

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
ÁREA DE CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS
E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
PROCESSOS E TECNOLOGIAS

PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS
APLICADOS NA FILTRAÇÃO DE KOMBUCHAS

JÚLIA DANELUZ

Caxias do Sul, 2022

JÚLIA DANELUZ

**PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS
APLICADOS NA FILTRAÇÃO DE KOMBUCHAS**

Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias da Universidade de Caxias do Sul, visando a obtenção de grau de mestre em Engenharia de Processos e Tecnologias, orientada por Camila Baldasso e coorientada por Venina dos Santos.

Caxias do Sul, 2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade de Caxias do Sul
Sistema de Bibliotecas UCS - Processamento Técnico

D179p Daneluz, Júlia

Processos de separação por membranas aplicados na filtração de kombuchas [recurso eletrônico] / Júlia Daneluz. – 2022.

Dados eletrônicos.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias, 2022.

Orientação: Camila Baldasso.

Coorientação: Venina dos Santos.

Modo de acesso: World Wide Web

Disponível em: <https://repositorio.ucs.br>

1. Bebidas. 2. Bebidas fermentadas. 3. Fermentação. 4. Ultrafiltração. I. Baldasso, Camila, orient. II. Santos, Venina dos, coorient. III. Título.

CDU 2. ed.: 663.123

Catalogação na fonte elaborada pela(o) bibliotecária(o)
Márcia Servi Gonçalves - CRB 10/1500

JÚLIA DANELUZ

**PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS
APLICADOS NA FILTRAÇÃO DE KOMBUCHAS**

Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias da Universidade de Caxias do Sul, visando a obtenção de grau de mestre em Engenharia de Processos e Tecnologias, orientada por Camila Baldasso e coorientada por Venina dos Santos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 8 DE ABRIL DE 2022.

Orientador:

Prof.^a Dr.^a Camila Baldasso / Universidade de Caxias do Sul

Coorientador:

Prof.^a Dr.^a Venina dos Santos / Universidade de Caxias do Sul

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Marli Camassola / Universidade de Caxias do Sul

Dr.^a Lílian Rossa Beltrami / Universidade de Caxias do Sul

Prof.^a Dr.^a Patrícia Poletto / Universidade Federal de Santa Catarina

Dedico este trabalho às pessoas mais importantes da minha vida. Ao meu pai Julio, minha mãe Marta e minha irmã Ana Carolina.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho e para o meu crescimento acadêmico, profissional e pessoal.

Agradeço à minha família por tudo que são e tudo que sempre fizeram por mim. Ao meu pai Julio, minha mãe Marta e minha irmã Ana Carolina, todo meu amor e gratidão.

Agradeço ao meu namorado Lucas por todo apoio e por sempre estar do meu lado, em todos os momentos.

Agradeço à minha orientadora Camila por abraçar o projeto comigo e por todo suporte. Por estar comigo desde a graduação e ser meu exemplo de professora.

Agradeço à minha coorientadora Venina por estar no projeto comigo me auxiliando e me ensinando muitas coisas.

Agradeço ao bolsista de iniciação científica Guilherme pela disponibilidade e colaboração durante o período do mestrado.

Agradeço à Jocelei, do Laboratório de Membranas e Materiais (LAMEM), pela colaboração teórica e prática nos PSM.

Agradeço à Tayse, aluna do curso de Engenharia Química, pelo auxílio nas atividades de laboratório.

Agradeço à Renatha e à Oba Kombuchas pelo fornecimento das kombuchas para utilização no estudo.

Agradeço aos professores que estiveram comigo durante a caminhada e que me transmitiram o conhecimento necessário para a realização do mestrado.

Agradeço aos meus amigos e colegas pela parceria ao longo dos anos.

