



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO CEARÁ
(IFCE) - *CAMPUS* ARACATI
CURSO LICENCIATURA EM QUÍMICA**

DANIELE VENCESLAU DA SILVA

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BEBIDA ANÁLOGO Á KOMBUCHA A
PARTIR DE SUBPRODUTOS DE CAJU**

ARACATI

2025

DANIELE VENCESLAU DA SILVA

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BEBIDA ANÁLOGO Á KOMBUCHA A
PARTIR DE SUBPRODUTOS DE CAJU

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao curso de Licenciatura em Química
do Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Ceará – IFCE – *Campus* Aracati,
como requisito parcial para obtenção do Título de
Licenciado em Química.

Orientador: Prof. Me. Sérgio Quesado Júnior.

Coorientador: Prof. Dra. Otília Mônica Alves
Borges.

ARACATI

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Instituto Federal do Ceará - IFCE
Sistema de Bibliotecas - SIBI

Ficha catalográfica elaborada pelo SIBI/IFCE, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S586o Silva, Daniele Venceslau da Silva.
Obtenção e Caracterização de Bebida Análogo á Kombucha a Partir de Subproduto de
Caju / Daniele Venceslau da Silva Silva. - 2025.
55 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Instituto Federal do Ceará,
Aperfeiçoamento de Professores para a Educação Inclusiva, Campus Aracati, 2025.
Orientação: Prof. Me. Sérgio Quesado Júnior.
Coorientação: Prof. Dr. Otília Mônica Alves Borges.

1. kombucha. 2. Resíduo de caju. 3. Atividade antioxidante. 4. Fenólicos totais. I. Título.

CDD 371.9

DANIELE VENCESLAU DA SILVA

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BEBIDA ANÁLOGO Á KOMBUCHA A
PARTIR DE SUBPRODUTOS DE CAJU

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao curso de Licenciatura em Química
do Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Ceará – IFCE – *Campus* Aracati,
como requisito parcial para obtenção do Título de
Graduação. Área de concentração: Licenciatura em
Química

Aprovada em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Ms. Sérgio Quesado Júnior (Orientador)
Instituto Federal do Ceará (IFCE)

Profa. Dra. Otília Mônica Alves Borges (Co-orientadora)
Instituto Federal do Ceará (IFCE)

Prof. Dr. Raimundo Rafael de Almeida
Instituto Federal do Ceará (IFCE)

Prof. Dr. Samuel Pedro Dantas Marques
Instituto Federal do Ceará (IFCE)

A Deus.

Aos meus pais.

Aos mestres.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo.

À minha família, pelo incentivo.

Aos amigos e colegas de estudo, em especial, aos que me acompanharam durante a graduação, que vivenciaram comigo os desafios e me ajudaram a vencê-los.

Aos professores, que muito contribuíram com minha formação acadêmica, agradeço os ensinamentos, as orientações, os risos e a atenção.

“Quem ensina aprende ao ensinar, e quem aprende ensina ao aprender” (FREIRE, 1997, p.25)

RESUMO

A Kombucha é uma bebida de origem asiática produzida pela fermentação de um chá com açúcar por uma Colônia Simbiótica de Bactérias e Leveduras e seu líquido Starter, que tem um sabor doce e ácido semelhante à cidra de maçã. O caju é uma fruta tropical nativa da região litorânea do nordeste brasileiro. Neste contexto, foi produzida uma bebida, tipo kombucha, a partir de resíduos de caju. A kombucha foi elaborada misturando chá verde, açúcar, suco do resíduo do caju e Scoby, e foi deixada na primeira fermentação em um recipiente de vidro com troca de ar por nove dias, já na segunda fermentação, a kombucha foi colocada em garrafa de vidro sem troca de ar por mais três dias, e após esse período foi armazenada em geladeira até o momento das análises. Durante a fermentação, foram retiradas três alíquotas a cada três dias para aferição de pH, graus Brix, fenólicos totais, vitamina C e ensaio antioxidante DPPH. As análises de graduação alcoólica e acidez volátil foram analisadas com 100 ml da amostra da kombucha em 12 dias. Para verificar a qualidade do produto, foi usada a Instrução Normativa 41. A bebida apresentou um teor alcoólico 1,9% v/v, e a acidez volátil do produto desenvolvido apresentou um valor de 1.153 mEq/L, excedendo significativamente os limites estabelecidos pela legislação. Os futuros estudos adicionais podem adequar a produção de kombucha a partir de resíduos de caju, direcionando a redução do teor de álcool e ácidos voláteis. Para isso, recomenda-se a diminuição do tempo de fermentação e da concentração do açúcar na bebida. Os demais padrões estavam de acordo com a Instrução Normativa N 41. Esse comportamento pode ser explicado pela deterioração dos compostos pelas enzimas liberadas pelos microrganismos presentes no scoby e pela afundar scoby no recipiente durante até no terceiro dia, que levou a uma maior entrada de oxigênio no meio, provocando a oxidação dos fenóis.

Palavras-chave: Kombucha. Resíduo de Caju. Atividade antioxidante. Fenólicos totais.

ABSTRACT

Kombucha Kombucha is a beverage of Asian origin produced by the fermentation of tea and sugar by a symbiotic colony of bacteria and yeast and its starter liquid, which has a sweet and sour flavor similar to apple cider. Cashew is a tropical fruit native to the coastal region of northeastern Brazil. In this context, a kombucha-type beverage was produced from cashew residue. The kombucha was made by mixing green tea, sugar, cashew juice residue and Scoby, and was left in the first fermentation in a glass container with air exchange for nine days. In the second fermentation, the kombucha was placed in a glass bottle without air exchange for another three days, and after this period it was stored in the refrigerator until the time of analysis. During fermentation, three aliquots were removed every three days to measure pH, Brix degrees, total phenolics, vitamin C, and the DPPH antioxidante assay. Alcohol content and volatile acidity were analyzed using 100 ml of the kombucha sample over 12 days. Normative Instruction 41 was used to verify product quality. The beverage had an alcohol content of 1.9% v/v, and the volatile acidity of the developed product was 1,153 mEq/L, significantly exceeding the limits established by law. Future studies may adapt kombucha production from cashew waste, aiming to reduce the alcohol and volatile acid content. To this end, it is recommended to reduce the fermentation time and sugar concentration in the beverage. All other standards were in accordance with Normative Instruction No. 41. This behavior can be explained by the deterioration of the compounds by the enzymes released by the microorganisms present in the scoby and by the scoby sinking in the container for up to the third day, which led to a greater entry of oxygen into the medium, causing the oxidation of the phenols.

Keywords: Kombucha. Cashew residue. Antioxidant activity. Total phenols.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1: Consumo da sacarose e transformação da glicose. | 19 |
| Figura 2: Embalagem de chá verde de marca Natory's. | 23 |
| Figura 3: Resíduos de caju utilizados para a produção de suco. | 24 |
| Figura 4: Scoby com starter na foto à esquerda, scoby misturado ao chá e suco de resíduo à direita | 25 |
| Figura 5: Chá verde após a primeira filtração com peneira inox. | 26 |
| Figura 6: Primeira etapa de filtração, com peneira de material inox. | 26 |
| Figura 7: Mistura de suco com o chá verde para inocular. | 27 |
| Figura 8: Scoby utilizado para inoculação/ kombucha pronta para armazenamento. | 28 |
| Figura 9: Kombucha pronta para o consumo é armazenada em garrafas. | 28 |
| Figura 10: Etapas de preparo da kombucha | 29 |
| Figura 11: Subtração de alíquotas para análises / Tubos falcons armazenando alíquotas de kombucha. | 30 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1: Parâmetros analíticos do Kombucha. | 22 |
| Tabela 2: Curva de calibração do protocolo de DPPH. | 32 |
| Tabela 3: Porcentagem de álcool correspondente a densidade relativa em 20°C por volume. | 35 |
| Tabela 4: Graduação alcoólica em 20°C/ (g/cm ³) e média. | 44 |
| Tabela 5: Consumo de NaOH em titulação de acidez total. | 45 |
| Tabela 6: Consumo de NaOH em titulação de acidez fixa e média. | 46 |
| Tabela 7:Resumo dos valores das amostras da kombucha de resíduo de caju coletadas a cada três dias para Fenóis Totais,Atividade de Sequestro de Radical de DPPH,Ácido Ascórbico,Sólidos Solúveis e pH | 50 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-----------------|--|
| ABKOM | Associação Brasileira de Kombuchas |
| ABRIR | Associação brasileira das indústrias de refrigerantes e de bebidas não alcoólicas. |
| BRIX | Índice refratométrico determinante de açúcar |
| ABTS | 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico |
| CFT | Compostos fenólicos totais |
| D3,D6, D9 e D12 | Bebida do tipo kombucha nos respectivos dias de fermentação, dia 3, dia 6, dia 9 e dia 12. |
| DPPH | 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl |
| GL | Instrumento para determinar percentual de álcool- Gay Lussac |
| IN | Instrução Normativa |
| IFCE | Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará |
| MAPA | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento |
| pH | Potencial Hidrogeniônico |
| SCOBY | Cultura simbiótica de bactérias e leveduras |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 14 |
| 2 OBJETIVOS | 17 |
| 2.1 Objetivo Geral | 17 |
| 2.2 Objetivos específicos | 17 |
| 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 18 |
| 3.1 Kombucha | 18 |
| 3.2 Scoby | 19 |
| 3.3 Resíduo de Caju | 20 |
| 3.4 Legislação de Qualidade e Identidade da Kombucha | 21 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS | 23 |
| 4.1 <i>Chá verde</i> | 23 |
| 4.1.1 <i>Resíduo de caju</i> | 23 |
| 4.1.2 <i>Scoby</i> | 24 |
| 4.2 MÉTODOS | 25 |
| 4.2.1 <i>Produção do chá</i> | 25 |
| 4.2.2 <i>Produção do Suco de resíduo de caju</i> | 26 |
| 4.2.3 <i>Elaboração da Kombucha</i> | 27 |
| 4.2.4 <i>Subtração de Alíquotas da Kombucha</i> | 29 |
| 4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS | 30 |
| 4.3.1 <i>Compostos Fenólicos Totais (CFT)</i> | 30 |
| 4.3.2 <i>Ensaio de Inibição do Radical DPPH</i> | 31 |
| 4.3.3 <i>Análise Quantitativa de L-ascórbico (Vitamina C)</i> | 32 |
| 4.3.4 <i>Determinação da Graduação alcoólica real em 20°C por volume</i> | 33 |
| 4.3.5 <i>Acidez volátil</i> | 35 |
| 4.3.6 <i>Índice de Refração (concentração de açúcar)</i> | 37 |
| 4.3.7 <i>Potencial Hidrogeniônico (pH)</i> | 38 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES | 39 |
| 5.1 <i>Compostos Fenólicos Totais (CFT)</i> | 39 |
| 5.2 <i>Ensaio de Inibição do Radical DPPH</i> | 40 |
| 5.3 <i>Análise Quantitativa de L-ascórbico (Vitamina C)</i> | 42 |
| 5.4 <i>Determinação da Graduação alcoólica real em 20°C por volume</i> | 43 |

| | |
|--|-----------|
| 5.5 Acidez volátil | 45 |
| 5.6 Índice de Refração (concentração de açúcar) | 48 |
| 5.7 Potencial Hidrogeniônico (pH) | 49 |
| 6 CONCLUSÃO/ CONSIDERAÇÕES FINAIS | 51 |
| 7 REFERÊNCIAS | 52 |

1 INTRODUÇÃO

Kombucha é uma bebida fermentada de origem asiática que possui sabor adocicado, ligeiramente ácido e levemente gaseificado, passa por dois processos fermentativos onde o primeiro há troca de oxigênio e o segundo carbonatação. É base para a fermentação o chá preto ou chá verde açucarado, ao qual é adicionado um biofilme composto pela associação simbiótica de bactérias (produtoras de ácido acético) e leveduras, denominado de SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast), o scoby é acompanhado com uma quantidade de chá de uma fermentação anterior chamado de starter.

