIMENTAR E MEDICINAL

O vinagre originalmente obtido do vinho de uvas e da cerveja decorrente da fermentação espontânea destes produtos. Utilizado principalmente como condimentos na preparação de molhos para salada e como conservante em alimentos, possui propriedades nutritivas e atividades biorreguladoras no organismo humano (Aquarone *et al.*, 2001; Veloso, 2013; Budak *et al.*, 2014). O vinagre de maçã é um exemplo de vinagre produzido a partir de frutas, que possui potenciais propriedades antifúngicas (Mota *et al.*, 2015), atua na prevenção de hiperlipidemia (Budak *et al.*, 2011), entre outras funções farmacológicas relatadas (Song *et al.*, 2019).

Na obtenção do vinagre são necessárias duas etapas no processo

fermentativo, uma fermentação alcoólica e outra acética, podendo ser classificada de acordo com a matéria-prima de origem e quanto ao tipo de processo de fabricação. A partir da matéria-prima utilizada que se inicia a produção de álcool, faz-se a classificação do vinagre, em: vinagres de sucos de frutas, de tubérculos, cereais, de matérias-primas açucaradas e de álcool (Budak *et al.*, 2014).

Os microrganismos utilizados na primeira fermentação são leveduras representadas pela *Saccharomyces cerevisiae*, ocorrendo uma fermentação anaeróbia para a produção de álcool. Em sequência, a fermentação acética ocorre obrigatoriamente de forma aeróbica com a adição de uma variedade de bactérias de espécies do gênero *Acetobacter*, que vivem em simbiose aumentando assim o seu metabolismo. Alguns fatores podem influenciar diretamente na qualidade do vinagre, como por exemplo, os componentes da matéria-prima, presença de contaminantes, tempo de fermentação, tipo e controle do processo fermentativo, entre outros parâmetros (Aquarone *et al.*, 2001).

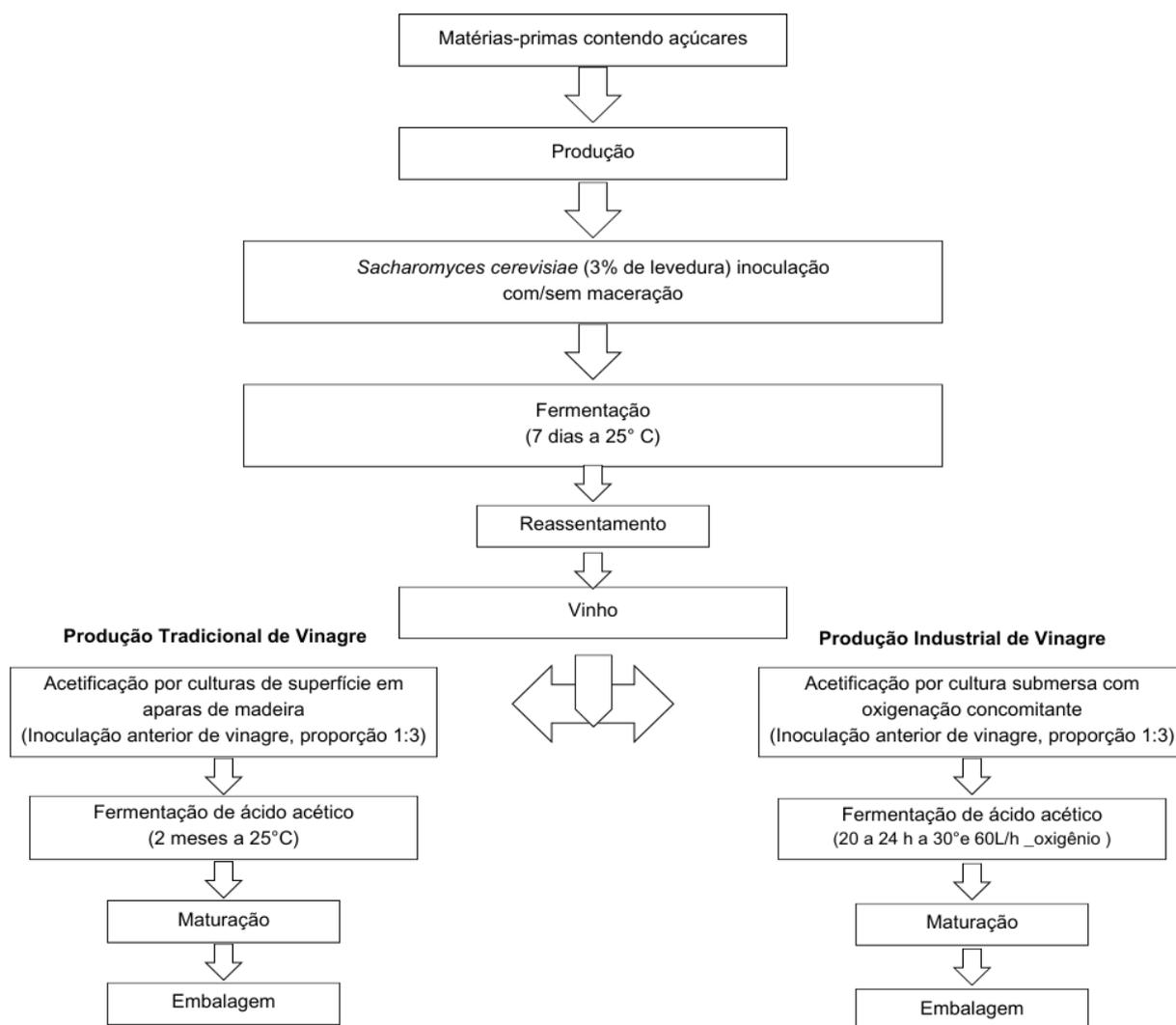
Alguns processos utilizados na fabricação de vinagre são classificados pelo seu nível de complexidade e pelo tempo de incubação, são eles: o processo lento (Orléans, francês ou em superfície), o processo rápido (ou alemão) e o processo submerso. O processo lento é o mais tradicional utilizando parâmetros de controle simples para melhorar a sua produtividade, como por exemplo, a preferência de vinhos a partir de frutos, mel e cereais, a temperatura regulada entre 20 e 25°C, uma relação maior de área sob o volume utilizado, trabalha-se com altos níveis de acidez em um processo semicontínuo, que é a retirada de vinagre e adição de novo vinho, conhecido como “corte” (Aquarone *et al.*, 2001; Siepmann *et al.*, 2015).

O processo rápido é realizado em equipamento chamado gerador de vinagre, constituído por compartimentos que permitem a entrada e saída de ar, recirculação e a retirada do vinho. A mistura ou mosto como também é chamado passa pelo gerador até haver a conversão total do etanol em ácido acético. Já o processo submerso possui uma alta eficiência e produtividade quando comparado aos demais processos, utiliza um acetificador (fermentador) com aeradores tipo auto-aspirante localizado no fundo do tanque, fornecendo ar em todos os pontos do mosto, contém serpentina para controle da temperatura, assim como outras tecnologias. Portanto, a automação permite um controle maior no processo de acetificação em menor tempo de incubação, chegando a horas o mesmo processo que levaria semanas ou meses em métodos tradicionais (Aquarone *et al.*, 2001).

A nível industrial o processo submerso é o mais utilizado em diversos países,

mas ainda encontramos a fabricação de vinagres finos por meio de processo lento (tradicional), podendo ser envelhecidos em barris com intuito de atribuir aromas e sabores específicos. As principais etapas utilizadas no processamento de vinagre são apresentadas na Figura 3 (Budak *et al.*, 2014).

Figura 3: Fluxograma dos diferentes tipos de processamento para fabricação de vinagre.



Fonte: Budak *et al.* (2014).

Após o envasamento em embalagem própria, com material resistente e de qualidade, o vinagre deve ser submetido a processo de pasteurização a temperatura de 60 a 66°C, por 30 minutos (Xavier *et al.*, 2009). O processo de pasteurização é utilizado para impedir a oxidação total de ácido acético, destruindo ou inativando

parte da população microbiana, o que conseqüentemente melhora as características sensoriais e organolépticas do produto acabado (Aquarone *et al.*, 2001).

Existe uma grande variedade de vinagres fabricados pelo mundo, o famoso vinagre balsâmico é produzido tradicionalmente a partir de mostos cozidos e concentrados de uvas brancas ou tintas, esse vinagre possui um sabor agridoce devido ao seu longo envelhecimento em barris num processo semi-industrial (Meneguzzo e Rizzon, 2006); o vinagre xerez produzido na Espanha; o vinagre de caldo de cana fermentado, muito utilizado nas Filipinas; o vinagre japonês Kurosu e o vinagre chinês Zhenjiang que são produzidos a partir de arroz (Nishidai *et al.*, 2000; Xu; Tao; Ao, 2007); o vinagre de kombuchá e o vinagre de batata são produzidos no Japão (Budak *et al.*, 2014).

Mediante a grande variedade de vinagres existentes, foram criados procedimentos que auxiliam na detecção de possíveis adulterações, determinando componentes próprios da matéria-prima utilizada, como por exemplo, o ácido tartárico e antocianinas presentes em vinagre de vinho tinto (Aquarone *et al.*, 2001). Sabe-se que outros ácidos orgânicos, além do ácido acético, podem ser produzidos pelas Bactérias de Ácido Acético, alguns exemplos são o ácido tartárico, láctico, málico e cítrico, sendo obtidos por vias oxidativas de açúcares e álcoois presentes (Budak *et al.*, 2014; Sengun; Karabiyiklil, 2011).

Muitos efeitos terapêuticos estão atribuídos a utilização de diferentes tipos de vinagres, graças a presença de substâncias bioativas, como por exemplo, a pectina e o beta-caroteno presentes no vinagre de cidra de maçã, essas substâncias estão associadas a redução de colesterol e na prevenção de doenças cancerígenas, respectivamente (Aquarone *et al.*, 2001).

A capacidade antimicrobiana associada ao vinagre de arroz foi avaliada frente a inoculação de *E. coli* O157:H7 em alfaces, observando uma redução na carga microbiana. Essa atividade deve-se principalmente à passagem de ácido acético pela membrana bacteriana levando a morte celular (Chang; Fang, 2007). A atividade antioxidante está diretamente relacionados à presença de compostos fenólicos, como tirosol e ácido ferúlico, estes encontrados no vinagre Kurosu a base de arroz japonês (Nishidai *et al.*, 2000; Seki *et al.*, 2008) e no vinagre balsâmico em especial pela presença de melanoidinas (Xu; Tao; Ao, 2007).

Atualmente a fabricação de vinagre a partir de kombucha vem sendo realizada de forma artesanal para consumo próprio, sem uma padronização no

processo fermentativo conhecido, o que aumenta a variabilidade da concentração de substâncias bioativas. No entanto, Rodrigues (2021) mostrou que há necessidade de estudos complementares para a produção deste vinagre em grande escala, principalmente por fábricas de kombucha, padronização do processo fermentativo e otimização da rentabilidade na produção de ácido acético durante a fermentação.

Alguns fatores estão relacionados às variações do processo fermentativo, sendo eles parâmetros como temperatura, tempo de fermentação e pH do meio, que podem selecionar e induzir o metabolismo de algumas espécies de bactérias de interesse durante o cultivo (Villarreal-Soto *et al.*, 2018). Por isso, existe a necessidade da obtenção do vinagre de kombucha a partir do processo fermentativo padronizado, a fim de minimizar diferenças entre as produções, garantindo a segurança e a presença de substâncias bioativas que vão proporcionar propriedades funcionais ao organismo.

3.4 PADRONIZAÇÃO DE PROCESSOS NAS INDÚSTRIAS DE ALIMENTOS

A padronização de processos consiste na uniformização das atividades realizadas, com o estabelecimento de documentos e padrões (Valls, 2005), sendo um dos elementos que compõe a gestão da qualidade (Teixeira *et al.*, 2014). A ISO (*International Organization for Standardization*) é uma organização internacional para padronização que através da implementação de normas, NBR ISO 9001, promove o estabelecimento do sistema de gestão da qualidade e a padronização das atividades (Marshall Junior *et al.*, 2010). A empresa que cumpre as normas vigentes da ISO pode receber um certificado através de um processo de auditoria de certificação que comprova o cumprimento de todos os requisitos de referência (Mendes, 2007).

Na indústria de alimentos o funcionamento da gestão da qualidade proporciona aos seus clientes, um produto dentro dos padrões de qualidade e segurança alimentar, impactando diretamente na rentabilidade das empresas (Telles, 2014). Com o estabelecimento de todos os processos em uma cadeia produtiva, procedimentos e operações, desde o recebimento da matéria prima até a produção final, a gestão da qualidade atua padronizando os processos de acordo com a legislação vigente do produto, assim como as normas internas da empresa (Nogueira, 2022).

A principal função da padronização é permitir que a empresa ofereça produtos e serviços com as mesmas características, mantendo o padrão de qualidade, atendimento, prazo e custos ao cliente (Silva; Duarte; Oliveira, 2004), contribuindo para a diminuição da variabilidade dos processos (Polo-Redondo; Cambra-Fierro, 2008). Utilizada para controlar, prever e minimizar erros, um sistema de padronização cria e estabelece padrões de desempenho e de procedimentos (Lucena; Araújo; Souto, 2006; Sandoff, 2005). Trata-se de uma documentação formal, organizada em formato de texto ou gráficos, estabelecendo conexões entre as atividades desenvolvidas, pessoal e objetivos seguindo um fluxo de trabalho (Ungan, 2006).

Com isso, o controle dos processos de fabricação se dá pela instalação de um programa de controle de qualidade interno, visando a integridade dos alimentos produzidos, possibilitando a identificação e avaliação dos desvios pela empresa, de forma a assegurar o controle dos perigos, combinando PPR (programa de pré-requisitos), PPR operacional e o Plano APPCC (Análise de Perigos de Pontos Críticos de Controle) (Garcia, 2015).

O PPR oferece condições básicas para a produção de alimentos seguros, fazendo o uso de documentos como BPF (Boas Práticas de Fabricação) e POP (Procedimentos Operacionais Padronizados). O PPR operacional gerencia o controle de perigos fora dos pontos críticos de controle, diferentemente da ferramenta APPCC, que verifica os padrões aceitáveis aos pontos críticos de controle, diretamente ligado a redução de contaminação na indústria alimentícia quando aplicado corretamente (ABNT, 2006; Barreto *et al.*, 2013).

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO DE ESTUDO

O estudo foi desenvolvido de forma experimental obtendo a formulação de vinagre de kombucha em escala reduzida através da padronização físico-química do processo fermentativo.

4.2 MATERIAL DE ESTUDO

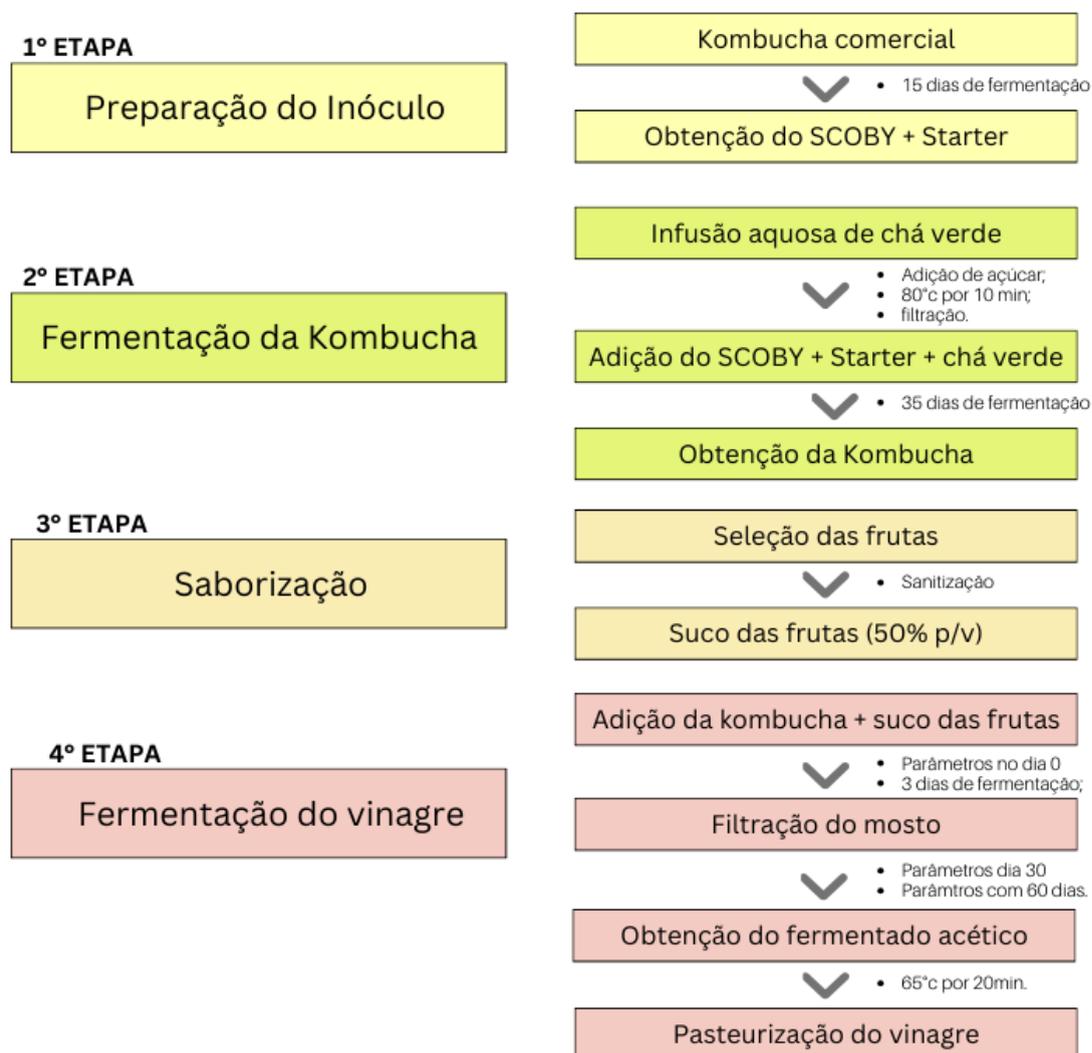
As matérias primas utilizadas foram adquiridas em lojas especializadas e certificadas, são eles: a kombucha comercial não pasteurizada da marca Zai Kombucha, utilizada para dar início ao inóculo fermentativo, conhecida como a Colônia Simbiótica de Bactérias e Leveduras (sigla em inglês, SCOBY), folhas de chá verde (*Camellia sinensis var assamica*) para as infusões, da marca Yamamotoyama, além de frutas tropicais típicas do nordeste brasileiro sendo elas: manga (*Mangifera indica*), acerola (*Malpighia emarginata*) e sapoti (*Manilkara zapota*). As frutas foram adquiridas em maio de 2023 em loja especializada na cidade de Igarassu.

Os experimentos de fermentação e análises físico-químicas foram realizados no Laboratório de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, em parceria do Laboratório de Sínteses Orgânicas Aplicada a Fármacos, ambos do Departamento de Ciências Farmacêuticas – CCS, UFPE, que apoiou de forma direta na realização de alguns testes.

4.3 PROCESSAMENTO DE VINAGRE DE KOMBUCHA

O método lento e contínuo de fermentação, conhecido como método Orléans, foi utilizado e adaptado para a obtenção de vinagre de kombucha, o experimento foi realizado em fermentadores tradicionais (SIEPMANN *et al.*, 2015). O SCOBY foi utilizado como inóculo de bactérias acéticas e leveduras que ficam dispersas no mosto e na interface da superfície do líquido em contato com o oxigênio. Os processos podem ser divididos em quatro etapas, como mostra a Figura 4.

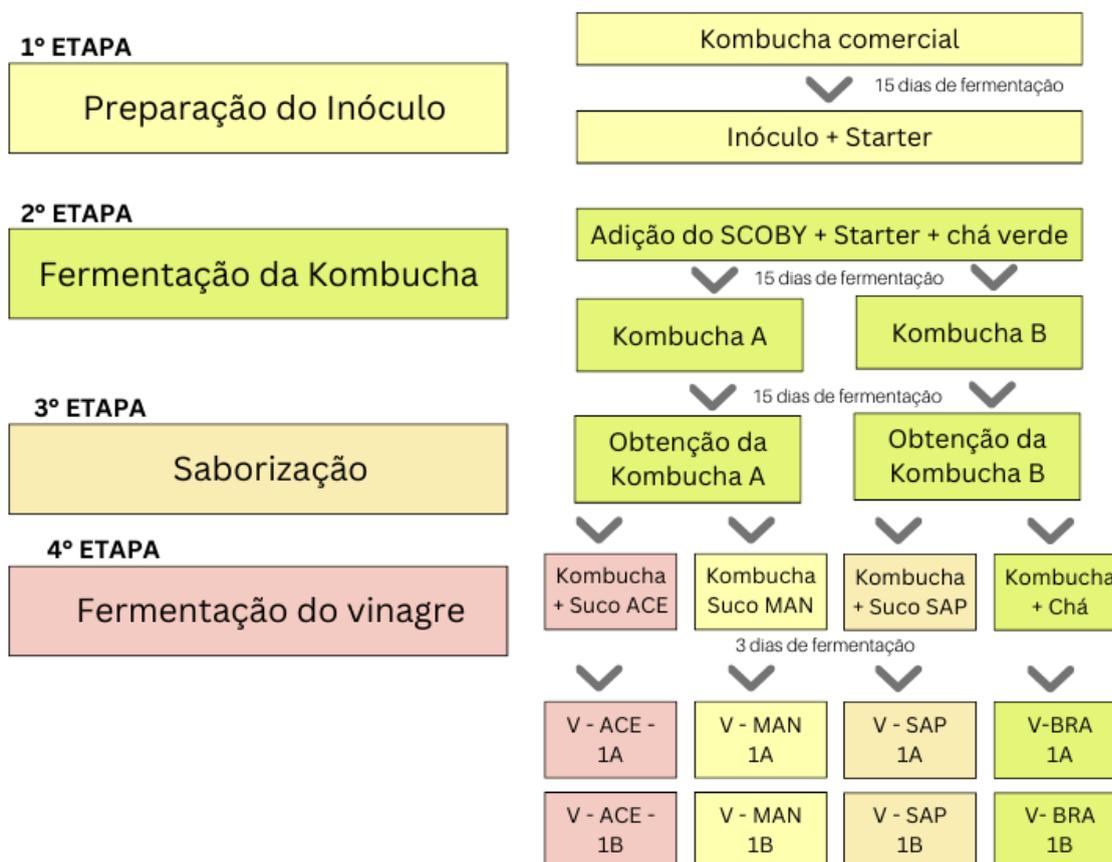
Figura 4: Fluxograma de delineamento experimental para processamento de obtenção do vinagre de kombucha.