No SCOBY, ocorrem diversas reações bioquímicas durante o período de fermentação, dentre elas: produção de ácidos orgânicos, etanol, vitaminas hidrossolúveis e uma diversidade de micronutrientes (JAYABALAN, 2016).

O Ministério do Meio Ambiente (BRASIL, 2017) dispõe que os resíduos orgânicos são os restos de animais e vegetais descartados de atividades agrícolas, domésticas ou industriais. A disposição inadequada desses materiais gera chorume, emissão de metano na atmosfera e favorece a proliferação de vetores de doenças. Assim, faz-se necessária a adoção de métodos adequados de gestão e tratamento desses resíduos.

O descarte desses materiais deve ser planejado, principalmente, em se tratando de uma escala maior de materiais, como na produção industrial, tendo em vista os problemas ambientais que podem acarretar. Para isso, foi estabelecida a Norma Reguladora de Resíduos Industriais, a Norma 25 de Resíduos Industriais (BRASIL, 1978), que dispõe que as empresas devem desenvolver ações de controle que evitem riscos à segurança e à saúde de seus trabalhadores.

O caju, também chamado de pedúnculo, tem uma potência nutricional para a saúde e a segurança alimentar, pois contém de três a cinco vezes mais vitamina C que a laranja, além de cálcio, fósforo e outros nutrientes (FERNANDES, 2023). A região Nordeste responde por mais de 95% da produção brasileira (MODOR INDUSTRY, 2024). Cerca de 12% dos cajus brasileiros são processados, incluindo extração de suco (8%).

Para a produção do suco, o caju passa por seleção, e o suco integral produz também alto teor de polpa que é extraído do caju, com o aproveitamento da sua parte sólida, do seu resíduo, mediante processamento tecnológico adequado, é capaz de

não só proporcionar o aproveitamento do resíduo, mas também dá um fim produtivo.

Na extração do suco é feita por um extrator difuso, restando as fibras e os resíduos nesta operação o qual são prensados contra uma tela de aço inoxidável, para remoção do suco residual que o bagaço contenha. Nesta operação há rendimento de 65% a 70% do resíduo (PAIVA, 2000). Segundo o IBGE (AGRO, 2017), em 2016 foram produzidos 2,9 bilhões de litros de suco no Brasil, gerando um valor de R\$ 10,9 bilhões da produção industrial e, como consequência, também resíduos orgânicos em larga escala. Resíduos orgânicos oriundos de atividades agrossilvopastoris e industriais representam uma parcela significativa dos rejeitos produzidos no país.

De acordo com os dados do Plano Nacional de Resíduos Sólidos, a geração anual desses resíduos alcança aproximadamente 800 milhões de toneladas, destacando a necessidade de estratégias eficazes para seu manejo e reaproveitamento sustentável (BRASIL, 2017).

O processamento da agroindústria frutícola voltado para a extração de sucos e polpas, amplamente desenvolvido na região Nordeste, tem resultado em um aumento significativo na geração de resíduos não aproveitáveis para o consumo humano. No entanto, esses subprodutos podem ser utilizados na alimentação animal, como na produção de ração para ovinos, bovinos e caprinos (BRAGA SOBRINHO, 2014 apud SILVA, 2014).

Na agricultura e na pecuária, diversos resíduos orgânicos são gerados, incluindo restos de culturas agrícolas, partes folhosas de vegetais, cascas de grãos e frutos não comercializáveis. Todos esses materiais podem ser reaproveitados por meio da compostagem e adubação orgânica, contribuindo para a reciclagem e para a sustentabilidade dos sistemas produtivos (INÁCIO, 2009).

Formuladas as seguintes hipóteses: seria viável reutilizar o subproduto do caju, atualmente destinado à alimentação animal e à adubação orgânica, para a produção de kombucha? A viabilidade desse processo poderia proporcionar benefícios ambientais, econômicos e nutricionais?

O estudo reutilizou os resíduos sólidos da indústria de sucos, que seriam usados para consumo animal e adubo em kombucha, fornecendo a produção e utilização dos resíduos antes descartados para produção de uma bebida que contém propriedades benéficas para o organismo e favorece o sistema imunológico. Além disso, o bagaço de caju possui fibras e vitaminas com A e C, o estudo contribui ainda para o embasamento de outras pesquisas, contribuindo como base de dados e ciência

para estudantes e profissionais que atuam na área.

Teve-se como objetivos determinar o teor dos compostos fenólicos totais (CFT), verificar as atividades antioxidantes pelo método de DPPH, quantificar a vitamina C usando o oxalato de sódio como agente estabilizador, e verificar os parâmetros de qualidade da bebida segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que são acidez volátil, pH e graduação alcoólica.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Elaborar uma bebida de tipo kombucha utilizando resíduos orgânicos de caju e avaliar se alguns parâmetros de análise química estão de acordo com os padrões de identidade e qualidade estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Instrução Normativa N 41).

2.2 Objetivos específicos

- Verificar parâmetros físicos químicos da Kombucha: graduação alcoólica, a acidez volátil e o pH;
- Realizar a quantificação de L-ascórbico (Vitamina C) através de método fotométrico;
- Determinar o teor de fenólicos totais e a atividade antioxidante frente ao radical DPPH;
- Quantificar a concentração de açúcares em graus de Brix.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Kombucha

O chá foi introduzido na Europa pelos portugueses e holandeses, vindos da China, sendo inicialmente utilizado como uma erva medicinal (HOLLMAN, HERTOOG & KATAN, 1996). A kombucha só foi valorizada em 220 a.C., durante a Dinastia Tsin, devido às suas propriedades desintoxicantes e energizantes. A sua produção ocorre em duas etapas de fermentações. A primeira fermentação consiste na adição de folhas chá verde em água fervente, deixando-as em infusão por 10 minutos. Após a remoção das folhas, adiciona-se quantidade de açúcar e a bebida permanece em repouso até chegar a temperatura ambiente para inoculação com Scoby e uma pequena porção de kombucha previamente preparada (starter) em um recipiente limpo de boca larga (JAYABALAN et al., 2014).

A segunda fermentação é transferida todo chá fermentado para uma garrafa de material vidro e tampada ao abrigo de sol para promover o aprisionamento de gás na bebida. MAIA (2020) a sacarose, desencadeia a fermentação secundária anaeróbica. Nesse estágio, leveduras consomem os açúcares residuais, produzindo dióxido de carbono que se acumula sob pressão, resultando em carbonatação natural.

Suas propriedades antioxidantes foram comprovadas por diversos autores. Balentine (1997) afirma que essa ação antioxidante desempenha um papel crucial na prevenção de diversas doenças crônicas e degenerativas, como câncer, doenças cardiovasculares e diabetes mellitus. Além disso, o chá tem grande potencial de compostos fenólicos totais (CFT), que são antioxidantes e têm a capacidade de minimizar as espécies de radicais livres e ativos de oxigênio (JAYABALAN et al., 2008).

Existem vários compostos polifenólicos, como epicatequina ($C_{15}H_{14}O_6$), epicatequina galato ($C_{22}H_{18}O_{11}$), epigallocatequina ($C_{22}H_{18}O_{11}$), epigallocatequina galato ($C_{22}H_{18}O_{11}$) e teaflavina ($C_{29}H_{24}O_{12}$), que são transferidos para o produto final da fermentação (CHAKRAVORTY, 2016).

Frequentemente usada para melhorar a digestão e fortalecer o sistema imunológico, a kombucha era conhecida por suas propriedades terapêuticas (JAYABALAN et al., 2014). Como fonte de antioxidantes, enzimas, vitaminas do complexo B e ácidos orgânicos comprovadamente benéficos à saúde, trata-se de uma

bebida probiótica com significativa ação na saúde intestinal (KUMAR & JOSHI, 2016; apud PINTO, 2018).

A legislação brasileira de kombucha (BRASIL, 2019) define que Kombucha é a bebida fermentada que resulta da respiração aeróbica e da fermentação anaeróbia do líquido produzido pela infusão ou extração de *Camellia sinensis* e açúcares, utilizando uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras ativas (SCOBY). Um chá previamente adoçado é utilizado para a fermentação, ao qual adiciona o SCOBY e uma pequena quantidade de kombucha de uma fermentação anterior, chamada de “*starter*”, sendo incubada, ou seja, iniciando o processo de fermentação à temperatura ambiente (entre 20 e 30°C) por 1 a 8 semanas, segundo Dufresne e Farnworth (2000).

Na fase de fermentação, uma nova camada de biofilme SCOBY aparecerá na superfície, enquanto a camada original estará abaixo e poderá ser separada em um momento posterior (JAYABALAN *et al.*, 2008). Logo após a fermentação, a kombucha pode ser consumida ou envasada em garrafas para passar pelo processo de carbonatação, denominado de segunda fermentação.

3.2 Scoby

O SCOBY é formado por uma colônia de bactérias e leveduras, também chamada de simbiótica de bactérias e leveduras, e o líquido starter ou líquido ativador, que é uma pequena quantidade de chá de uma fermentação anterior. A simbiótica é composta por várias leveduras, sendo algumas delas a *Torulospora*, *Kloeckera pichia*, e *Saccharomyces sp.* (KONOVALOV, *et al.*, 1959; KOZAKI, *et al.*, 1972 apud JAYABALAN, 2014).

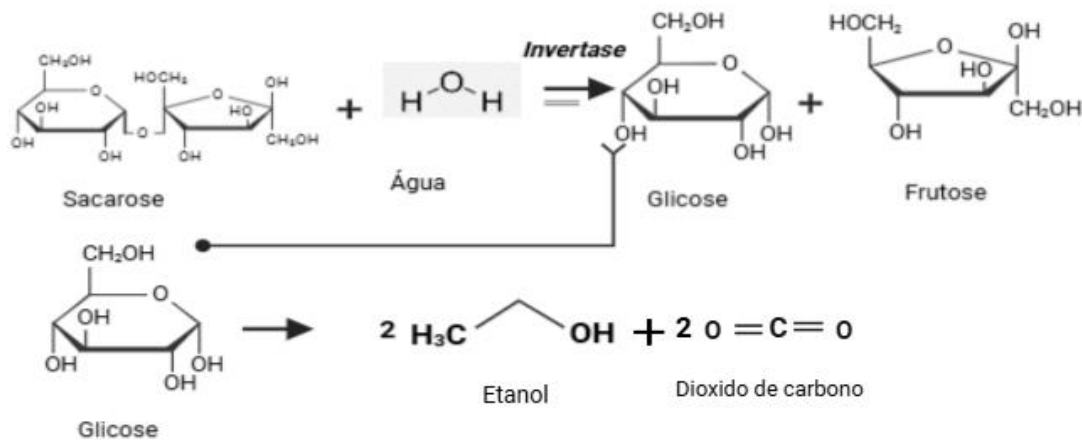
Ao longo de sua existência, o SCOBY recebeu diversos nomes. A maioria deles reflete a sua aparência, provável origem asiática ou algum benefício associado. Esses termos históricos e coloquiais retratam as crenças atribuídas à kombucha. Dentre eles, pode-se citar fungo do chá, mofo do chá, cogumelo, esponja do chá, mãe japonesa, flor russa, cogumelo medicinal, elixir da vida, cogumelo chinês, entre outros (CRUM & LAGORY, 2016).

Ao longo de sua existência, o SCOBY recebeu diversos nomes. A maioria deles reflete a sua aparência, provável origem asiática ou algum benefício associado. Esses termos históricos e coloquiais retratam as crenças atribuídas à kombucha. Dentre eles, pode-se citar fungo do chá, mofo do chá, cogumelo, esponja do chá, mãe

japonesa, flor russa, cogumelo medicinal, elixir da vida, cogumelo chinês, entre outros (CRUM & LAGORY, 2016).