Fonte: A autora, 2023.

O estudo foi realizado como mostra a Figura 5, seguidos de partições para aumentar o número de fermentadores e representatividade entre as diferentes amostras vegetais, utilizando como controle a fermentação do vinagre contendo apenas chá verde. As fermentações descritas foram realizadas em triplicata.

Figura 5: Fluxograma de delineamento das amostras analisadas para processamento de obtenção do vinagre de kombucha.



Fonte: A autora, 2023.

Cada uma das três kombuchas comerciais correspondem a um inóculo utilizado, sendo dividido cada uma em dois fermentadores de kombucha (duplicatas), totalizando seis fermentadores. Uma duplicata foi desprezada por apresentar alterações na fermentação, restando assim as duplicatas A e B (2ª etapa). Posteriormente, foram subdivididas e saborizadas, adicionando o suco de acerola, manga e sapoti, mantendo como controle o vinagre à base de chá verde. Em seguida, foram divididas novamente em triplicatas, obtendo 24 fermentadores ao total, com representatividade de seis fermentadores por sabor para obtenção dos vinagres.

4.3.1 Etapa 1: Preparação do inóculo

Foram obtidas três amostras de kombucha sabor uva da Zai Kombucha, em que foram dispostas em fermentadores pequenos para que o inóculo de SCOBY

fosse formado, comprovando assim a atividade dos microrganismos dispostos no líquido. Este processo ocorreu em 15 dias de fermentação, foi realizado em triplicata, sendo o fermentado dividido posteriormente para garantir confiabilidade dos resultados e representatividade das amostras vegetais utilizadas.

4.3.2 Etapa 2: Fermentação da Kombucha

4.3.2.1 Confeção do mosto de fermentação

Seguindo a Instrução normativa (IN) nº54/2020 do Ministério da Agricultura (MAPA) o mosto foi composto pela infusão aquosa de chá verde (*Camellia sinensis* var *assamica*), utilizando água potável como estabelecido em legislação do Ministério da Saúde (Portaria nº 2.914/2011). Foi utilizado o processo de infusão a quente por 10 min a temperatura de 80°C, com a proporção de 5% p/v de material vegetal seco rasurado.

A sacarose foi obtida comercialmente seguindo a RDC nº 271/2005, sendo adicionada ao mosto na concentração de 70 g/L, posteriormente foi submetida ao processo de filtração. A Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras (SCOBY) e o líquido *starter* (oriundo da preparação do inóculo) foram adicionados a cada mosto para obtenção do líquido fermentado: a kombucha.

4.3.2.2 Processo de obtenção da kombucha

Com a obtenção dos inóculos, foram divididos e dispostos em fermentadores, adicionando o mosto obtido através da infusão aquosa de chá verde adoçado (1,5L), juntamente com o SCOBY e o *starter*. Em seguida, o fermentador foi coberto com tecido, o que permitiu a oxigenação do mosto durante todo o processo, com 15 dias foi adicionado a mesma proporção de chá verde adoçado ao mosto, permanecendo por mais 15 dias de fermentação até a obtenção da kombucha. Após a obtenção da kombucha, houve um fracionamento entre as duplicadas, obtendo quatro fermentadores por inóculo inicial, para que cada SCOBY fosse retirado e o suco de frutas adicionado ao mosto fermentado. Aguardou-se aproximadamente 72 horas e o fermentado foi submetido a filtração.

4.3.3 Etapa 3: Saborização com amostras vegetais

As frutas, vegetais e especiarias seguem a legislação específica da Agência

Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), Resolução RDC nº 276/2005. Após a seleção das frutas utilizadas foram lavadas e sanitizadas por imersão em solução de hipoclorito de sódio 200 ppm por 10 minutos. Utilizou-se a polpa de frutas com adição de água potável de 50% m/v, para facilitar o processo de trituração com o auxílio de um liquidificador industrial.

Após o processo de obtenção dos sucos, as matérias primas foram refrigeradas para estabilização das amostras e seguiram para o processamento de kombucha, sendo submetidas ao processo de filtração após 3 dias de fermentação. Em seguida, cada mosto saborizado foi subdividido em duplicatas, totalizando 8 fermentadores por inóculo inicial, para posteriormente obter o vinagre de kombucha.

4.3.4 Etapa 4: Fermentação do vinagre de kombucha

A kombucha saborizada foi submetida ao processo de fermentação 2, seguindo a metodologia de Orléans. Foi observado a acidificação, assim como os parâmetros físico-químicos do mosto ao longo do tempo. As verificações foram realizadas no tempo 0, após 30 e 60 dias.

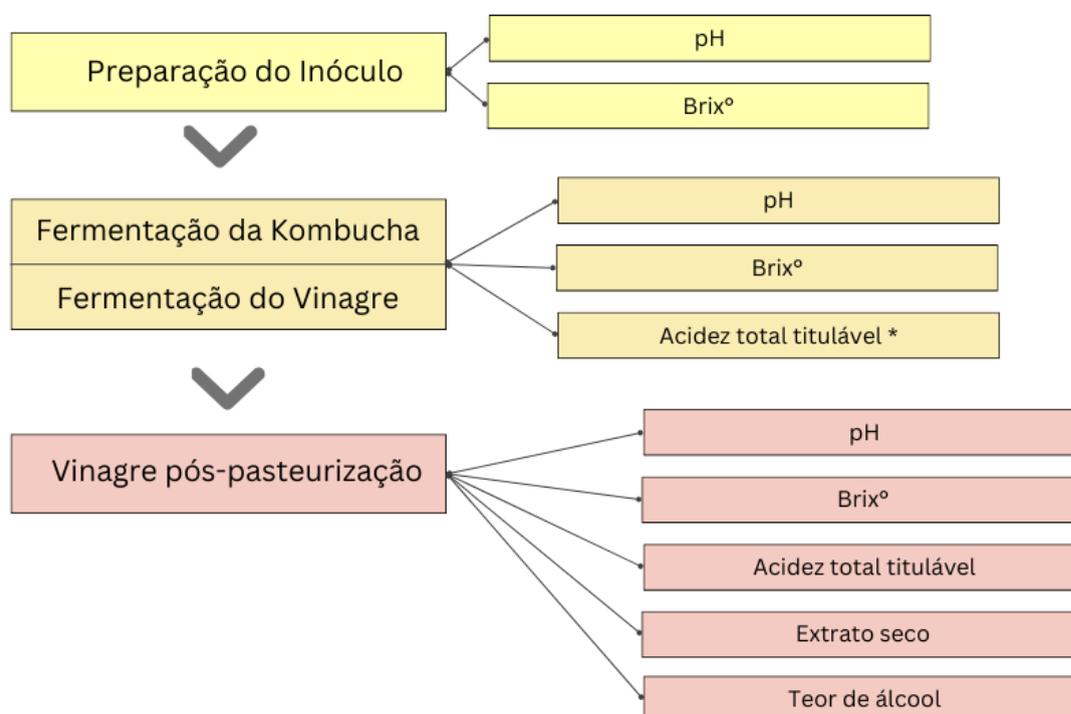
Com a obtenção dos fermentados acéticos foi realizado o processo de filtração, seguida de uma pasteurização a fim de garantir a uniformidade e estabilidade do produto. O fermentado foi acondicionado em frascos de vidro devidamente fechados, aquecidos em banho-maria a 65°C por 25 minutos, após o procedimento, este foi resfriado à temperatura ambiente.

4.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS PARA ACOMPANHAMENTO DE PROCESSO E PRODUTO FINAL

As análises foram realizadas através de medições de pH e determinação do teor de sólidos solúveis (°Brix) durante todo o processo de fermentação para obtenção do inóculo e da kombucha.

Durante o acompanhamento de obtenção da kombucha, os parâmetros foram medidos no intervalo de 5 dias, durante 35 dias, e ao final do processo foi determinada a acidez total titulável expressa em ácido acético (g/100ml), como mostra a Figura 6. Os parâmetros foram baseados conforme a IN nº 41/2019, que segue as exigências para padrão de identidade e qualidade da kombucha em todo o território nacional (Brasil, 2019).

Figura 6: Fluxograma do acompanhamento dos parâmetros para padronização de processamento de vinagre de kombucha.



Fonte: A autora, 2023.

Realizou-se a avaliação dos fermentados acéticos conforme os requisitos físico-químicos no tempo 0 e nos tempos de 30 e 60 dias. Para a verificação da estabilidade físico-química as amostras foram pasteurizadas e mantidas sob refrigeração, armazenadas em recipientes de vidro e vedadas.

Para o produto final foram avaliados o teor de acidez total titulável e em ácido acético (g/100ml), o teor alcoólico (%v/v) a 20°C, extrato seco total (g/L), pH e determinação do teor de sólidos solúveis (°Brix), conforme exigências para padrão de identidade e qualidade de fermentados acéticos descritos na IN n°06/2012 (BRASIL, 2012), foram utilizados os métodos descritos nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008) com análises em duplicata.

4.4.1 Determinação dos sólidos solúveis por refratometria (°Brix)

A determinação dos sólidos solúveis de uma amostra pode ser estimada pelo índice de refração com o auxílio de um refratômetro, o qual é medido e expresso por °Brix, quando comparado com tabelas de referências indica o teor de açúcar

aproximado presente no mosto. Pode-se estimar que 1 grau Brix corresponde a 1g de sólidos solúveis (carboidratos) dispersos em 100g de mosto (Corazza; Rodrigues; Nozaki, 2001).

4.4.2 Determinação de pH

O pH das amostras foi determinado pelo método de leitura direta pelo aparelho digital Edutec JK-PHM-005 provido de eletrodo. Possibilitando assim, uma medida simples, direta e precisa do pH (IAL, 2008).