As leveduras hidrolisam quebrando as ligações químicas da sacarose, transformando a sacarose em glicose e frutose pela invertase e produzem etanol via glicose, com preferência pela frutose como substrato (DUFRESNE E FARNWORTH, 2000)

Figura 1: Consumo da sacarose e transformação da glicose.



Fonte: Bio Render (2025).

A comunidade simbiótica também inclui bactérias, sendo a espécie predominante *Acetobacter xylinum*, responsável pela biossíntese de uma matriz de celulose flutuante, denominada película, durante o processo fermentativo (ROSSIN, 1996 apud JAYABALAN, 2014).

Em um estudo de Marsh e outros (2014), afirmam-se encontrar bactérias como *Gluconacetobacter* (em 85% das amostras de kombuchas), *Lactobacillus* (até 30%) e *Acetobacter* (em menos de 2%). Segundo Dufresne e Farnworth (2000), bactérias do ácido acético utilizam glicose para produzir ácido glucônico e etanol para produzir ácido acético.

A adição do SCOBY ao chá adoçado inicia o processo fermentativo, durante o qual a glicose, na forma de açúcar, é consumida. Estudos relataram a produção de ácido acético por bactérias acéticas (AAB) por meio da oxidação do etanol (JAYABALAN *et al.*, 2014).

3.3 Resíduo de Caju

O caju é o fruto do *Anacardium occidentale*, uma árvore nativa da região litorânea do Nordeste brasileiro. O termo “caju” tem origem no tupi e significa “noz que se produz”. Há séculos, o caju integra a dieta indígena, sendo sua polpa ácida e adstringente tradicionalmente mastigada para refrescar o hálito, enquanto seu suco era fermentado e consumido em rituais culturais. O consumo do caju obteve crescimento expressivo após o final da Segunda Guerra Mundial (JESUS, 2015 apud TRAJANO, 2021). Evidências sugerem que algumas civilizações utilizavam a floração do cajueiro, que ocorre mais intensamente entre setembro e novembro, como referência para medir o ciclo anual (FUNDAÇÃO CARGILL, 2021).

O caju é formado pelo pedúnculo desenvolvido preso à castanha (fruto real). O pedúnculo, que também é chamado de pseudo-fruto, falsa fruta ou simplesmente caju, representa a porção comestível, consumida *in natura* e também em forma de sucos, polpa e conserva (LIM, 2012). São observadas diferentes composições de nutrientes prevalentes nas partes comestíveis do caju: seu pseudofruto e a castanha. O pseudofruto do caju apresenta altos teores de ácido ascórbico, vitamina diretamente ligada à prevenção de doenças como o escorbuto, além de ser potente antioxidante, promovendo o retardo do envelhecimento celular (MAZZETTO, LOMONACO & MELE, 2009).

O bagaço de caju é o produto obtido após remoção de castanha (fruto) e extração de suco do pedúnculo, sendo constituído pela película e polpa do pedúnculo remanescente. O grande desperdício do pedúnculo é devido ao reduzido período de pós-colheita, associada à pequena capacidade de absorção da indústria, curto período de safra e inexistência de métodos econômicos de preservação da matéria-prima (PAIVA; GARRUTTI; DA SILVA NETO, 2000). O aproveitamento tanto do pedúnculo como do bagaço é extremamente interessante, pois estes constituem uma fonte de compostos de alto valor agregado em razão de suas propriedades funcionais em alimentos (ABREU, 2001).

É importante ressaltar também que a fibra do bagaço de caju apresenta potencial de utilização como fibra dietética antioxidante, devido ao elevado conteúdo de compostos antioxidantes associados à matriz da fibra (RUFINO *et al.*, 2010).

3.4 Legislação de Qualidade e Identidade da Kombucha

A legislação brasileira de qualidade e identidade da kombucha se fez necessária quando a bebida ganhou popularidade no país, mas ainda havia pouco conhecimento sobre a sua produção e formas de saboreá-la. Segundo a Associação Brasileira de Kombuchas (ABKOM, 2019), para os produtores, a Instrução Normativa 41, que estabelece a legislação acerca da kombucha, representou uma significativa vitória. No entanto, persistem diversas incertezas e questionamentos acerca da produção responsável e da segurança alimentar.

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio do Diário Oficial da União, publicou no dia 19 de setembro de 2019 a Instrução Normativa 41 (N 41), que estabelece os padrões de qualidade e identidade em todo o território nacional. Em seu anexo, a Instrução Normativa explica que essas normativas se aplicam somente à kombucha submetida a processos industriais tecnologicamente adequados e destinados ao consumo humano como bebida.

Segundo a legislação brasileira (BRASIL, 2019), a classificação da kombucha deve incluir, na seguinte ordem: a denominação “Kombucha”, seguida do nome da(s) espécie(s) vegetal(is) utilizada(s) antes da fermentação (se houver), associada à *Camellia sinensis*; o nome do(s) ingrediente(s) opcional(is) (se presentes); a indicação de aroma de (nome do aditivo aromatizante natural); a designação “gaseificada” (caso tenha adição de gás carbônico); e “com álcool” ou “alcoólica” (se o teor alcoólico for superior a 0,5% v/v). Caso a bebida não contenha ingredientes opcionais, poderá ser designada simplesmente como “Kombucha Original”.

Em sua rotulagem, é obrigatório que esteja expressamente presente, se for uma bebida com teor alcoólico, no painel principal do rótulo da kombucha, devendo ser expresso em % de álcool em (v/v) e conter a seguinte expressão “teor alcoólico”. Já nas kombuchas consideradas sem álcool, deve constar no rótulo a expressão “zero álcool”, “zero % álcool”, “0,0%”, ou similares, no produto que contiver até 0,5% v/v de álcool.

Também é vedado o emprego de termos como: artesanal, caseiro, familiar, bebida probiótica, bebida ancestral, elixir, elixir da vida, rejuvenescedor, revitalizante, especial, premium e outros que atribuem atributos de qualidades superlativas e características únicas e funções não validadas por legislação específica (BRASIL, 2019).

Os parâmetros estimados para uma kombucha de qualidade (Tabela 1) são: pH entre 2,5 e 4,2; apresentação de uma acidez volátil de mili equivalentes por litro de 30 a 130; graduação alcoólica em % de volume por volume de 0,5 para kombucha consideradas sem álcool e de 0,6 a 8,0 para uma bebida considerada alcoólica; e uma pressão em ATM de 1,1 a 3,9 para kombucha adicionada de CO₂.

Tabela 1: Parâmetros analíticos do Kombucha.

| Parâmetro | Mínimo | Máximo |
|--|---------------|---------------|
| Ph | 2,5 | 4,2 |
| Graduação alcoólica (% v/v) kombucha sem álcool | - | 0,5 |
| Graduação alcoólica (% v/v) kombucha com álcool | 0,6 | 8,0 |
| Acidez volátil (mEq/L) | 30 | 130 |
| Pressão (Atm a 20°C) na kombucha adicionada de CO ₂ | 1,1 | 3,9 |

Fonte: Instrução Normativa N 41.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Chá verde

O chá verde embalado (*Camellia sinensis*) da marca Natury's (Figura 2), que contém 10g de folhas secas e desidratadas por embalagem, foi adquirido em um estabelecimento comercial local na cidade de Aracati. As folhas secas do chá verde foram usadas por infusão.

Figura 2: Embalagem de chá verde de marca Natury's.



Fonte: Elaborada pela autora (2025).

4.1.1 Resíduo de caju

Em liquidificador doméstico (Mondial Easy Power L-550 W) foram colocadas três unidades de caju junto com 500 ml de água mineral e trituradas, em seguida foi filtrada passando por uma peneira. A fase aquosa foi um líquido amarelado, denominado suco, enquanto a fase sólida retida na peneira foi denominada resíduo do caju, conforme mostrado na Figura 3.

Figura 3: Resíduos de caju utilizados para a produção de suco.



Fonte: Elaborada pela autora (2025).

4.1.2 Scoby

A doação do SCOBY (Cultivo Simbiótico de Bactérias e Leveduras) para a fabricação de kombuchas veio de um produtor familiar da região de Fortaleza, com vasta produção e reprodução de SCOBYS (Figura 4).

Figura 4: Scoby com starter na foto à esquerda, scoby misturado ao chá e suco de resíduo à direita



Fonte: Elaborada pela autora (2025).

4.2 Métodos

As etapas de elaboração do chá, suco do resíduo de caju e sua mistura foram feitas de forma caseira. As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Química do IFCE *Campus Aracati*.

A kombucha utilizou duas etapas: a primeira fermentação foi feita misturando chá verde adoçado, suco de resíduo de caju, líquido Starter e o Scoby em recipiente de vidro com trocas de ar com o ambiente por nove dias. Na segunda fermentação, o líquido foi envasado em garrafas de material vidro (não ocorreu trocas com o ar) e guardado em local com pouca iluminação por três dias para gerar a carbonatação. Após esse período, a kombucha foi armazenada em geladeira, estando pronta para consumo.

4.2.1 Produção do chá

Em uma panela de marca Tramontina, de aproximadamente 2,5 L, de alumínio antiaderente Starflon, foram aquecidos 2L de água mineral até atingir a ebulição (fervura). Após o aquecimento, desligou-se a chama, e foram adicionados 10 g de chá verde (um pacote) e 56 g de açúcar cristal, deixando-os em descanso por alguns minutos até esfriarem à temperatura ambiente. Após esfriar, os resíduos das folhas foram removidos através de filtração, primeiramente, com uma peneira de material inox (L 18 cm x A 4 cm x C 18 cm) (Figura 5) e depois em papel filtro número 102 (C 17 cm x A 12 cm x F 5,5 cm) para remoção dos resíduos mais finos, obtendo-se o chá filtrado que foi armazenado em recipiente de vidro de três litros para a produção de kombucha.

Figura 5: Chá verde após a primeira filtração com peneira inox.



Fonte: Elaborada pela autora (2025).

4.2.2 Produção do Suco de resíduo de caju

Para a elaboração do suco de resíduo, que compõe a única fermentação, utilizou 250 mL de suco. Para isso, pesou-se 175 g do resíduo úmido de caju obtido conforme o item 4.1.2 e depositou-se em um liquidificador doméstico para ser triturado com 200 mL de água mineral

Após batido no liquidificador, foram misturados 21 g de açúcar cristal. Este líquido foi peneirado (Figura 6) e filtrado em papel filtro número 102 para retirar os resíduos sólidos, sendo denominado suco de resíduo de caju, e armazenado em uma jarra de material plástico de 1 L para ser usado na próxima etapa.

Figura 6: Primeira etapa de filtração, com peneira de material inox.



Fonte: Elaborada pela autora (2025).

4.2.3 Elaboração da Kombucha

Um recipiente de vidro de 3 L e boca larga foi utilizado para a fermentação da bebida. Este recipiente foi desinfetado previamente com 1 colher de sopa de água sanitária para 1 L de água, deixando agir por 15 minutos. Logo em seguida, descartou-se o líquido e lavou-se com água em abundância, deixando escorrer por aproximadamente 3 minutos. No recipiente de vidro, depositou-se 1,5 L de chá fresco, conforme o item. 4.2.1, e foi adicionado 250 mL do suco do resíduo de caju, obtido conforme o item 4.2.2 (Figura 7).

Figura 7: Mistura do suco com o chá verde para inocular o scoby.



Fonte: Elaborada pela autora (2025).

Em seguida acrescentou-se 150 g de starter (chá de uma fermentação anterior) e 48g de SCOBY no recipiente de vidro, cobrindo-o com um tecido de 60 cm por 33 cm, dobrado duas vezes e preso com um elástico em volta para evitar a contaminação através de poeira ou outros particulados (Figura 8). A mistura foi deixada em repouso em local fresco e com pouca luz por 9 dias para proceder à fermentação.

Figura 8: Scoby utilizado para inoculação/ kombucha pronta para armazenamento.



Fonte: Elaborada pela autora (2025).

Logo após os nove dias, retirou-se e pesou-se o SCOBY, e 200 mL do chá anterior, os quais foram colocados em outro recipiente de vidro previamente limpo para uma próxima fermentação ou para serem mantidos em condições mínimas de sobrevivência do SCOBY até que seja necessária outra fermentação. Foram retiradas amostras de 10 mL no primeiro dia e a cada três dias consecutivos até o 12º dia.

O líquido anterior foi usado para encher duas garrafas de vidro de um litro que foram tampadas em seguida (Figura 9). Nessa etapa da fermentação, não deve ocorrer troca de gases entre o kombucha e o meio. As garrafas foram mantidas em

local fresco e com pouca luz por mais três dias para proceder à segunda fermentação.

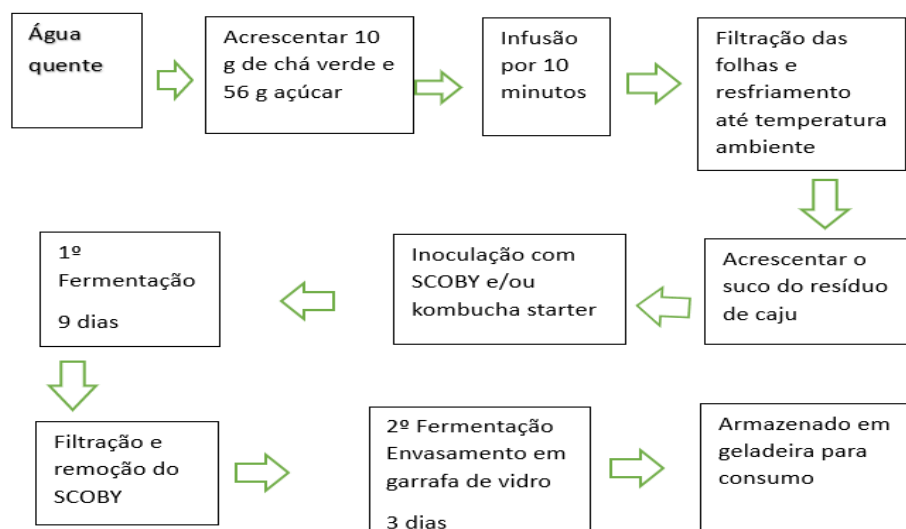
Figura 9: Kombucha pronta para o consumo é armazenada em garrafas.



Fonte: Elaborada pela autora (2025).

Sem a troca de gases, ocorre a formação de álcool, que é o objetivo da fermentação. Se houver entrada de oxigênio, ocorre a formação de ácido acético, que altera as propriedades do kombucha. As garrafas ficaram em temperatura ambiente para a fermentação, que ocorreu por três dias em abrigo de luz, sendo armazenadas em geladeira após os três dias (Figura 10). Foram coletadas três amostras de 10 mL em tubos Falcon de plástico ao término dos três dias.

Figura 10: Etapas de preparo da kombucha.



Fonte: adaptado de Kumar e Joshi,2016.

4.2.4 Subtração de Aliquotas da Kombucha

As alíquotas de kombucha de caju foram retiradas com uma pipeta e armazenadas em tubos Falcon de 15 mL e congelados até a sua utilização nas análises (Figura 11). A subtração de amostras foi feita a cada 3 dias para um melhor controle, todas em triplicata, e foram utilizadas para as análises das metodologias de: Atividade Antioxidante, Compostos Fenólicos Totais, L-ascórbico (Vitamina C), pH e Graus Brix (concentração de açúcar). As demais análises foram realizadas com o analito retirado após os 12 dias de fermentação, sendo essas as metodologias de: Graduação alcoólica e Acidez volátil, também realizadas em triplicata.

Figura 11: Subtração de alíquotas para análises / Tubos falcons armazenando alíquotas de kombucha.

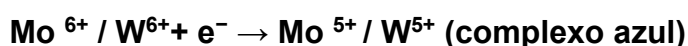


Fonte: Elaborada pela autora (2025).

4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

4.3.1 Compostos Fenólicos Totais (CFT)

O ensaio Folin-Ciocalteu, devido à sua sensibilidade e habilidade de quantificar diversos compostos fenólicos, é adequado para examinar misturas fenólicas complexas encontradas em frutas, vegetais e outros alimentos. O composto oxidante reage com agentes redutores (antioxidantes), originando um complexo solúvel de cor azul brilhante, como na reação abaixo (SINGLETON *et al.*, 1999).



Os fenóis (ArOH) reduzem os metais Mo^{6+} e $\text{W}^{6+} \rightarrow$ gerando Mo^{5+} e W^{5+} , que formam um complexo azul detectável por espectrofotometria.

O procedimento empregado por Singleton *et al.* (1999) foi replicado para a quantificação de polifenóis através do espectrofotômetro, utilizando o reagente Folin-Ciocalteu ($\text{H}_3 [\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}] + \text{H}_3 [\text{PW}_{12}\text{O}_{40}]$), que envolve a oxidação de fenóis em ambiente alcalino. A quantificação é determinada pelo volume de fenóis absorvidos e pelo pH que é ajustado através do carbonato de sódio.

Preparou-se uma solução de carbonato de sódio, em que 50 g de carbonato de sódio anidro foram dissolvidos em 200 mL de água fervente. Depois de resfriar, alguns cristais foram adicionados e a mistura foi deixada em repouso por 24 horas à temperatura ambiente. A solução de ácido gálico foi preparada pela dissolução de 0,5 g do ácido gálico em 10 mL de Álcool etílico (EtOH), seguida pela diluição em 100 mL de água destilada em um balão volumétrico, resultando em uma concentração final de 5 g/L, que pode ser mantida em refrigeração.

Para a curva de calibração, utilizou-se 1, 2, 3, 5 e 10 mL de solução de ácido gálico em frascos de 100 mL, complementados com água destilada. Assim, foram obtidas soluções nas concentrações de 50, 100, 150 e 250 mg/mL.

Foram utilizados microtubos de 2 mL para o procedimento abaixo e foram realizadas em triplicata. A amostra de kombucha de resíduos de caju utilizada foi diluída em água destilada na proporção de 1:10.

Adicionou-se 20 μL das amostras diluídas de kombucha em 1.580 μL de água destilada e 100 μL do reagente Folin-Ciocalteu em microtubos de 2 mL. Depois de 8 minutos de reação, foram adicionados 300 μL de solução de carbonato de sódio 20% (m/v) ao meio reacional e os microtubos foram agitados por 10 segundos em um agitador vortex.

Depois de incubadas a 40°C por 30 minutos, as amostras tiveram sua absorbância medida a 765 nm em um espectrofotômetro da marca Biospecto Modelo SP 220, fabricado no Brasil. Os dados foram analisados utilizando uma curva de calibração de ácido gálico, com as unidades expressas em mg de ácido gálico/L.

A quantidade de compostos fenólicos foi determinada com base na curva de ácido gálico ($\text{Abs} = 0,021 \cdot X + 38,522$), $R^2 = 0,998$. Abs é a absorbância, enquanto X representa a concentração de ácido gálico, expressa em mg de equivalentes de ácido gálico por litro de kombucha ou GAE = Gallic Acid Equivalents (mg GAE/L)

4.3.2 Ensaio de Inibição do Radical DPPH

O protocolo é uma adaptação do protocolo usado por Dada et al. (2021). A solução de DPPH(C₁₈H₁₂N₅O₆) 60 umolar foi preparada utilizando-se 2,4 mg de DPPH e completada para 100 mL com metanol. O DPPH (reação) com o antioxidante Catequina formam um não radical DPPH-H e a catequina é oxidada, formando um radical fenólico (ArO•) estável que propõem a mudança de cor da solução que vai de roxo para amarelo claro



Para preparar as amostras em triplicatas, utilizou-se 100 uL de amostra + 1.900 uL de solução de DPPH 60 umol em tubos Falcon de 2 mL. A absorbância foi lida em 515 nm. Foram utilizados 18 tubos Eppendorfs para as amostras (branco, D0, D3, D6, D9 e D12 em triplicatas).

Antes das leituras de amostras, zerar o espectrofotômetro com uma amostra de metanol. Logo em seguida, proceder com as leituras de medidas em t=0 (imediatamente após misturar DPPH e amostra) e, posteriormente, com as medidas em t=30 (após misturar DPPH e amostra, com o reagente em 30 minutos depois).

Nesse contexto, segue a atividade antioxidante total (%):

$$AAT = \left[1 - \left(\frac{At30}{At0} \right) \right] * 100\%$$

Também foi feita uma curva de calibração para se ter como base o DPPH e ser usada para comparação dentro do protocolo. Segue abaixo a curva de Rufino et al. (2007) para preparo das soluções de DPPH:

Tabela 2: Curva de calibração do protocolo de DPPH.

| Solução de DPPH 60 umol | Metanol | Concentração final de DPPH |
|-------------------------|---------|----------------------------|
| 0 | 10 | 0 |
| 1,7 | 8,3 | 10 |
| 3,3 | 6,7 | 20 |
| 5 | 5 | 30 |
| 6,7 | 3,3 | 40 |
| 8,3 | 1,7 | 50 |
| 10 | 0 | 60 |

Fonte: Rufino (2007).

4.3.3 Análise Quantitativa de L-ascórbico (Vitamina C)

A vitamina C é uma molécula instável em soluções aquosas, sofrendo oxidação e degradando-se rapidamente em ácido desidroascórbico. Para minimizar essa degradação e garantir a precisão das análises, é comum utilizar agentes estabilizadores, como o oxalato de sódio. No entanto, essa conversão é reversível e pode ser evitada pelo uso de um agente estabilizador na solução. O método utilizado para esta determinação teve como base Selimovic *et al.* (2011).

Uma solução tampão com pH 5,4 foi elaborada utilizando ácido oxálico ($C_2H_2O_4$). Inicialmente, foram pesados 0,120 g de fosfato de sódio dibásico anidro (Na_2HPO_4) e 2,04 g de dihidrogenofosfato de potássio (KH_2PO_4), que foram dissolvidos em 500 mL de água destilada (solução 1).

Em seguida, foram medidos 0,375 g de oxalato de sódio ($Na_2C_2O_4$) e adicionados à solução tampão (solução 1) previamente preparada, resultando em uma solução de 0,005 M de oxalato de sódio (solução 2). Para a próxima etapa, pesou-se 0,05 g de ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$) que foi dissolvido em 250 mL da solução de ácido oxálico 0,005 M (200 mg/L) obtida anteriormente, sendo transferido para um balão volumétrico (solução 3).

Para a elaboração da curva de calibração do ácido ascórbico, foram utilizados microtubos de 2 mL previamente identificados. Após a homogeneização, os tubos foram analisados em um espectrofotômetro da marca Biospecto, modelo SP 220, no Brasil, com comprimento de onda ajustado para 266 nm. As amostras de kombucha foram diluídas em uma proporção de 1:20.

Em seguida, misturou-se 200 μ L da amostra com 1,5 mL de uma solução de oxalato de sódio a 0,005 M, permitindo que a mistura repousasse em temperatura ambiente por 5 minutos para a extração da vitamina C. A leitura foi então realizada em cubetas de quartzo com 10 mm de caminho óptico, utilizando o espectrofotômetro configurado para 266 nm.

Para calcular a Vitamina C, utilizou-se o oxalato de sódio para estabilizar a oxidação do L-ácido ascórbico, que é a versão reduzida da vitamina C. A quantificação foi feita através da luz UV, utilizando um espectrofotômetro. O resultado é expresso em mg/L de ácido ascórbico. A curva padrão apresentada foi expressa em mg de ácido ascórbico/L, enquanto os resultados do kombucha foram apresentados em mg de ácido ascórbico por litro de kombucha de resíduo de caju (mg/L).