4.4.3 Determinação de acidez total titulável e em ácido acético

O método de titulação volumétrica foi utilizado para a quantificação da acidez total das amostras, utilizando uma solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ como titulante e uma solução alcoólica de fenolftaleína a 1% como indicador. Para cada titulação, utilizou-se 10 mL do mosto diluído com 10 mL de água destilada (IAL, 2008; Tessaro *et al.*, 2010). A partir do volume gasto de NaOH determinou-se a acidez total e a acidez expressa em ácido acético, segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), expresso em meq/L e em g de ácido acético por 100 mL, respectivamente.

$$\frac{V_o \times f \times M \times 1000}{V} = \text{Acidez em meq/L}$$

$$\frac{V_o \times M \times f \times PM}{V \times 10 \times n} = \text{Ácido acético, g por 100 mL}$$

Em que, V_o é o volume de solução de hidróxido de sódio gasto na titulação em mL, M corresponde a molaridade da solução de hidróxido de sódio, f representa o fator de correção da solução de NaOH, PM corresponde ao peso molecular do ácido acético, V trata do volume da amostra em mL e n equivale ao número de hidrogênios ionizáveis do ácido acético.

4.4.4 Determinação de teor alcoólico (%v/v)

O teor de álcool presente no fermentado foi realizado pelo método da densidade do destilado obtido a partir da amostra. Foram transferidos o equivalente a 100ml da amostra a temperatura ambiente para um balão de destilação contendo 5 mL de água destilada, em seguida foi colocada sob uma manta aquecedora

acoplado com um condensador de refluxo, o qual ficou fechado armazenando assim a fração destilada que condensou (Tessaro *et al.*, 2010).

Foi recolhido 25 ml e completou-se o volume em 100 mL com água destilada. Posteriormente foi determinada a densidade com auxílio de um picnômetro, sendo calculado pela sua relação de massa e volume da mistura final (Tessaro *et al.*, 2010). A graduação alcoólica do destilado foi determinada segundo uma conversão de densidade em porcentagem de álcool descrito nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

4.4.5 Determinação do extrato seco total (m/v)

Com auxílio de uma cápsula de porcelana previamente aquecida em estufa a 100°C (± 5°C) por uma hora e resfriada em dessecador, foi transferido 20 mL do mosto fermentado com um auxílio de uma pipeta graduada. Em seguida, foi levado ao banho maria fervente até que a amostra fosse reduzida a uma consistência densa. Assim, o resíduo foi levado à estufa a 100°C (± 5°C) por 1 hora, após o processo foi resfriado em dessecador e a massa final da amostra foi obtida. O extrato seco total foi calculado segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), expresso em m/v.

$$\frac{1000 \times N}{V} = \text{Extrato seco (mg/ml)}$$

Em que, N é a massa em grama do resíduo seco obtido e V o volume inicial da amostra.

4.5 DETERMINAÇÃO DE PONTOS DE PADRONIZAÇÃO DO PROCESSO FERMENTATIVO DO VINAGRE DE KOMBUCHA

De acordo com as análises realizadas durante a fermentação, faz-se necessário a identificação de pontos cruciais para a padronização de um processo, isto é, quando os parâmetros físico-químicos a serem alcançados são estabelecidos torna-se possível ajustar operações e tomar medidas que possibilitem o objetivo ser alcançado. A escolha desses pontos foi possível a partir do acompanhamento de todas as etapas através de testes físico-químicos que determinam o controle de qualidade do fermentado acético.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS OBTIDAS DURANTE ACOMPANHAMENTO DO PROCESSO E PRODUTO FINAL DE VINAGRE DE KOMBUCHA

5.1.1 Etapa 1: Obtenção do inóculo

A fermentação a partir da kombucha comercial ocasionou na formação do SCOOPY na superfície do mosto e do líquido *starter* que foi utilizado como inóculo das fermentações posteriores. Na Tabela 1, podemos observar os valores de pH e sólidos solúveis totais expressos em °Brix, no início e no final da fermentação do inóculo, totalizando 15 dias do processo. Assim, foi possível a observação da diminuição do pH de 4,17 para 2,57, indicando uma acidificação do meio devido a produção de ácidos orgânicos decorrentes da fermentação. Os resultados obtidos foram semelhantes a Lopes *et al.* (2021) em que acompanhou o tempo de fermentação da kombucha no período de 12 dias, observando o decaimento do pH de 3,8 para 2,78.

Tabela 1 – Caracterização de parâmetros físico-químicos no acompanhamento da obtenção do inóculo para obtenção de kombucha.

Parâmetros:	pH	°Brix
Inóculo Inicial	3,72 ± 0,15	6,27 ± 0,25
Inóculo Final	2,57 ± 0,12	4,53 ± 0,15

Fonte: A autora, 2023.

O decréscimo do pH é desejável para inibir a proliferação de possíveis microrganismos patogênicos presentes no mosto, por isso a verificação do pH é importante para garantir a segurança alimentar destas bebidas, evitando possíveis falhas no processo por contaminantes (Neffe-Skocinska *et al.*, 2017).

Além disso, observou-se o decaimento simultâneo dos sólidos solúveis de 6,27 para 4,53, expressos em °Brix, corroborando com a utilização dos açúcares disponíveis no mosto, pelas bactérias, para a produção de ácidos orgânicos. Durante a fermentação foi possível a observação da formação do biofilme homogêneo e uniforme oriundo da simbiose de bactérias e leveduras da kombucha.

4.3.2 Etapa 2: Fermentação da Kombucha

4.3.2.1 Confeção do mosto de fermentação

Os parâmetros de pH e sólidos solúveis do chá verde adoçado, utilizado como mosto base para a fermentação da kombucha foram verificados, apresentando a média de pH no valor de 5,19 e 6,70 em °Brix, como mostra a Tabela 2.

Tabela 2 - Parâmetros físico-químicos do chá verde adoçado para obtenção de kombucha.

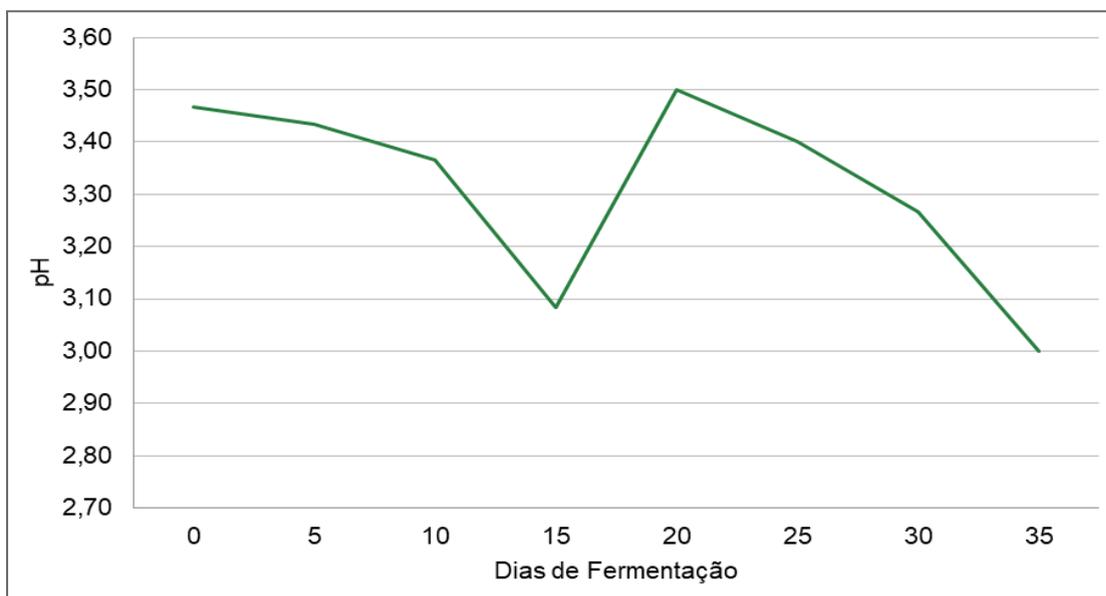
Mosto:	pH	°Brix
Chá verde adoçado	5,19 ± 0,10	6,70 ± 0,14

Fonte: A autora, 2023.

4.3.2.2 Processo de obtenção da kombucha

Com a fermentação do chá verde adoçado pelo SCOBY e o líquido *starter* que foi adicionado, pode-se acompanhar os parâmetros de pH e os sólidos solúveis totais em intervalos de 5 dias, até serem atingidos 35 dias. Assim, foi possível observar que no decorrer do processo fermentativo houve uma acidificação do mosto variando o pH de 3,5 para 3,0, como mostra a Figura 7. A kombucha obtida está dentro dos parâmetros estabelecidos pela Instrução Normativa de N° 41 de 2019, em que descreve que o pH deve ficar na faixa de no mínimo 2,5 e no máximo 4,2.

Figura 7 - Gráfico de acompanhamento do pH de mosto durante processo de fermentação para obtenção de Kombucha

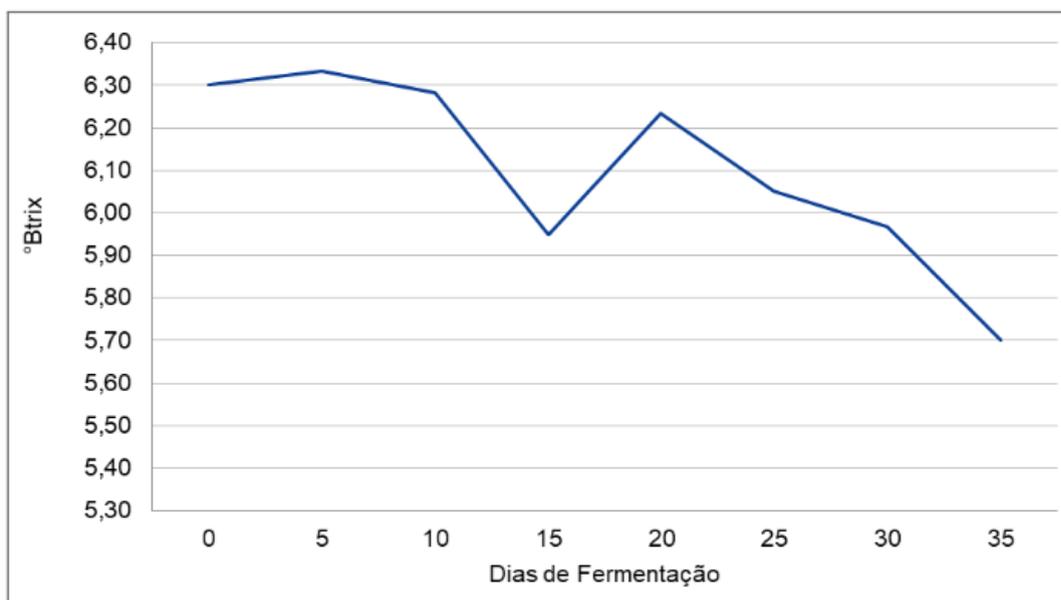


Fonte: A autora, 2023.

A baixa variação dos valores de pH pode estar associada a um possível efeito tampão, decorrente da interação dos ácidos orgânicos produzidos e seus sais presentes no meio (Neffe-Skocinska *et al.*, 2017). Corroborando com o estudo descrito por Suhre (2020) sobre a caracterização físico-química e estabilidade no armazenamento de diferentes kombuchas comercializadas no Brasil, não houve uma variação significativa de pH, mesmo com a identificação da produção de ácidos orgânicos.