4.3.4 Determinação da Graduação alcoólica real em 20°C por volume

Em um balão volumétrico, mediu-se 100 mL da amostra de kombucha. Logo após, a amostra foi transferida para um balão de destilação, depositando no balão de destilação as quatro lavagens no balão volumétrico com a água destilada. Em seguida, inseriram-se bolas de segurança no recipiente, ligou-se o recipiente de destilação ao condensador e começou o método de destilação por arraste de vapor. O destilado foi coletado em um balão de fundo chato de 100 mL e foi colhido $\frac{3}{4}$ do volume inicial.

No mesmo balão volumétrico de 100 mL, que foi utilizado para medir 100 mL de amostra de kombucha de caju, foram adicionados 10 mL de água destilada. Essa água foi imersa em banho de água e gelo até atingir 20°C. No mesmo recipiente, adicionou-se o destilado, ajustou-se a temperatura a 20°C e completou-se o volume para 100 mL com água destilada a 20°C, agitando-se em seguida.

A densidade relativa do destilado foi determinada a 20°C, utilizando-se o método do picnômetro, com medições realizadas em triplicata. Primeiramente, procedeu-se à pesagem do picnômetro vazio, seguido da pesagem do picnômetro contendo água destilada a 20°C. Por último, foi realizada a pesagem do picnômetro contendo a amostra a 20°C, sendo utilizado um banho de gelo para garantir o equilíbrio térmico. A densidade relativa da amostra foi calculada com base na equação a seguir:

$m(am)$ = massa do picnômetro com a amostra

$m(p)$ = massa do picnômetro vazio

$m(H_2O)$ = massa do picnômetro com a água

$$\frac{m(am) - m(p)}{m(H_2O) - m(p)} = \text{Densidade relativa em } 20^\circ\text{C}$$

O percentual em volume é indicado por meio de uma tabela de conversão (Tabela 3), que indica a densidade relativa a 20°C. Esta densidade é determinada no destilado alcoólico da amostra e serve como referência para a comparação dos resultados com a metodologia de grau alcoólico real, conforme descrito nos “Métodos

físico-químicos para análise de alimentos” do Instituto Adolfo Lutz (2008).

Tabela 3: Porcentagem de álcool correspondente a densidade relativa em 20°C por volume.

| | |
|---------|-----|
| 0,99821 | 1,2 |
| 0,99807 | 1,3 |
| 0,99792 | 1,4 |
| 0,99777 | 1,5 |
| 0,99763 | 1,6 |
| 0,99748 | 1,7 |
| 0,99733 | 1,8 |
| 0,99719 | 1,9 |

Fonte: Instituto Adolfo Lutz (2008).

4.3.5 Acidez volátil

Este procedimento baseia-se na titulação de neutralização de ácidos, utilizando uma solução de álcali padronizada, com a ajuda de um indicador como a fenolftaleína ou um pHmetro, até que se alcance o ponto de equivalência.

A acidez total é então expressa em gramas de ácido acético por 100 mL da amostra. O cálculo da acidez volátil é realizado pela diferença entre a acidez total e a acidez fixa. O resultado é apresentado em g de ácido acético por 100 mL da amostra, sendo determinado neste método a partir da acidez total subtraída da acidez fixa (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Foram utilizados para obter o resultado os fatores:

n = volume gasto na titulação da solução de hidróxido de sódio, em mL

M = molaridade da solução de hidróxido de sódio

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio

PM = peso molecular do ácido acético (60g)

V = volume tomado da amostra, em mL

$$\frac{n \times M \times f \times PM}{(10 \times V)} = \text{Ácidos totais, por g de ácidos acéticos por 100mL de amostra}$$

Para 100 mL da amostra de kombucha de caju, foi utilizada um frasco Erlenmeyer de 500 mL. Adicionou-se duas gotas do indicador fenolftaleína. Logo após, titulou-se com solução de hidróxido de sódio 0,1 M padronizada até a coloração rósea persistir.

Por outro lado, a acidez fixa é alcançada através da evaporação da amostra, seguida da titulação dos ácidos residuais com um álcali. Uma amostra de 50 mL de kombucha foi pipetada para uma cápsula de porcelana e colocada para evaporar em banho-maria. Água foi inserida de forma meticulosa nas paredes da cápsula, repetindo sempre que necessário, removendo o resíduo e prosseguindo com a evaporação até a quase completa secagem. Este resíduo foi transferido para um recipiente Erlenmeyer e foram adicionados 100 mL de água.

Imediatamente após, titulou-se com uma solução de hidróxido de sódio 0,1 M, conforme descrito no processo de determinação de acidez total mencionado anteriormente.

$$\frac{n \times M \times f \times PM}{(10 \times V)} = \text{Ácidos fixos, por g de ácidos acéticos por 100mL de amostra}$$

Fatores utilizados:

n = volume gasto na titulação da solução de hidróxido de sódio, em mL

M = molaridade da solução de hidróxido de sódio

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio

PM = peso molecular do ácido acético (60g)

V = volume tomado da amostra, em mL

O valor de ácidos voláteis é obtido pela diferença entre ácidos totais e ácidos fixos, conforme fórmula a seguir:

$$At - Af = \text{Ácidos voláteis}$$

Em seguida, foi calculada a acidez volátil conforme a fórmula a seguir:

$$\frac{(AV \times 100)}{G} = \text{Ácidos voláteis, em g de ácido acético por 100 mL de amostra}$$

Av = ácidos voláteis

G = graduação alcoólica

4.3.6 Índice de Refração (concentração de açúcar)

Ao ligar o refratômetro, iniciou-se a calibração do aparelho de acordo com as instruções do fabricante. Em seguida, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, foram adicionadas três gotas da amostra de kombucha pura. Ao pressionar o botão “Read” no visor, o aparelho leu o índice de refração e exibiu o valor em porcentagem de Brix. Após a leitura, algumas gotas de água destilada foram colocadas no aparelho, e uma nova leitura das amostras foi realizada.

Foi empregado o Refratômetro Digital Portátil modelo MA871, da marca Milwaukee, com faixa de medição de 0 a 85% de Brix. Este instrumento é uma ferramenta rápida e eficiente para determinar a concentração de açúcares em soluções aquosas. A medição da concentração de sólidos solúveis em solução aquosa, correlacionada à quantidade de sacarose dissolvida, é realizada por meio desse dispositivo. Este método apresenta-se particularmente relevante para a indústria alimentícia, sendo amplamente utilizado para quantificar o teor de açúcar em produtos como sucos, refrigerantes, bebidas alcoólicas, entre outros.

As amostras dos dias 0, 3, 6, 9, e 12 foram descongeladas a temperatura de 25°C. Logo em seguida, foi realizada a calibragem do refratômetro portátil marca conforme o fabricante. Realizaram-se as análises do analito com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, adicionando duas gotas da kombucha de suco de resíduos de caju, obtendo como leitura do refratômetro os dados abaixo.

4.3.7 Potencial Hidrogeniônico (pH)

O potencial hidrogeniônico (pH) foram avaliados por meio de um medidor de pH de bancada, modelo PHS-3E-BI, da marca Satra. Para assegurar a exatidão, o dispositivo foi calibrado com soluções de pH 6,0 e 4,0, conforme as instruções do fabricante, sendo limpo o eletrodo com água destilada após cada medição de pH.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Compostos Fenólicos Totais (CFT)

Os compostos fenólicos são classificados como antioxidantes de alto nível devido à sua capacidade de eliminar espécies reativas de oxigênio e radicais livres, incluindo oxigênio singlete, radicais superóxido e radicais hidroxila (JAYABALAN *et al.*, 2008). Os polifenóis formam complexos com metais e, assim como a vitamina C, atuam como doadores de elétrons e hidrogênios, neutralizando radicais livres.

Esse mecanismo resulta na proteção contra a oxidação lipídica, no aumento da transcrição de proteínas antioxidantes, na supressão das atividades das enzimas ciclooxigenases (COX) e lipoxigenases (LOX), na redução da síntese de interleucinas e do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e na atenuação de processos inflamatórios (MEDEIROS e CECHINEL-ZANCHETT, 2019).

Obteve-se, como resultado dos compostos fenólicos totais (CFT) um comportamento similar aos resultados dos antioxidantes das amostras de kombucha de suco de caju, um acréscimo durante o período do dia 0 ao dia 03 (Tabela 07) de 565,7273 mg/L a 591,1818 mg/L seguido de uma queda do dia 6 para 9, de 586,9394 mg/L de 563,00 mg/L de CFT, consecutivamente; e um leve aumento dia 12 de 569,3636 mg/L CFT.

Uma possível explicação é que, durante a fermentação da kombucha à base chá verde, as catequinas são liberadas de células sensíveis aos ácidos, o que pode explicar o aumento do teor de fenóis solúveis totais ao longo do processo. No entanto, as catequinas também podem sofrer polimerização, formando moléculas de maior massa molecular, o que pode, por sua vez, reduzir o conteúdo de fenóis solúveis totais (CHU & CHEN, 2006). Outro fator relevante é que compostos fenólicos complexos podem ser degradados em moléculas de menor massa molecular em meio ácido ou pela ação de enzimas liberadas por bactérias e fermentos durante a fermentação (WATAWANA *et al.*, 2015).

Os resultados obtidos foram semelhantes a Rojas (2022), que estudou um kombucha de chá verde com 50 g/L de polpa de jaca lixiviado de 10 dias e obteve valores no 2º dia de fermentação ($0,53 \pm 0,01$ mg Equivalente de ácido), seguido de decréscimo no dia 7º de fermentação ($0,45 \pm 0,01$ mg EAG/mL), e aumento no 9º dia a fermentação ($0,53 \pm 0,01$ mg EAG/mL). O autor justificou o resultado com as

catequinas são liberadas pelas células sensíveis à acidez durante a fermentação chá verde kombucha que pode aumentar o teor total dos fenóis, mas as catequinas podem polimerizar as moléculas de maior massa molecular, reduzindo, assim, o conteúdo de fenóis (CHU e CHEN, 2006).

Esses compostos são divididos em subclasses, que podem ser divididas por grupos de colorações específicas: flavonas, flavonóis, flavanonas (coloração amarela); isoflavonoides e flavonas (incolores); antocianinas (vermelho e violeta) (FONSECA *et al.*, 2016). A quercetina é um flavonol (coloração amarela) que possui maior poder sequestrador de espécies reativas de oxigênio. De Brito *et al.* (2007) detectou 13 tipos de flavonoides em pedúnculo de caju, quantificando 0,28 mg/g de flavonoides glicosilados totais, onde 6 eram do tipo quercetina (0,11 mg/g) e 6 miricetina (0,15 mg/g). Hoffmann-Ribanni *et al.* (2009) encontrou uma menor quantidade de miricetina no caju fresco (0,02 mg/g) ressaltando que as diferentes formas de cultivo influenciam no conteúdo de compostos bioativos das frutas.

A quantidade de polifenóis atuais na kombucha pode aumentar de forma unidimensional à medida que o tempo de fermentação também aumenta e isso pode estar relacionado com a degradação dos polifenóis e flavonoides complexos em moléculas menores pelas enzimas liberadas pelos microorganismos presentes no SCOBY'S (CHAKRAVOTY *et al.*, 2016).

A diminuição de polifenóis pode ter sido ocasionada pela deterioração provocada pelas enzimas das leveduras e bactérias presentes no meio. As catequinas (principais compostos fenólicos do chá verde) podem ser polimerizadas para moléculas de alto peso molecular levando a detecção de baixa quantidade de polifenóis (AMARASINGHE, WEERAKKODY, WAISUNDARA, 2018; CHU, CHEN, 2006; JAYABALAN, MARIMUTHU, SWAMINATHAN, 2007).