Assim, foi possível observar o decaimento simultâneo dos sólidos solúveis totais medidos em °Brix, como mostra a Figura 8, apresentando 6,30 no início e 5,70 ao final da fermentação. A IN de N°41/2019 não contempla parâmetros estabelecidos para os sólidos solúveis totais na kombucha, mas é possível associar esse decréscimo ao metabolismo dos microrganismos presentes no mosto.

Figura 8 - Gráfico de acompanhamento do teor de Sólidos solúveis totais em °Brix durante processo de fermentação para obtenção de kombucha



Fonte: O autor, 2023.

A medida em grau Brix é uma escala do índice de refração de uma solução, corresponde a todos os sólidos solúveis totais presentes no mosto, isto é, pode identificar carboidratos e ácidos orgânicos (Dornemann, 2016). Na indústria, o método de análise é muito difundido sendo a escala Brix um parâmetro de acompanhamento no processo fermentativo (Rodrigues, 2021).

A quantificação da acidez total titulável foi realizada ao final da fermentação da kombucha, apresentando o teor de acidez total de 77,80 mEq.L⁻¹, sendo calculado o equivalente 0,5% (m/v) de ácido acético. Os parâmetros estabelecidos pela IN N°41/2019 expressam que a acidez volátil pode variar de no mínimo 30 e no máximo 130 mEq.L⁻¹. Assim, a determinação da acidez, dos sólidos solúveis totais, o abaixamento do pH e o SCOBY formado, corroboram com o metabolismo ativo das bactérias acéticas, e esses resultados indicam a inibição do crescimento de microrganismos indesejáveis nas fermentações posteriores.

4.3.3 Etapa 3: Saborização com amostras vegetais

As frutas utilizadas foram a acerola, manga e sapoti que são frutas tropicais, esta última considerada uma planta alimentícia não convencional (PANCs) segundo Kinuppi, Lorenzi (2014). Os parâmetros físico-químicos dos extratos das frutas

utilizadas para saborização estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Parâmetros físico-químicos de sucos de frutas - 50% (m/v) adicionadas a mosto de fermentação para obtenção de vinagre de kombucha

Polpas de frutas:	pH	°Brix
Acerola	5,12	3,00
Manga	6,35	9,50
Sapoti	7,26	8,00

Fonte: A autora, 2023

A acerola possui macros e micronutrientes, uma grande concentração de ácido ascórbico, carotenóides, compostos fenólicos e antocianinas, conferindo propriedades funcionais ao organismo (Mezadri *et al.*, 2008). Além disso, a acerola madura apresenta como carboidratos a glicose, a frutose e uma pequena concentração de sacarose (Righetto *et al.*, 2005). O pH encontrado no suco de acerola com adição de água foi de 5,12, já os sólidos solúveis foi de 3,00 °Brix. Os parâmetros de identidade e qualidade do suco de acerola estabelecido pela IN n°37/2018, descreve os valores mínimos de 2,80 e 5,50 para pH e Brix, respectivamente, sendo assim, podemos atribuir essa variação dos sólidos solúveis encontrados no suco com a diluição realizada.

A manga é uma fruta polposa composta por água, carboidratos, ácidos orgânicos, proteínas e vitaminas. De alto valor energético, os carboidratos são formados por amido, açúcares, celulose, pectina e taninos (Manica *et al.*, 2001). Possuem compostos bioativos, como: ácido ascórbico, carotenóides e compostos fenólicos, conferindo proteção ao organismo humano contra espécies reativas de oxigênio por apresentar propriedades antioxidantes (Leal, 2016; Silva, 2018; Melo, Araújo, 2011). Os valores de pH e Brix obtidos no suco de manga foram de 6,35 e 9,50, respectivamente. Já os valores estabelecidos na IN n°37/2018 descreve que os valores de pH devem ser no mínimo de 3,5 e de no mínimo de 11,0 de sólidos solúveis em °Brix, a 20°C.

O sapoti possui uma polpa suculenta, textura macia, coloração castanho-amarelada, com sabor doce e agradável, apresentando como carboidratos a glicose e em menor concentração a sacarose (Junior *et al.*, 2014; Soares, 2018). Estudos desenvolvidos por Singh *et al.*, (2016) descreveram quantidades significativas de polifenóis, como ácido gálico, catequina e quercetina em extrato de

polpa e casca de sapoti, avaliados por cromatografia de alta eficiência (CLAE). Além disso, o sapoti contém micronutrientes como minerais e vitaminas A, C e vitaminas B1, B2 e B5, sendo um fruto com propriedades nutricionais e funcionais ao organismo humano (Brito; Narain, 2002). O valor de pH obtido no suco de sapoti foi de 7,26, como apresentado na Tabela 3, com relação aos sólidos solúveis totais, o valor encontrado foi de 8,00 em °Brix. Segundo os parâmetros descritos na IN n° 37/2018, estabelece o valor mínimo de pH 5,50 e os sólidos solúveis 16,00 expresso em °Brix, estando o valor dos sólidos solúveis totais abaixo do estabelecido, devido a sua diluição no preparo. Os resultados corroboram com os de Nascimento *et al.* (2008) em que a polpa apresentou uma faixa de pH de 6,59 a 7,40, considerando uma polpa de baixa acidez.

A acidez total titulável encontrada em frutas são expressos em miliequivalentes por litro, a partir disso podemos encontrar o valor em % do ácido orgânico predominante, calculando através do fator alcali descrito por Aroucha *et al.*, 2010. Os resultados de ATT% característicos das frutas usadas na etapa de saborização estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 - Acidez Total Titulável dos sucos de frutas adicionados na etapa de saborização ao mosto de fermentação para obtenção de vinagre de kombucha

Suco de frutas:	Acidez Total Titulável (mEq.L-1)	Acidez em % de Ácido cítrico (m/v)
Acerola	81,50 ± 0,82	0,52 ± 0,01
Manga	22,60 ± 0,31	0,14 ± 0,00
Sapoti	7,50 ± 0,00	0,05 ± 0,00

Fonte: A autora, 2023

A acidez total do suco de acerola foi de 81,50 mEq.L-1, sendo 0,52% (m/v) de ácido cítrico, estando abaixo dos parâmetros de identidade e qualidade estabelecidos pela IN n°37/2018, em que deve conter de no mínimo 0,8% para a acidez expressa em ácido cítrico. Dentre os ácidos orgânicos presentes na acerola destaca-se o ácido málico que representa 32%, seguidos do ácido cítrico e do ácido tartárico em menores concentrações (Righetto *et al.*, 2005). A acidez expressa em ácido málico encontrada na polpa de acerola foi de 0,55% (m/v), semelhante ao encontrado por Brunini *et al.*, (2004) em que a acidez total titulável variou de 0,50 a 1,11% (m/m) expressa em ácido málico. Nos resultados das polpas de acerola de

diferentes genótipos de aceroleira, Maciel et al., (2010) descreveu uma variação da acidez entre 0,96 e 1,97% de ácido málico.

Segundo Cardoso, os principais ácidos orgânicos encontrados por cromatografia líquida-Ionização por Electrospray-Espectrometria de Massa, na manga são o ácido cítrico (1,59 mg/g) e o ácido málico (0,34 mg/g). No suco de manga a acidez encontrada foi de 22,60 mEq.L⁻¹ e 0,14% de ácido cítrico, estando abaixo da acidez mínima estabelecida na IN n° 37/2018 de 0,30% para suco de manga, o que deve-se a diluição da amostra analisada.

Em estudo descrito por Soares (2018) foi observado um perfil de ácidos orgânicos encontrados em todas as amostras de sapoti, como o ácido ascórbico, cítrico, tartárico, málico, succínico, fórmico e acético. A acidez total titulável encontrada no suco de sapoti foi de 7,50 mEq.L⁻¹, como mostra a Tabela 4, sendo 0,05% (m/v) expressa em ácido cítrico, estando um pouco abaixo do descrito na legislação que estabelece no mínimo 0,2%(m/m). De Souza *et al.*, (2012) descreve 0,10% de acidez total encontrada na polpa de sapoti, essa variação deve-se a fatores como sazonalidade (Cruz *et al.*, 2018).

Os alimentos considerados pouco ácidos podem proporcionar o crescimento microbiano indesejável, devendo ser beneficiada para evitar sua deterioração (De Souza *et al.*, 2012). A utilização de frutas sazonais na produção de bebidas fermentadas se torna um meio viável de agregar valor nutricional através de novos produtos (Cruz; Resende; Ribeiro, 2018).

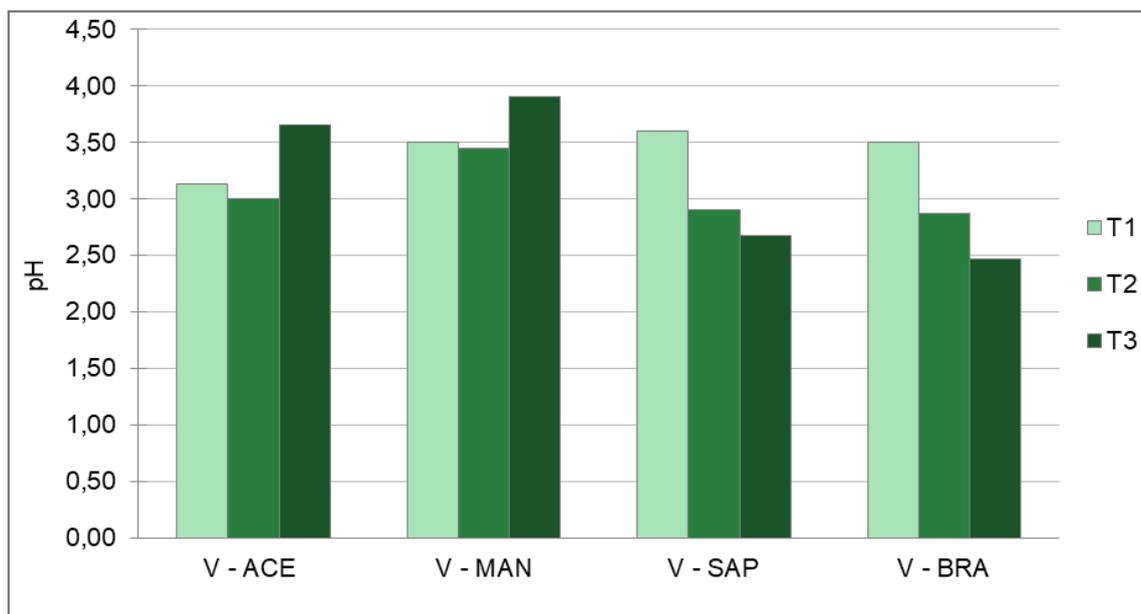
4.3.4 Etapa 4: Fermentação do vinagre de kombucha

Os resultados de pH obtidos ao longo do acompanhamento da fermentação do vinagre de kombucha padrão (V-BRA) e experimental saborizado com frutas (V-ACE – acerola; V- MAN – manga; V-SAP – sapoti), no tempo 0, após 30 dias e 60 dias, estão dispostos na Figura 9.

O pH do vinagre de kombucha de acerola, assim como o vinagre de kombucha de manga obtiveram uma discreta diminuição nos primeiros 30 dias de fermentação, o que indicou uma acidificação do mosto fermentativo, em seguida houve um aumento no pH. A variação para o vinagre de kombucha de acerola no total dos 60 dias foi de 3,13 para 3,65 e no vinagre de kombucha de manga de 3,50 para 3,90, o que demonstrou uma diminuição da concentração de íons hidrogênios

no meio.

Figura 9 - Acompanhamento do parâmetro pH durante padronização de processo de fermentação de Vinagre de Kombucha de frutas



Legenda: V - ACE - Vinagre de Kombucha de Acerola; V - MAN - Vinagre de Kombucha de Manga; V - SAP - Vinagre de Kombucha de Sapoti; V - BRA - Vinagre de Kombucha Controle (a base de chá verde); T1 - Dia 0; T2 - 30 dias; T3 - 60 dias

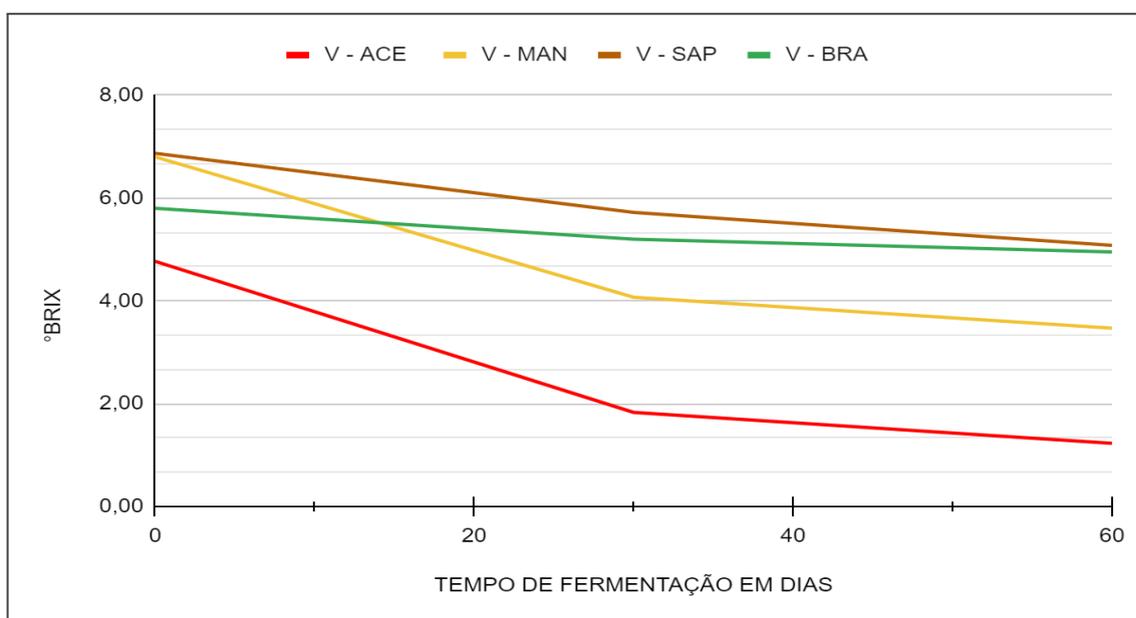
Fonte: A autora, 2023

O pH referente ao vinagre de kombucha de sapoti e ao vinagre de kombucha controle, a base de chá verde, demonstrou um abaixamento constante com o passar do tempo, em que a variação do vinagre de kombucha de sapoti foi de 3,60 para 2,68 e o vinagre de kombucha controle de 3,50 para 2,47. Os valores de pH obtidos ficaram próximos ao que foi estabelecido para as características analíticas de vinagres de vinho branco e de vinho tinto, numa faixa de 2,69 a 2,83 e 2,72 a 2,81, respectivamente (EMBRAPA, 2006).

O acompanhamento do pH durante a fermentação se faz necessário para garantir que o meio está acidificando de acordo com o tempo. Segundo Marques *et al.*, (2010) o pH dos vinagres de tangerina e de milho, obtiveram os valores de 3,51 e 3,05, respectivamente. O pH e a acidez influenciam diretamente nas características organolépticas e na aceitação do consumidor, em vinagres de maçã, de vinho e provenientes de destilados, quando a acidez está próxima a 5%, espera-se encontrar uma faixa de pH entre 2,46 a 3,18 (White, 1971).

A Figura 10 mostra a variação de dos sólidos solúveis totais (°Brix) durante o processo fermentativo, em que se pode observar um decaimento em todos os fermentados. Durante a fermentação do vinagre de kombucha de acerola e de manga, houve um decaimento mais acentuado nos 30 primeiros dias, ao final dos 60 dias a variação foi de 4,77 para 1,23 no vinagre de kombucha de acerola e de 6,80 para 3,47 no vinagre de kombucha de manga. Já nos resultados do vinagre de kombucha de sapoti e no vinagre de kombucha controle, houve um decaimento gradual, variando de 6,87 para 5,08 no vinagre de kombucha de sapoti e de 5,80 para 4,95 no vinagre de kombucha controle.

Figura 10- Acompanhamento do parâmetro Sólidos Solúveis Totais em °Brix durante padronização de processo de fermentação do Vinagre de Kombucha de frutas



Legenda: V - ACE - Vinagre de Kombucha de Acerola; V - MAN - Vinagre de Kombucha de Manga; V - SAP - Vinagre de Kombucha de Sapoti; V - BRA - Vinagre de Kombucha Controle (a base de chá verde)

Fonte: A autora, 2023

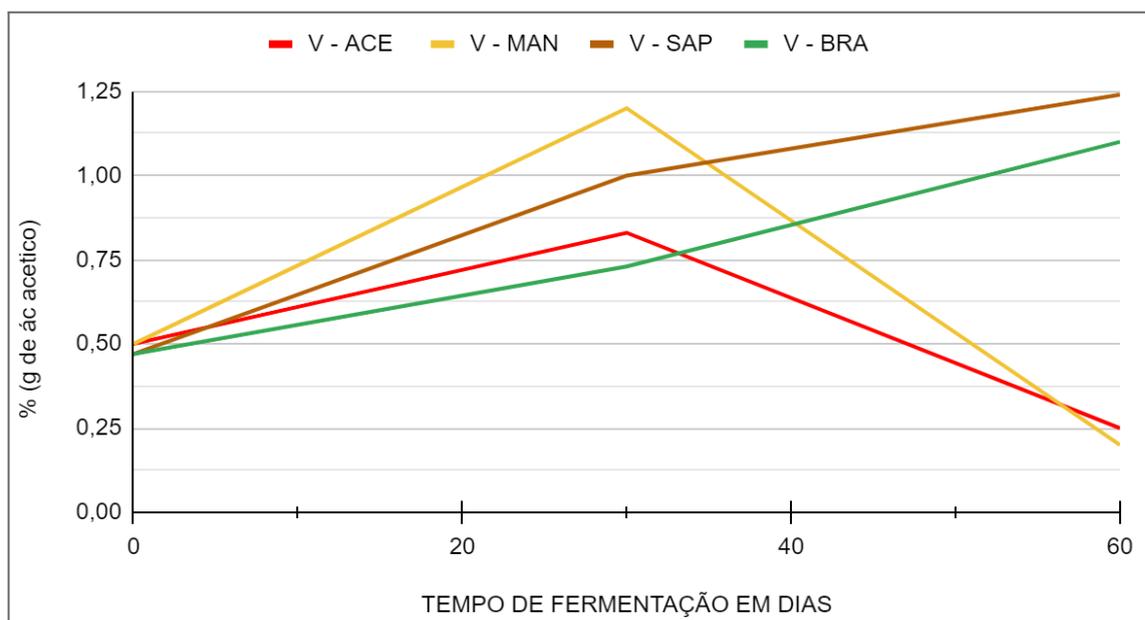
A determinação dos sólidos solúveis totais quantifica compostos orgânicos principalmente carboidratos, sendo uma medida indireta da quantidade de açúcares disponíveis para a fermentação. Os valores de sólidos solúveis encontrados em amostras de vinagre artesanal de acerola variaram em torno de 5,2 a 5,9 expressos em °Brix (Silva, 2022).

A acidez total titulável corresponde ao somatório da acidez fixa e da acidez

volátil de uma amostra, assim, os vinagres de vinho branco e vinho tinto apresentam como uma das características analíticas a acidez total expressas em % de ácido acético (EMBRAPA, 2006). Para estas amostras, valor da acidez total devem ficar no intervalo de 4,34 e 4,79%, mas para a acidez volátil deve conter no mínimo 4% de ácido acético, sendo a diferença, correspondente a acidez fixa (EMBRAPA, 2006; Brasil, 2012).

Os vinagres de kombucha de acerola e manga apresentaram a acidez total titulável expressos em porcentagem de ácido acético (m/v), como mostra a Figura 11, demonstraram um pico de produção de ácido acético nos primeiros 30 dias de fermentação, com os valores de 0,83 e 1,20%, respectivamente. Após esse período houve uma queda na concentração de ácidos, e em 60 dias apresentaram o teor de 0,25% para o vinagre de kombucha de acerola e 0,20% para o vinagre de kombucha de manga. Desse modo, entende-se que as bactérias fermentadoras de ácido acético na falta de substrato, utilizaram o próprio ácido acético produzido para a formação de ésteres orgânicos, como o acetato de etila (EMBRAPA, 2006).

Figura 11 - Gráfico de acompanhamento dos valores de acidez total titulável em % de ácido acético durante processo de fermentação de vinagre de kombucha de frutas



Legenda: V - ACE - Vinagre de Kombucha de Acerola; V - MAN - Vinagre de Kombucha de Manga; V - SAP - Vinagre de Kombucha de Sapoti; V - BRA - Vinagre de Kombucha Controle (a base de chá verde)

Fonte: A autora, 2023

O teor de ácido acético obtido no vinagre de kombucha de sapoti e no vinagre de kombucha controle foi progressivo no decorrer dos 60 dias de fermentação, obtendo 1,24% e 1,10%, respectivamente. Entretanto, os fermentados acéticos não atingiram a percentagem mínima dos 4% de acidez volátil estabelecida na Instrução normativa nº6/2012 .

4.3.2.1 Obtenção do Vinagre de Kombucha pasteurizado

Após os 60 dias os fermentados acéticos foram pasteurizados para que a fermentação fosse interrompida e os ácidos orgânicos preservados, em seguida as temperaturas foram estabilizadas e submetidas às análises físico-químicas, como mostra a Tabela 5. Os resultados obtidos na determinação do pH não apresentaram grandes alterações, sendo obtido os valores de pH antes e após a pasteurização para o vinagre de kombucha de acerola, 3,65 e 3,44; para o vinagre de kombucha de manga, 3,90 e 4,32; o vinagre de kombucha de sapoti, 2,68 e 2,61; e para o vinagre de kombucha controle, 2,47 para 2,44.