5.2 Ensaio de Inibição do Radical DPPH

Na kombucha de resíduos de caju, a Atividade Antioxidante Total (AAT) apresentou um valor de 39,1304% no dia 0, o dia em que se inicia a fermentação da bebida (figura 13). Ocorreu um aumento na AAT no dia 3, alcançando 51,3784%. Nos dias 6 e 9 ocorreu um decréscimo na AAT, sendo os valores foram de 27,2727% e 21,9298%, respectivamente, e no dia 12 teve um leve aumento em relação ao dia 9, alcançando 23,4234%.

Os resultados corroboram com o resultado de Rojas (2022), que preparou uma kombucha de chá verde com 50 g/L de polpa de jaca lixiviado de 10 dias e testou suas amostras frente ao radical DPPH, no qual apresentou um aumento da AAT no 2º dia de fermentação ($0,33 \pm 0,01$ mg Equivalente Trolox/mL), seguido de decréscimo no dia 7º de fermentação ($0,28 \pm 0,01$ mg ET/mL), e aumento no 9º dia de fermentação ($0,41 \pm 0,01$ mg ET/mL).

Outros autores verificaram este mesmo comportamento na análise DPPH, em que atingiu a percentagem máxima de inibição no início da fermentação e diminuição ao final (JAKUUBCZYK *et al.*, 2020; GAGGIA *et al.*, 2018; CHAKRAVORTY *et al.*, 2016). Em outros estudos foi verificado perfil similar de aumento e queda na atividade antioxidante, amostras de kombucha de chá preto e chá verde contra o radical DPPH.

Malbasa *et al.* (2011) obtiveram 50% de inibição no terceiro dia de fermentação e diminuiu ao longo dos quatro dias seguintes do método, isto se deve provavelmente à variabilidade da microbiota que se encontra em diferentes SCOBY'S (JAYASEKERA *et al.*, 2011; SANTOS JUNIOR *et al.*, 2009; CHEN e LIU, 2000).

De acordo com Jayabalan *et al.* (2014), o aumento da capacidade antioxidante do kombucha depende de diversos fatores, incluindo o tipo de substrato utilizado, o tempo de fermentação e a composição da microbiota presente. Esta última desempenha um papel fundamental na determinação da natureza dos metabólitos formados ao longo do processo de fermentação.

Os comportamentos de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante foram semelhantes, um aumento em D3 seguido de decréscimo. Na literatura existe a tendência de declínio na atividade antioxidante ao longo dos dias de fermentação a partir do terceiro dia. De acordo com Schroeder (2019), a descida do SCOBY, no chá, durante a fermentação é uma possível justificativa para a diminuição da concentração de polifenóis. O biofilme fica na superfície formando uma barreira que dificulta a entrada de oxigênio no meio, sem essa barreira, os polifenóis podem ter sofrido oxidação, levando à redução da concentração de polifenóis. Após alguns dias um novo biofilme começa a ser formado na superfície e a concentração de compostos fenólicos estabiliza e retoma, lentamente, o aumento.

Da Silva *et al.* (2014) estudaram os compostos bioativos da polpa de caju e os subprodutos da sua produção (casca e sobras de polpa) a fim de determinar a concentração dos compostos bioativos em cada parte de pedúnculo do caju. Verificaram na polpa as seguintes concentrações: 7,62 mg/100g de antocianinas totais;

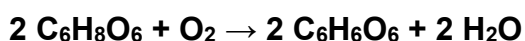
0,45 mg de β caroteno/100g e 5.286,49 mg de EAG/100g de compostos fenólicos. E no subproduto obterão as seguintes concentrações 14,74 mg/100mg de antocianinas totais; 0,179 mg de β caroteno/100g; 1.987,19 EAG/100g de compostos fenólicos; e flavonoides amarelos não foram encontrados na polpa, entretanto, foram determinadas 44,91 mg/100g nos subprodutos. Nos subprodutos encontraram o dobro de antocianinas e que não foram detectados na polpa, concluindo que a maior parte dos flavonoides amarelos estão na casca do pedúnculo do caju.

Diante do exposto, a atividade antioxidante da amostra de kombucha estudada pode ser justificada em função das catequinas encontradas no chá verde (Zienlisk, 2021) e dos compostos fenólicos, como as antocianinas, encontradas no subproduto do caju (SILVA, 2004).

5.3 Análise Quantitativa de L-ascórbico (Vitamina C)

A vitamina C, ou ácido ascórbico, é um nutriente essencial para os seres humanos, desempenhando diversas funções no organismo, como a síntese de colágeno, a atividade do sistema imunológico e a ação antioxidante. Sua determinação em alimentos, especialmente em sucos e extratos de frutas, é de grande importância para a avaliação nutricional e o controle de qualidade (SELIMOVIC *et al.* 2011). A vitamina C influencia em processos antioxidantes e antiinflamatórios, beneficiando o organismo (CAVALARI, SANCHES, 2018).

Na kombucha de resíduos de caju, foi apresentado um valor significativo no dia 0, dia em que se inicia a fermentação da bebida, de 198,55 mg de ácido ascórbico/L. Houve uma leve queda no decorrer do processo fermentativo: no dia 3, apontou 163,84 mg de ácido ascórbico/L; no dia 6 e no dia 9, 155,75 mg de ácido ascórbico/L, caindo para 153,66 mg de ácido ascórbico/L; e, no dia 12, 127,56 mg de ácido ascórbico/L. Como esperado, a concentração de vitamina C diminui ao longo do tempo devido à exposição ao oxigênio, resultando em sua oxidação e degradação progressiva (Reação de oxidação da vitamina C por oxigênio, abaixo).



Os resultados das médias determinadas de ácido ascórbico corroboram com os estudos de Leonarski *et al.* (2021) que relatam a degradação da vitamina C durante a fermentação de kombucha com chá verde em 15 dias de processo fermentativo, apresentando um decréscimo de mais de 25%. Da mesma forma, na kombucha de

subprodutos da acerola, a degradação do ácido ascórbico foi de 52,7%, 13,8% e 12,8% para a kombucha fermentada com 1%, 3% e 5% (p/v) de substrato.

5.4 Determinação da Graduação alcoólica real em 20°C por volume

Turner (2010) afirma que, embora a kombucha seja tradicionalmente considerada uma bebida não alcoólica, o processo de fermentação natural pode resultar na produção de álcool, que varia de acordo com o tempo de fermentação, a temperatura e outros fatores.

Isso ocorre devido à ação dos microrganismos presentes no chá, como leveduras e bactérias, que convertem os açúcares em ácido acético e álcool. O ácido acético promove a produção de etanol por parte das leveduras, e a presença de etanol favorece o crescimento das bactérias produtoras de ácido acético, o que, por sua vez, aumenta a produção de ácido acético (JAYABALAN *et al.*, 2014).

A produção de álcool pode ser um ponto de interesse para controle de quantidade de álcool, tanto para produtores quanto para consumidores que buscam obter uma quantidade específica dessa substância na bebida. Foram usados picnômetros de volume de 25 mL em triplicata, sendo pesados vazios, com água destilada ou com amostra, e os dados registrados. Em seguida, a densidade do líquido a 20°C foi estimada de acordo com a fórmula abaixo:

$m(am)$ = massa do picnômetro com a amostra

$m(p)$ = massa do picnômetro vazio

$m(H_2O)$ = massa do picnômetro com a água

$$\frac{m(am) - m(p)}{m(H_2O) - m(p)} = \text{Densidade relativa em } 20^\circ\text{C}$$

$$\text{Picnômetro nº 1} \quad \frac{58.2902 \text{ g} - 28.6998 \text{ g}}{58.2992 \text{ g} - 28.6998 \text{ g}} = \frac{295.904 \text{ g}}{295.994 \text{ g}} =$$

$$0,9996 \text{ g de Densidade relativa em } 20^\circ\text{C} / (\text{g}/\text{cm}^3)$$

$$\text{Picnômetro nº 2} \quad \frac{54.1665 \text{ g} - 28.0350 \text{ g}}{54.2125 \text{ g} - 28.0350 \text{ g}} = \frac{261.315 \text{ g}}{261.775 \text{ g}} =$$

$$0,9982 \text{ g de Densidade relativa em } 20^\circ\text{C} / (\text{g}/\text{cm}^3)$$

$$\text{Picnômetro nº 3} \quad \frac{50.4648 \text{ g} - 25.5394 \text{ g}}{50.6197 \text{ g} - 25.5394 \text{ g}} = \frac{249254 \text{ g}}{250803 \text{ g}} =$$

$$0,9938 \text{ g de Densidade relativa em } 20^\circ\text{C} / (\text{g}/\text{cm}^3)$$

Dispondo da média dos picnômetros (tabela 4), pode-se então enquadrar em uma densidade relativa em 20°C por volume, que determina a quantidade de álcool em porcentagem por volume. Constatou-se que, com uma densidade relativa de 0,9972 a 20°C (g/cm^3), estima-se uma kombucha de 1,9% v/v de álcool, conforme item 4.2.4 (Tabela 2), estabelecida pelo protocolo de porcentagem de álcool (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Pela legislação IN-41, a kombucha de resíduo de caju pode ser classificada como uma kombucha alcóolica, dado que apresenta valor de graduação alcoólica acima de 0,5%.

Tabela 4: Graduação alcoólica em 20°C/ (g/cm^3) e média.

| Picnômetros(10ml) | Densidade relativa em 20°C (g/cm^3) |
|------------------------------|---|
| Picnômetro nº 1 | 0,9996 |
| Picnômetro nº 2 | 0,9982 |
| Picnômetro nº 3 | 0,9938 |
| Média dos Picnômetros | 0,9972 |

Fonte: Autoria própria 2025.

Outros trabalhos corroboram os resultados determinados, como o de Bueno Rojas (2022), que produziu uma kombucha de chá preto com 50 g/L de polpa de jaca e, em seu décimo dia de fermentação, obteve uma graduação alcoólica de aproximadamente $2,10\% \pm 0,07$. Também no décimo dia de fermentação, uma kombucha produzida à base de chá verde com 50 g/L de polpa de jaca resultou em um teor alcoólico menor, de $1,95\% \pm 0,15$ (ROJAS, 2022).

Barbosa (2020), em sua produção de kombucha de chá verde e chá preto, com duração de fermentação de 15 dias, apresentou no décimo dia de processo fermentativo um teor de 1,9 grau alcoólico por litro na kombucha de chá verde, e 0,7 grau alcoólico por litro na kombucha de chá preto, tendo valores de teor alcoólico parecidos com a kombucha de resíduos de suco de caju.

Um estudo investigou a influência de dois recipientes com diferentes razões entre superfície e altura, mantendo a mesma relação superfície/volume, e concluiu

que uma maior razão superfície/altura favorece a produção de etanol, enquanto uma menor razão favorece a produção de ácido acético (VILLARREAL-SOTO *et al.*, 2019).

5.5 Acidez volátil

Na análise de acidez volátil, realizou-se a acidez total e a acidez fixa, e ao subtrair a acidez fixa do total, obteve-se o resultado da acidez volátil. A acidez total é comumente empregada como um parâmetro de monitoramento e é frequentemente considerada uma métrica mais representativa do que o pH (LEONARSKI, 2021).

Na acidez total, titulou-se 100 mL de kombucha de resíduos de caju, em triplicata (Tabela 5), utilizando uma solução de hidróxido de sódio 0,1M padronizada, com fenolftaleína como indicador. Durante essa titulação, obteve-se a média de 62,3 mL de NaOH, conforme mostrado na tabela abaixo. Em seguida, esse valor foi utilizado para quantificar os ácidos totais.

Tabela 5: Consumo de NaOH em titulação de acidez total.

| Análise em triplicata titulação de acidez total | Hidróxido de sódio (NaOH) utilizados (mL) |
|---|---|
| 1º titulação até obter a viragem | 62 |
| 2º titulação até obter a viragem | 61,9 |
| 3º titulação até obter a viragem | 63 |
| Média | 62,3 |

Fonte: Autoria própria 2025.

$$\frac{n \times M \times f \times PM}{(10 \times V)} = \text{ÁCIDOS TOTAIS}$$

n = volume gasto na titulação da solução de hidróxido de sódio, em mL

M = molaridade da solução de hidróxido de sódio

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio

PM = peso molecular do ácido acético (60g)

V = volume tomado da amostra, em mL

$$\frac{62,3 \text{ (mL)} \times 0,1 \text{ (mol/L)} \times 1 \times 60 \text{ g}}{(10 \times 100 \text{ mL})} = \text{ÁCIDOS TOTAIS} \quad \frac{3,738}{100} = \text{ÁCIDOS TOTAIS}$$

$$37,38 \text{ g/100ml de ácido acético} = \text{ÁCIDOS TOTAIS}$$

Posteriormente, um volume de 50 mL de kombucha foi transferido para um cadinho, que foi colocado em banho-maria para concentração da amostra até secagem completa. Após a secagem, a amostra foi ressuspensa em 100 mL de água destilada e titulada novamente com a mesma solução de NaOH de 0,1 M. Para essa titulação, foram utilizados 20,5 mL da solução de NaOH na primeira, 20 mL na segunda e 20,1 mL na terceira (Tabela 6), permitindo o cálculo da acidez fixa:

Tabela 6: Consumo de NaOH em titulação de acidez fixa e média.

| Análise em triplicata titulação de acidez fixa | Hidróxido de sódio(NaOH) utilizados(mL) |
|--|---|
| 1º titulação até obter a viragem | 20,5 |
| 2º titulação até obter a viragem | 20 |
| 3º titulação até obter a viragem | 20,1 |
| Média | 20,2 |

Fonte: Autoria própria (2025).

$$\text{Ácidos fixos} = \frac{n \times M \times f \times PM}{10 \times V}$$

$$\text{Ácidos fixos} = \frac{20,2 \text{ mL} \times 0,1 \text{ mol/L} \times 1 \times 60 \text{ g}}{10 \times 50 \text{ mL}} \quad \text{Ácidos fixos} = \frac{1,212 \text{ g/mL}}{50 \text{ mL}}$$

$$\text{Ácidos fixos} = 24,24 \text{ g/100ml de ácido acético}$$

$$\text{Ácidos voláteis} = \text{Ácidos totais} - \text{Ácidos fixos}$$

$$\text{Ácidos voláteis} = 37,38 \text{ g/100ml de ácido acético} - 24,24 \text{ g/100ml de ácido acético} = 13,14 \text{ g/100 ml}$$

G = Graduação alcoólica

AV= Ácidos voláteis

$$\text{Acidez volátil} = \frac{AV \times 100}{G} = \frac{13,14 \times 100}{1,9} = 691,57 \text{ g/100 mL de ácido acético}$$

Transformando acidez volátil de g/100 mL em mmol/L (unidade usada na IN 41):

$$\begin{array}{ll} 60,05 \text{ g} & 1 \text{ mol} \\ 6,92 \text{ g} & x \text{ mol} \end{array}$$

$$x = 0,1153 \text{ mol}$$

Transformando em mmol:

$$0,1153 \text{ mol}$$

$$\text{Mmol} \quad \quad \quad x$$

$$X = 115.3 \text{ mmol}$$

Transformando para 1.000 ml:

$$115,3 \text{ mmol} \quad \quad \quad 100\text{ml}$$

$$x \text{ mmol} \quad \quad \quad 1000\text{ml}$$

$$x = 1.153 \text{ mEq/L}$$

Esse valor é significativamente superior ao estabelecido pela Instrução Normativa (IN) 41 (Tabela 1), item 3.4, que determina um limite mínimo de 30 mEq e máximo de 130 mEq de ácido acético. Dessa forma, o produto obtido não está em conformidade com esse critério da legislação vigente.

As bactérias do ácido acético oxidam etanol e carboidratos em ácidos orgânicos para obter energia. Este processo é conhecido como metabolismo oxidativo e é catalisado por desidrogenases e ubiquinonas. A oxidação do etanol a ácido acético é chamada de fermentação acética (BARJA *et al.*, 2016; MATSUSHITA, MATSUTANI, 2016; OKAMOTO-KAINUMA, ISHIKAWA, 2016 apud BARBOSA, 2020). As bactérias utilizam a glicose para produzir ácido glucônico e o etanol para produzir ácido acético (JAYABALAN *et al.*, 2014).

Outros trabalhos tiveram resultados diferentes, apresentando acidez reduzida, como o de Rojas (2022), que, em kombucha de chá verde com 60 g/L de polpa de jaca lixiviada, apresentou uma acidez de 0,55% de ácido acético em 10 dias de processo fermentativo, fornecendo mEq/L $\approx 91,67$ de ácido acético. Silva (2017) encontrou uma acidez volátil de $5,51 \pm 0,56$ mEq/L em 10 dias de fermentação do umbu, através de reatores que foram incubados em estufa do tipo B.O.D. (Biochemistry Oxygen Demand), regulada para $22^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.

Futuras pesquisas podem ser conduzidas com o objetivo de reduzir a formação de ácidos na kombucha produzida a partir de resíduos de caju, de modo a atender aos critérios estabelecidos pela IN 41. Para isso, podem ser adotadas

estratégias como a redução do tempo da primeira fermentação, a diminuição da concentração de açúcar no meio fermentativo ou a limitação da quantidade de suco de resíduo de caju, caso este apresente acidez volátil excessiva.

5.6 Índice de Refração (concentração de açúcar)

A análise de concentração de sólidos solúveis em solução tem o objetivo de quantificar a concentração de açúcar na kombucha de suco de resíduos de caju através do índice de refração em °Brix. Foram realizadas leituras em triplicata (Tabela 07) e os resultados foram expressos em média das concentrações.

Nota-se que, durante o processo fermentativo da kombucha, houve uma redução de sólidos solúveis totais conforme esperado. A explicação para isso é que a concentração de açúcares redutores totais diminuiu progressivamente durante todas as fermentações, indicando seu consumo pela comunidade microbiana presente na kombucha (BARBOSA, 2020). Além disso, o açúcar contido na bebida fornece condições para o crescimento microbiano da colônia de bactérias e para a produção de matriz de celulose bacteriana, chamada de scoby filho (TONOUCHI, NAOTO, 2016).

Na pesquisa de Rojas (2022), o teor de sólidos solúveis totais (SST) variou entre as amostras de kombucha de jaca, com diferenças significativas entre elas. A amostra de kombucha de chá verde com 60 g/L de polpa de jaca lixiviada apresentou a menor concentração de SST, com um valor de $5,17 \pm 0,05$ °Bx, enquanto a amostra de kombucha de chá verde com 50 g/L de polpa de jaca lixiviada exibiu a maior concentração, com $6,10 \pm 0,10$ °Bx.

Já Souza (2019), em uma kombucha de chá preto fermentada por 14 dias, analisada por refratômetro GT427 Lorben obteve como resultado $2,9000 \pm 0,1732$ graus brix.

De acordo com Sousa (2022) o grau brix diminuiu de 4,0 para 3,6 indicando menor concentração de sólidos solúveis no chá de kombucha final. Foi averiguado que o teor de açúcares redutores aumentou após 7 dias de fermentação. Os sólidos solúveis (grau Brix) diminuíram no decorrer da fermentação. O teor de sólidos solúveis totais é demonstrado pela concentração de açúcares adicionada no chá utilizada como substrato no processo fermentativo e pela adição do chá (DADA *et al.*, 2021; JANUÁRIO *et al.*, 2019).

5.7 Potencial Hidrogeniônico (pH)

Jayabalan (2014) afirma que, durante o período de fermentação do chá e da kombucha, o pH diminui. Essa redução no pH é atribuída à produção de ácidos orgânicos, como o ácido acético e o ácido glucurônico, pelas bactérias e leveduras presentes no scoby utilizada na fermentação. A diminuição do pH contribui para o sabor ácido característico da bebida. O pH da kombucha de resíduos de caju durante os 12 dias de fermentação teve um decréscimo (Tabela 07). No dia da inoculação do scoby (a adição da colônia de bactérias no chá para iniciar a fermentação), o pH da bebida foi de 3,59, chegando ao dia 12 de fermentação a 2,54, conforme nota-se na tabela.

A faixa de pH considerada segura para o consumo humano varia de 2,5 a 4,2, pois valores inferiores a 2,5 apresentam uma elevada concentração de ácido acético, representando um potencial risco à saúde dos consumidores, enquanto valores superiores a 4,2 podem comprometer a segurança microbiológica da bebida (ROJAS, 2022).

Afirma Leonarski (2021) que, embora os ácidos orgânicos sejam continuamente sintetizados ao longo do processo fermentativo, o pH atinge um estado de equilíbrio em determinado momento devido à capacidade tampão da kombucha. Isso pode ter ocorrido este nos dias finais. Nota-se que, do dia 9 ao dia 12, o pH tende a chegar a um padrão de acidificação nas três amostras, conforme visualizado na (Tabela 07). A redução do pH pode ser benéfica para evitar a degradação química dos compostos fenólicos e preservar a estabilidade da cor da bebida (TORSKANGER POLL e ANDERSEN, 2005 apud ROJAS, 2022).

Para Barbosa (2020), que realizou a análise de duas amostras de kombuchas com chá verde e chá preto, também produzidas através de infusão e filtradas durante 15 dias de fermentação em biorreator por 25°C, obteve, ao final da fermentação, o pH de $3,05 \pm 0,03$ para o chá verde e $3,09 \pm 0,01$ para o chá preto kombucha. Rojas (2022) relata que, após 10 dias de fermentação de kombucha com lixiviado de polpa de jaca, os valores de pH das amostras de kombucha foram de 2,67 a 2,87, e na kombucha de chá verde com 60 g/L de polpa de jaca moída, apresentou um pH de $2,89 \pm 0,01$.

Tabela 07: Resumo dos valores das amostras da kombucha de resíduo de caju coletadas a cada três dias para Fenóis Totais, Atividade de Sequestro de Radical de DPPH, Ácido Ascórbico, Sólidos Solúveis e pH

| Dias de fermentação | Fenóis Totais (mg EAG/L) | Atividade Antioxidante (% de sequestro de radical DPPH) | Ácido Ascórbico (mg/L) | Sólidos Solúveis (Brix) | pH |
|----------------------------|---------------------------------|--|-------------------------------|--------------------------------|-------------|
| D0 | 566,03 ± 5,91 | 39,13% ± 0,39 | 238,30 ± 10,75 | 3,1 ± 0,11 | 3,60 ± 0,01 |
| D3 | 591,18 ± 4,81 | 51,37% ± 0,51 | 236,24 ± 4,43 | 2,8 ± 0,05 | 2,74 ± 0,01 |
| D6 | 586,93 ± 21,07 | 27,27% ± 0,27 | 241,42 ± 2,28 | 2,5 ± 0,05 | 2,58 ± 0,00 |
| D9 | 563,00 ± 2,73 | 21,92% ± 0,21 | 238,46 ± 8,94 | 2,0 ± 0,11 | 2,55 ± 0,00 |
| D12 | 569,36 ± 15,43 | 23,42% ± 0,23 | 195,59 ± 0,00 | 1,9 ± 0,05 | 2,54 ± 0,00 |

Fonte: Autoria própria (2025).

6 CONCLUSÃO

A produção de uma kombucha, a partir de resíduos sólidos do processamento do caju, apresenta um elevado potencial para a valorização de um subproduto que, de outra forma, seria descartado. Devido ao seu alto teor de ácido ascórbico, à presença de microrganismos probióticos, ao baixo teor de açúcar e à significativa atividade antioxidante, essa bebida pode representar uma alternativa viável à substituição de sucos, refrigerantes e outras bebidas açucaradas, além de contribuir para a geração de empregos no setor industrial e doméstico.