Tabela 5 - Caracterização de parâmetros físico-químicas do vinagre de kombucha de frutas após pasteurização

Amostras:	pH	°Brix	Acidez Total Titulável (mEq.L-1)	Acidez em % de Ácido acético (m/v)	Extrato seco total (g/L)	Etanol (%)
V - ACE	3,44 ± 0,14	1,27 ± 0,12	35,33 ± 11,59	0,23 ± 0,06	9,27 ± 0,52	0,60
V - MAN	4,32 ± 0,11	3,53 ± 0,06	23,20 ± 7,23	0,13 ± 0,06	31,18 ± 1,15	0,70
V - SAP	2,61 ± 0,03	5,07 ± 0,12	194,20 ± 16,91	1,13 ± 0,12	43,15 ± 2,87	0,50
V - BRA	2,44 ± 0,05	4,93 ± 0,12	188,33 ± 18,68	1,13 ± 0,13	45,98 ± 3,76	0,50

Fonte: A autora, 2023.

Para o teste de sólidos solúveis totais houve uma variação entre os resultados obtidos, aumentando de 1,23 para 3,44 expressos em °Brix no vinagre de kombucha de acerola; no vinagre de kombucha de manga os resultados foram de 3,47 para 4,32; no vinagre de kombucha de sapoti houve uma diminuição no °Brix, de 5,08 para 2,61; e no vinagre de kombucha controle, a base de chá verde, foi de 4,95 para 2,44. Rodrigues (2021) justifica essa variação no aumento dos sólidos solúveis devido ao desvio no índice de refração, influenciados pela concentração de ácidos orgânicos produzidos ou pelo aumento de microrganismos dispostos no mosto.

As amostras não demonstraram grandes alterações para os testes de acidez total titulável, variando de 0,25 para 0,23% no vinagre de kombucha de acerola; de 0,20 para 0,13% no vinagre de kombucha de manga; no vinagre de kombucha de sapoti houve uma pequena diminuição de 1,24 para 1,13%; e no vinagre de kombucha controle variou 1,10 para 1,13%. Além disso, os resultados do extrato seco total variaram entre as amostras de 9,27 a 45,98 g/L. Dentre os resultados, a amostra de vinagre de kombucha de acerola ficou mais próxima as características descritas no vinagre de vinho branco e do vinho tinto, em que o extrato seco (g/L) deve ficar no intervalo de confiança entre 8,02 a 10,63 para o vinho branco e 8,40 a 11,15 g/L para o vinagre de vinho tinto (EMBRAPA, 2006).

O grau alcoólico do vinagre corresponde ao resíduo do processo fermentativo, a acetificação do etanol na produção de ácido acético, assim todo vinagre deve conter um pouco de álcool (EMBRAPA, 2006). A concentração máxima de etanol permitida em fermentados acéticos classificados como vinagres de frutas na IN nº6/2012 é de até 1% (v/v). Desse modo, o teor alcoólico presente nas amostras analisadas estavam dentro das normas estabelecidas, em um intervalo de 0,50 a 0,70%.

4.5 DETERMINAÇÃO DE PONTOS DE PADRONIZAÇÃO DO PROCESSO FERMENTATIVO DO VINAGRE DE KOMBUCHA

Dentre as variáveis que precisam ser avaliadas a confecção do mosto fermentativo para a produção de kombucha, torna-se essencial para determinar o teor de sólidos solúveis suficiente para a fermentação alcoólica e acética, que neste caso ocorrem de forma sequencial e simultânea. Em estudo desenvolvido com vinagre a partir do suco de laranja, os sólidos solúveis totais iniciais do mosto foram de 12,5, 18 e 22, expresso em °Brix, sendo a amostra que apresentou no mínimo 18 °Brix, que chegou a 5,26% de ácido acético produzido (Tessaro *et al.*, 2010).

Além disso, determinar o teor alcoólico e a acidez durante o processo de fermentação da kombucha é necessário para verificar que tenha uma concentração de etanol suficiente para garantir a acetificação do mosto. Segundo Tessaro *et al.*, (2010), o teor de etanol produzido durante a fermentação alcoólica do suco de laranja foi de 12,00%.

Para a fabricação de vinagres de frutas, faz-se necessário a utilização de

espécies com alto teor de sólidos solúveis totais e com baixa acidez, além de observar a composição físico-química dos açúcares fermentáveis. Desse modo, foi observado que o vinagre de kombucha de manga obteve uma abreviação no tempo fermentativo chegando a concentração de 1,20% de ácido acético em 30 dias, sendo equivalente com o teor do vinagre de kombucha de sapoti que alcançou 1,24% de ácido acético com 60 dias de fermentação. O tempo de fermentação, a temperatura e a umidade do ar, também são parâmetros importantes a serem controlados.

6 CONCLUSÃO

O presente trabalho possibilitou a obtenção de um fermentado acético à base de kombucha a partir de diferentes fontes vegetais, sobre o acompanhamento de parâmetros físico-químicos durante o processo e do produto final, possibilitando a identificação de pontos cruciais de controle na padronização desse processo fermentativo.

Pode-se concluir que, a fermentação ocorreu de forma satisfatória obtendo valores de ácido acético proporcionais ao consumo dos açúcares fermentáveis presentes no mosto. Sendo observados comportamentos diferentes entre as amostras vegetais devido à natureza da sua composição. Destacando-se a abreviação do tempo fermentativo do vinagre de kombucha de manga, chegando ao pico de produção acética em 30 dias.

Ainda foi possível observar a crescente acidez no vinagre de kombucha de sapoti e no vinagre de kombucha controle, sendo possível atingir uma acidez maior com o aumento do tempo de fermentação. Assim, não houve grandes variações entre a acidez, pH e °Brix, antes e após a pasteurização do fermentado acético obtido.

Em estudos complementares, sugere-se a identificação e quantificação dos demais ácidos orgânicos produzidos no fermentado acético a partir da kombucha, visto que o ácido glucônico, tartárico, málico e, em menor proporção, o ácido cítrico (Villarreal-Soto *et al.*, 2018), conferem benefícios ao organismo humano. Desse modo, constatou-se a importância deste estudo no desenvolvimento de um produto alimentício funcional que pode apresentar potenciais aplicações farmacológicas.

REFERÊNCIAS

AROUCHA, Edna Maria Mendes et al. Acidez em frutas e hortaliças. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 5, n. 2, p. 32, 2010.

AQUARONE, Eugênio *et al.* **Biotechnologia industrial-vol. 4: biotecnologia na produção de alimentos**. Editora Blucher, 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR ISO 22000: Sistema de Gestão da Segurança de Alimentos**. 2006. Disponível em: <<http://www.abntcatalogo.com.br/norma.aspx>>. Acesso em: 24 nov. 2023.

BARRETO, Juliano et al. Implantação da análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC), garantia da qualidade e segurança na indústria de alimentos. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 4, n. 2, p. 72-80, 2013.

BRASIL. **Instrução Normativa Mapa nº 06, de 3 de abril de 2012**. Estabelece os padrões de identidade e qualidade e a classificação dos fermentados acéticos. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/instrucao-normativa-no-6-de-3-de-abril-de-2012.pdf>>. Acesso em: 31 out. 2022.

BRASIL. **Instrução Normativa Mapa nº 16, de 19 de março de 2020**. Estabelecer a proibição de utilização de açúcar na elaboração do fermentado de fruta que sirva de matéria prima para a produção de fermentado acético de fruta. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/instrucao-normativa-no-19-de-19-de-marco-de-2020.pdf>>. Acesso em: 31 out. 2022.

BRASIL. **Instrução Normativa Mapa nº 41, de 17 de setembro de 2019**. Estabelece o Padrão de Identidade e Qualidade da Kombucha em todo o território nacional. (Alterada pela IN nº 54/2020)

BRASIL. **Instrução Normativa Mapa nº 54, de 17 de setembro de 2020**. Altera a Instrução Normativa de nº 41, de 17 de setembro de 2019, que estabelece o Padrão de Identidade e Qualidade da Kombucha. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/instrucao-normativa-no-54-de-17-de-setembro-de-2020.pdf>>. Acesso em: 31 out. 2022.

BRITO, E. S.; NARAIN, N. Physical and chemical characteristics of sapota fruit at different stages of maturation. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 37, n. 4, p. 567-572, 2002.

BUDAK, Nilgun H. et al. Effects of apple cider vinegars produced with different techniques on blood lipids in high-cholesterol-fed rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 12, p. 6638-6644, 2011.

BUDAK, Nilgün H. et al. Functional properties of vinegar. **Journal of food science**, v. 79, n. 5, p. R757-R764, 2014.

CARDOSO, Patricia Carvalho et al. Development and application of a liquid chromatography-mass spectrometry method for the determination of sugars and organics acids in araza, ceriguela, guava, mango and pitanga. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 24, p. e2020169, 2021.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (CAC). **Hazard analysis and critical control point (HACCP) system and guidelines for its application**. ANNEX to recommended international code of practice/general principles of food hygiene. CAC/RCP 1-1969, Rev 4. Roma: FAO/WHO Codex Alimentarius Commission, 2003. 68 p.

CHANG, Ju-Mei; FANG, Tony J. Survival of Escherichia coli O157: H7 and Salmonella enterica serovars Typhimurium in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against E. coli O157: H7. **Food Microbiology**, v. 24, n. 7-8, p. 745-751, 2007.

COLEGIADA, Diretoria et al. **Resolução RDC nº 241**, de 26 de julho de 2018. 2018.

CORAZZA, Marcos L.; RODRIGUES, Dina G.; NOZAKI, Jorge. Preparação e caracterização do vinho de laranja. **Química nova**, v. 24, p. 449-452, 2001.

CRUZ, Mariana Lopes; RESENDE, Miriam Maria de; RIBEIRO, Eloízio Júlio. Evaluation of process conditions in the performance of yeast on alcoholic fermentation. **Chemical Engineering Communications**, v. 205, n. 6, p. 846-855, 2018.

DA SILVA JÚNIOR, Jayme César et al. Kombucha: Formulation, chemical composition, and therapeutic potentialities. **Current Research in Food Science**, v. 5, p. 360-365, 2022.

DE SOUSA, Elisabete Piancó et al. Caracterização físico-química da polpa de sapoti oriunda do estado do Ceará. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 7, n. 1, p. 14, 2012.

DE ROOS, Jonas; DE VUYST, Luc. Acetic acid bacteria in fermented foods and beverages. **Current opinion in biotechnology**, v. 49, p. 115-119, 2018.

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

DUTTA, Himjyoti; PAUL, Sanjib Kr. Kombucha drink: Production, quality, and safety aspects. In: **Production and management of beverages**. Woodhead Publishing, 2019. p. 259-288.

EMBRAPA. **Sistema de Produção de Vinagre** – Dez.2006. Disponível na Internet: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinagre/SistemaProducaoVinagre/composicao.htm>>. Acesso em: 04 de dez. 2023

GARCIA, Juliana Mendes. **Implantação dos documentos de autocontrole na Indústria Bokada Alimentos Ltda**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

GREENWALT, C. J.; STEINKRAUS, K. H.; LEDFORD, R. A. Kombucha, the fermented tea: microbiology, composition, and claimed health effects. **Journal of food protection**, v. 63, n. 7, p. 976-981, 2000.

HASHIMOTO, Masahito et al. Separation and characterization of the immunostimulatory components in unpolished rice black vinegar (kurozu). **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 116, n. 6, p. 688-696, 2013.

HOTEL, Amerian Córdoba Park et al. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. **Prevention**, v. 5, n. 1, p. 1-10, 2001.

HUR, Sun Jin et al. Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. **Food chemistry**, v. 160, p. 346-356, 2014.

IAL - INSTITUTO ADOLF LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolf Lutz**, Métodos físicos e químicos para análise de alimentos. 4^o ed., v. 1, 2008.

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

JUNIOR, J. F. da S.; BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; MOURA, R. J. M. de; O sapatizeiro no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 36, n. 1, p. 086- 099, 2014

KINUPP V.F.; LORENZI H. Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil: Guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. Instituto Plantarum de estudos da flora. Nova Odessa, 2014.

LEAL, Sonaly de Sousa. **Determinação de Macronutrientes na Manga: Variedades Rosa e Espada**. 2016.

LOPES, Poliana Mônica Santos; RODRIGUES, Gabriela Luiza; COELHO, Raquel Macedo Dantas. **Acompanhamento do processo fermentativo durante a produção de Kombucha.** 2021.

LUCENA R. L.; DE ARAUJO M. M. S.; SOUTO M. S. M. L. **A padronização de processos operacionais como instrumento para a conversão do conhecimento tácito em conhecimento explícito: estudo de caso na indústria têxtil.** In: ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 26., 2006, Fortaleza. *Anais.* Fortaleza, 2006.

MACIEL, Maria Inês Sucupira et al. Physicochemical characterization of fruits from genotypes of acerola tree (*Malpighia emarginata* DC). **Food Science and Technology**, v. 30, p. 865-869, 2010.

MANICA, I; MALAVOLTA E; ICUMA, I.M; CUNHA, M.M; JUNIOR, M. E. O; JUNQUEIRA, N. T. V; RAMOS, V. H. V. **MANGA: tecnologia, produção, pós-colheita, agroindústria e exportação.** Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001.

MARCO, Maria L. et al. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. **Current opinion in biotechnology**, v. 44, p. 94-102, 2017.

MARCO, Maria L. et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on fermented foods. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 18, n. 3, p. 196-208, 2021.

MARQUES, Fabíola Pedrosa Peixoto et al. Quality pattern and identity of commercial fruit and vegetable vinegar (Acetic acid fermentation). **Food Science and Technology**, v. 30, p. 119-126, 2010.

MARSH, Alan J. et al. Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives. **Trends in Food Science & Technology**, v. 38, n. 2, p. 113-124, 2014.

MARSHALL JUNIOR, I. et al. **Gestão da qualidade.** 10. ed. Rio de Janeiro: FGV, 2010.

MARTIN, José Guilherme Prado; DE DEA LINDNER, Juliano. **Microbiologia de alimentos fermentados**. Editora Blucher, 2022.

MCKINSEY & COMPANY. **Sentir-se bem: o futuro do mercado de bem-estar de \$ 1,5 trilhão**. Disponível em: <https://www.mckinsey.com/industries/consumer-packaged-goods/ourinsights/feeling-good-the-future-of-the-1-5-trillion-wellness-market/pt-BR>. Acesso em 29 de outubro de 2023.

MELO, E. A.; ARAÚJO, C. R. Mangas das variedades espada, rosa e Tommy Atkins: compostos bioativos e potencial antioxidante. **Seminário: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1451-1460, 2011.

MENDES, Maria de Fátima Ribeiro. **O impacto dos sistemas QAS nas PME portuguesas**. 2007. Tese de Doutorado.

MENEGUZZO, J.; RIZZON, L. A. **Sistema de produção de vinagre**. Sistemas de Produção (Embrapa Uva e Vinho), Bento Gonçalves, n. 13, ago. 2006. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Vinagre/SistemaProducaoVinagre/balsamico.htm> > . Acesso em: 31 out. 2022.

MEZADRI, T. et al. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. **Journal of Food Composition and analysis**, v. 21, n. 4, p. 282-290, 2008.

MIRANDA, Breanna et al. Titration and HPLC characterization of kombucha fermentation: a laboratory experiment in food analysis. **Journal of Chemical Education**, v. 93, n. 10, p. 1770-1775, 2016.

MOTA, Ana Carolina Loureiro Gama et al. Antifungal activity of apple cider vinegar on *Candida* species involved in denture stomatitis. **Journal of Prosthodontics**, v. 24, n. 4, p. 296-302, 2015.

NASCIMENTO, Vivian Elias; MARTINS, Antonio Baldo Geraldo; HOJO, Ronaldo Hissayuki. Physical and chemical characterization of mamey sapota fruits. **Revista**

Brasileira de Fruticultura, v. 30, p. 953-957, 2008.

NEFFE-SKOCIŃSKA, Katarzyna et al. Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. **Cyta-journal of food**, v. 15, n. 4, p. 601-607, 2017.

NISHIDAI, Shoko et al. Kurosu, a traditional vinegar produced from unpolished rice, suppresses lipid peroxidation in vitro and in mouse skin. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 64, n. 9, p. 1909-1914, 2000.

NOGUEIRA, Juliane Cortez. **Ferramentas da qualidade e implementação de certificações na indústria de alimentos: uma revisão**. 2022. 36 f. TCC (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022.

POLO-REDONDO, Yolanda; CAMBRA-FIERRO, Jesús. Influence of the standardization of a firm's productive process on the long-term orientation of its supply relationships: An empirical study. **Industrial Marketing Management**, v. 37, n. 4, p. 407-420, 2008.

Portaria nº 41, de 14 de janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico para Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. Revogada pela Resolução RDC nº 40, de 21 de março de 2001. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/portaria-no-40-de-20-de-janeiro-de-1998.pdf>>. Acesso em: 31 out. 2022.

PRODUCTIVITY PRESS DEVELOPMENT TEAM. *Standard work for the shopfloor*. **New York: Productivity Press**, 2002.

Righetto AM, Netto FM, Carraro F (2005) Composição Química e Atividade Antioxidante de sucos de acerola madura e imatura (*Malpighia emarginata* DC). **Food Sci Technol Int** 11:315–321

REZAC, Shannon et al. Fermented foods as a dietary source of live organisms.

Frontiers in microbiology, v. 9, p. 1785, 2018.

RODRIGUES, Eduarda. **Avaliação da Produção de Fermentado Acético a Partir de Kombucha Vencida Proveniente da Produção Industrial**. 2021.

SAAD, Susana Marta Isay. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 1-16, 2006.

SALBE, Arline D. et al. Vinegar lacks antiglycemic action on enteral carbohydrate absorption in human subjects. **Nutrition Research**, v. 29, n. 12, p. 846-849, 2009.

SANDOFF, Mette. Customização e padronização em hotéis – um paradoxo ou não?. **Revista Internacional de Gestão Hospitalar Contemporânea**, v. 6, pág. 529-535, 2005.

SENGUN, Ilkin Yucel; KARABIYIKLI, Seniz. Importance of acetic acid bacteria in food industry. **Food control**, v. 22, n. 5, p. 647-656, 2011.

SEKI, Takahiro et al. Antioxidant activity of vinegar produced from distilled residues of the Japanese liquor shochu. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 56, n. 10, p. 3785-3790, 2008.

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.

SILVA, Elizabete de Santana. **Influência do processamento industrial nos compostos bioativos e voláteis de polpa de manga (Mangifera indica L.)**. 2018.

SILVA, Gabriel Benicio da. **Elaboração e caracterização de vinagre artesanal de acerola**. 2022.

SILVA, W. L. V.; DUARTE, F. M.; OLIVEIRA, J. N. Padronização: um fator importante para a engenharia de métodos. **Qualitas Revista Eletrônica**, v. 3, n.1, 2004.

SINGH, J. P.; KAUR, A.; SHEVKANIL, K.; SINGH, N. Composition, bioactive compounds and antioxidant activity of common Indian fruits and vegetables. **Journal of Food Science and Technology**, 2016.

SOARES, G. G. G. **Caracterização físico-química das polpas de diferentes tipos de frutos do sapotizeiro (Manilkara zapota L.)**. 2018, Monografia (Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, 2018.

SONG, Juan et al. Analysis of microbial diversity in apple vinegar fermentation process through 16s rDNA sequencing. **Food science & nutrition**, v. 7, n. 4, p. 1230-1238, 2019.

SUHRE, Tais. **Kombuchas produzidas e comercializadas no Brasil: características físico-químicas e composição microbiana**. 2020.

TAMANG, Jyoti Prakash et al. Fermented foods in a global age: East meets West. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 19, n. 1, p. 184-217, 2020.

TEIXEIRA, Priscila Carmem et al. Standardization and improvement of production processes in bakeries: a multi-case study. **Production**, v. 24, p. 311-321, 2014.

TELLES, Leomara Battisti. **Ferramentas e sistema de custo aplicados a gestão da qualidade no agronegócio**. 2014. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

TESSARO, Dinéia et al. Alcohol and acetic fermentation appraisal for vinegar production from orange juice. **Acta Scientiarum-Technology**, v. 32, n. 2, p. 201-205, 2010.

UNGAN, Mustafa C. Padronização através de documentação de processos. **Revista Gestão de Processos de Negócios**, v. 2, pág. 135-148, 2006.

VATTEM, Dhiraj A.; SHETTY, Kalidas. Ellagic acid production and phenolic antioxidant activity in cranberry pomace (*Vaccinium macrocarpon*) mediated by

Lentinus edodes using a solid-state system. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 3, p. 367-379, 2003.

VALLS, Valéria Martin. **Gestão da qualidade em serviços de informação no Brasil: estabelecimento de um modelo de referência baseado nas diretrizes da NBR ISO 9001**. 2005. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

VELOSO, Camila Leão. **Sistema de produção de vinagre**. Instituto Euvaldo Lodi – IEL/BA 22/5/2013

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

WHITE, J. Vinegar quality: legal and commercial standards. **Process Biochemistry**, p. 21-25, 1971

XAVIER, L. et al. **Produção do vinagre de maçã**. 2009. 11 f. Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2009.

XIANG, Huan et al. Fermentation-enabled wellness foods: A fresh perspective. **Food Science and Human Wellness**, v. 8, n. 3, p. 203-243, 2019.

XU, Qingping; TAO, Wenyi; AO, Zonghua. Antioxidant activity of vinegar melanoidins. **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 841-849, 2007.