Após 12 dias de fermentação, o produto apresentou um teor alcoólico de 1,9% v/v, sendo caracterizada como uma kombucha alcoólica pela Instrução Normativa N° 41 (teor alcoólico superior a 0,05% v/v).

Dessa forma, o produto desenvolvido não atendeu ao critério regulamentar para ser classificado como uma bebida isenta de álcool. A acidez volátil do produto desenvolvido apresentou um valor de 1.153 mEq/L, excedendo significativamente os limites estabelecidos pela legislação, que determina um intervalo mínimo de 30 mEq/L e máximo de 130 mEq/L. Dessa forma, o produto não atende aos padrões regulatórios exigidos.

Sugere-se que futuros estudos busquem adequar a produção de kombucha a partir de resíduos de caju, direcionando a redução do teor de álcool e ácidos voláteis. Para isso, recomenda-se a diminuição do tempo de fermentação e redução da concentração do açúcar no início da bebida. Os demais padrões da legislação foram atingidos de acordo com a Instrução Normativa N° 41.

As análises de Compostos fenólicos totais, vitamina C (ácido ascórbico) atividade antioxidante apresentaram uma redução esperada na bebida, devido à oxidação dos seus compostos ao longo do processo fermentativo.

REFERÊNCIAS

ABREU, F. A. P. **Extrato de bagaço de caju rico em pigmento**. n. PI 0103885-0, 11 de junho de 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE KOMBUCHA. **Padronização de identidade e qualidade da Kombucha**. São Paulo, 2019. Disponível em: <<https://abkom.org.br/padronizacao-de-identidade-e-qualidade-da-kombucha/>>. Acesso em: 25 mar. 2024.

BALENTINE DA, WISEMAN SA, BOUWENS LC. The chemistry of tea flavonoids. **Crit Rev Food Sci Nutr**. v. 37, n.8, 693–704. Englewood Cliffs, 1997. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/citedby/10.1080/10408399709527797?scroll=to>>. Acesso em: 01 abr. 2023.

BARBOSA, Cosme Damião. Molecular Characterization of the Microbiota and Physicalchemical Evaluation of the Fermentative Process of Kombucha. **repositorio.ufmg.br**. Disponível em: <<https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/34756>>. Acesso em: 20 jan. 2025.

BUENO-ROJAS, D. A. Desarrollo y estudio de una bebida fermentada con cultivo microbiano de kombucha y pulpa de yaca. **Tecnm.mx**, 2022. Disponível em: <<https://rinacional.tecnm.mx/jspui/handle/TecNM/5944>>. Acesso em: 20 fev. 2024.

_____, D. A. *et al.* Development of kombucha beverage with jackfruit leaves (*Artocarpus heterophyllus* Lam) and/or soursop leaves (*Annona muricata*). **Food Chemistry**, v. 469, p. 142348–142348, 6 dez. 2024. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814624039980>>. Acesso em: 20 jan. 2025.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Norma regulamentadora nº41 de 17 de setembro de 2019 Estabelecer o Padrão de Identidade e Qualidade da Kombucha. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 2019. Seção:1, p.13. Disponível em: <<https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/i=76>>. Acesso em: 25 out. 2024.

_____. Ministério do Meio Ambiente. **Gestão de resíduos orgânicos**. Brasília, 2017. Disponível em: <<https://antigo.mma.gov.br/cidades-sustaveis/residuos-solidos/gest%C3%A3o%20de%20res%C3%A9duos%20org%C3%A2nicos>>. Acesso em: 08 jan. 2024.

_____. Norma regulamentadora nº 25 de 1978. **Estabelece requisitos de segurança e saúde no trabalho para o gerenciamento de resíduos industriais**. Brasília, 1978. Disponível em: <<https://www.gov.br/trabalho-e-emprego/pt-br/acesso-a-ias-regulamentadora/normas-regulamentadoras-vigentes/norma-regulamentadora-no-25-nr-25>>. Acesso em: 08 jan. 2025.

CAVALARI, T. G., SANCHES, R. Os efeitos da vitamina c. **Revista saúde em foco**, p. 749–765. 2018. Disponível em: <<http://bit.ly/2xDIsV7>>. Acesso em: 15 jan. 2025.

CHAKRAVORTY, S.; BHATTACHARYA, S.; CHATZINOTAS, A.; CHAKRABORTY, W.;

BHATTACHARYA, D.; GACHHUI, R. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. **Int J Food Microbiol. Índia**, v. 220, p.63-72. 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro>>. Acesso em: 01 jan. 2025.

CHU, S. C., Y CHEN, C. (2006). Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. **Food Chemistry**, 98(3): 502-507. Disponível em: <<https://www.semanticscholar.org/paper/Antioxidant-activities-of-kombucha-prepared-from-in-Fu-Yan/b59fe44ef416d574648e0a33da09026f1e5eebd0>>. Acesso em: 01 jan. 2025.

DUFRESNE, C.; FARNWORTH, E. Tea, Kombucha, and health: A review. **Food Research International, Canada** v. 33, n. 6, p. 409-421, jul. 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996900000673>. Acesso em: 12 jan. 2025.

FERNANDES, F. O complexo do caju e a cultura alimentar nordestina: desafios para as políticas culturais. **Pol. Cult. Rev.**, Salvador, v. 16, n. 2, p. 13-37, jul./dez. 2023. Acesso em: 10 fev. 2025.

FGV AGRO. **A INDÚSTRIA DE SUCOS E CHÁS NO BRASIL E SUAS INTERAÇÕES COM O COMÉRCIO INTERNACIONAL**. [s.l.: s.n.]. Jun, 2017. Disponível em: <https://agro.fgv.br/sites/default/files/202303/cha%E2%95%A0%C3C_fgv_PT.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2025.

FONSECA, K. Z. *et al.* **Perguntas mais frequentes sobre flavonoides**. Bahia: [s.n.], v. 25, p. .978, 2016. Disponível em: <<https://ufrb.edu.br/>>. Acesso em: 15 mai. 2025.

FUNDAÇÃO CARGILL. **Caju**: conheça a história da fruta. Out .2021 Disponível em: <<https://fundacaocargill.org.br/beneficios-do-caju>>. Acesso em: 07 fev. 2025.

HOFFMANN-RIBANI, R.; HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonols in fresh and processed Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis** v. 22, n. 4, p. 263–268, 2009. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/>>. Acesso em: 15 mai. 2025.

HOLLMAN, P. C. H.; HERTOOG, M. G. L.; KATAN, M. B. Role of dietary flavonoids in protection against cancer and coronary heart disease. **Biochemical Society Transactions**, v. 24, n. 3, p. 785–789, 1 ago. 1996.

INÁCIO, Caio de Teves. **Compostagem: ciência e prática para a gestão de resíduos orgânicos** / Caio de Teves Inácio e Pauh Richard Momsen Miller. - Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4.ed. São Paulo, 2008.

JAYABALAN, R. *et al.* 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, 21 jun. 2014. Disponível em: <<https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1541-4337.12073>>. Acesso em: 20 jun. 2024.

LEONARSKI, E.; CESCO, K.; ZANELLA, E.; BORIS, U.; STAMBUK, OLIVEIRA D, POLETTO, P. Production of kombucha-like beverage and bacterial cellulose by acerola by product as raw material, **LWT**, V. 135, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110075>>. Acesso em: 20 ago. 2024.

LIM, T. K. **Edible medicinal and non-medicinal plants**. [s.1.] Springer, 2012. v. 1

MARSH, A.J.; O'SULLIVAN, O.; HILL, C.; ROSS, R.P.; COTTER, P.D. Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. **Food Microbiology**, v. 38, 171–178, 2014

MEDEIROS, S.C.G., CECHINEL-ZANCHETT, C.C. Kombucha: Efeitos in Vitro E in Vivo. **Infarma -Ciências Farmacêuticas**, v. 31, n. 2, p. 73–79. Out 2019. Disponível em: <<http://bit.ly/335VR3M>>. Acesso em: 15 fev. 2025.

MORDOR INTELLIGENCE. **Caju Brasil Tamanho do mercado**. 2024 Disponível em: <<https://www.mordorintelligence.com/pt/industry-reports/brazil-cashew-market>>. Acesso em: 10 fev. 2025.

PAIVA, F.F.; GARRUTI, D.; SILVA NETO, R.M. **Aproveitamento Industrial do caju**. Fortaleza: Embrapa-CNPAT/SEBRAE/CE, 2000.

PALUDO, N. **Desenvolvimento e caracterização de kombucha obtida a partir de chá verde e extrato de erva-mate**: processo artesanal e escala laboratorial. lume.ufrgs.br, 2017. Disponível em: <<https://lume.ufrgs.br/handle/10183/174899j>>. Acesso em: 06 jan. 2025.

RUFINO, M. S. M.; *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 nontraditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996-1002, 2010.

SANTOS, G. C. *et al.* Kombucha: Uma Bebida com Potenciais Benefícios para a Saúde, Produzida a partir de Chá Verde Utilizando uma Colônia Simbiótica de Bactérias e Leveduras. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 38, Suppl. 1, p. 181-188, 2018.

SELIMOVIC, A.; SALKIC, M.; SELIMOVIC, A. 2011. Direct Spectrophotometric Determination of L-ascorbic acid in Pharmaceutical Preparations using Sodium Oxalate as Stabilizer. **International Journal of Basic & Applied Sciences IJBAS-IJENS**, v. 11, n. 2, p. 106-109. Disponível em: <<https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=ed8eb3321141ba ff1e8eced8beffc26b433aa965>>. Acesso em: 15 jan. 2025.

SILVA, AM, Oliveira, RL, Ribeiro, OL, Bagaldo, AR, Bezerra, LR, Carvalho, ST, Abreu, CL, & Leão, AG (2014). Valor nutricional de resíduos da agroindústria para alimentação animal. **Comunicata Scientiae**, 5 (4), 370–379.

<<https://doi.org/10.14295/cs.v5i4.870>>. Acesso em: 26 fev. 2025.

SILVA, J. L. A. DA; DANTAS, C. E. A. FERMENTADO ALCOÓLICO DE UMBU: PRODUÇÃO, CINÉTICA DE FERMENTAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA. **HOLOS**, v. 2, p. 108, 29 ago. 2017. Disponível em: <[10.15628/holos.2017.4506](https://doi.org/10.15628/holos.2017.4506)>. Acesso em: 26 fev. 2025.

SILVA, F. E. F; RIBEIRO, V. G. P; GRAMOSA, N. V; MAZZETTO. Temática Chás. Química Nova na Escola, v. 39, n. 4, p. 329-338, 2017.

SILVA, L. M. *et al* . Quantification of bioactive compounds in pulps and by products of tropical fruits from Brazil. Food Chemistry v. 143, p. 398-404, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013>>. Acesso em: 15 mai. 2025

TURNER, B. C. **O Kombucha: The Miracle Fungus**. New York: Avery, 2010.
TRAJANO, L. *et al*. **Aspectos nutricionais do caju e panorama econômico da Cajucultura**. v. 10, n. 11, Disponível em: <[p.e229101119435-e229101119435](https://doi.org/10.22291/101119435-e229101119435)>. Disponível em: 29 ago. 2021.

VILLARREAL-SOTO, S. A. *et al*. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 3, p. 580–588, 6 mar. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29508944/>>. Acesso em: 21 mai. 2024.

WATAWANA, M. I. *et al*. Health, Wellness, and Safety Aspects of the Consumption of Kombucha. **Journal of Chemistry**, v. 2015, p. 1-11, 2015. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1155/2015/591869>>. Acesso em: 02 fev. 2025.