Agradeço à Universidade de Caxias do Sul (UCS) pelo fornecimento da estrutura, laboratórios e materiais para execução do projeto.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

Agradeço aos laboratórios da vinícola Salton e da Engequímica pela realização das análises laboratoriais.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE QUADROS	11
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE EQUAÇÕES	13
LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS E SÍMBOLOS	14
RESUMO	17
ABSTRACT	18
1 INTRODUÇÃO	19
2 OBJETIVOS	21
2.1 OBJETIVO GERAL	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
3.1 KOMBUCHA	22
3.1.1 Matérias-primas para produção de kombucha	25
3.1.2 Processo de produção de kombuchas	26
3.1.2.1 Preparo do chá	26
3.1.2.2 Preparo do meio para a fermentação	26
3.1.2.3 Primeira fermentação	27
3.1.2.4 Segunda fermentação	29
3.1.2.5 Armazenamento	30
3.1.3 Composição e propriedades da kombucha	30
3.1.4 Parâmetros analíticos da kombucha	34
3.2 PROCESSOS DE SERAPAÇÃO POR MEMBRANAS	35
3.2.1 Classificação dos processos de separação por membranas quanto a porosidade da membrana	36
3.2.2 Condições de operação de processos de separação por membranas	37
3.2.3 Membranas	38
3.2.3.1 Propriedades das membranas	38
3.2.3.2 Materiais para fabricação de membranas	39
3.2.4 Limitações inerentes aos processos de separação por membranas	40
3.3 FILTRAÇÃO E PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS NA INDÚSTRIA DE BEBIDAS	42

4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
4.1	MATERIAIS	46
4.1.1	Kombuchas	46
4.1.2	Membranas	46
4.2	METODOLOGIA	48
4.2.1	Filtração a vácuo.....	48
4.2.2	Processos de separação por membranas aplicados à kombucha.....	49
4.2.3	Caracterização das membranas.....	50
4.2.3.1	Compactação	50
4.2.3.2	Permeabilidade hidráulica	51
4.2.3.3	Fluxo de kombucha permeada.....	52
4.2.4	Caracterização das amostras de kombucha	52
4.2.4.1	Turbidez.....	53
4.2.4.2	Sólidos suspensos e sólidos dissolvidos.....	53
4.2.4.3	Contagem de microrganismos	54
4.2.4.4	Ácidos orgânicos.....	54
4.2.4.5	pH.....	55
4.2.4.6	Acidez Volátil.....	56
4.2.4.7	Gradação alcoólica.....	56
4.2.4.8	Açúcares	57
4.2.4.9	Avaliação organoléptica.....	57
4.2.5	Análise estatística.....	58
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
5.1	CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS	59
5.1.1	Compactação	59
5.1.2	Permeabilidade hidráulica	61
5.1.3	Fluxo de kombucha permeada.....	63
5.2	CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE KOMBUCHA	65
5.2.1	Turbidez.....	67
5.2.2	Sólidos suspensos e sólidos dissolvidos.....	69
5.2.3	Contagem de microrganismos	71
5.2.4	Ácidos orgânicos.....	73
5.2.5	pH.....	75
5.2.6	Acidez volátil.....	77

5.2.7	Graduação alcoólica.....	79
5.2.8	Açúcares	81
5.2.9	Avaliação organoléptica	83
5.3	INSERÇÃO DA ETAPA DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS NA FILTRAÇÃO DE KOMBUCHAS	86
6	CONCLUSÃO.....	88
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	89
	REFERÊNCIAS	90
	APÊNDICE A – ANÁLISE ESTATÍSTICA DA KOMBUCHA K ₁	98
	APÊNDICE B – ANÁLISE ESTATÍSTICA DA KOMBUCHA K ₂	101

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros analíticos da legislação de kombucha (BRASIL, 2019).....	34
Tabela 2. Classificação das membranas quanto a porosidade (WEN-QIONG <i>et al.</i> , 2019)....	36
Tabela 3. Resultados dos parâmetros analisados das amostras de kombucha K ₁	66
Tabela 4. Resultados dos parâmetros analisados das amostras de kombucha K ₂	67

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Principais componentes da kombucha (KIM & ADHIKARI, 2020; WATAWANA <i>et al.</i> , 2015c).....	31
Quadro 2. Materiais utilizados para fabricação de membrana (WEN-QIONG <i>et al.</i> , 2019)...	39
Quadro 3. Propriedades da membrana de MF (PAM MEMBRANAS – manual do fabricante).	47
Quadro 4. Propriedades da membrana de UF (PAM MEMBRANAS – manual do fabricante).	47
Quadro 5. Parâmetros analíticos avaliados das kombuchas e suas respectivas técnicas analíticas.	53
Quadro 6. Sólidos analisados das amostras de kombucha.	54
Quadro 7. Concentrações de ácidos orgânicos avaliadas em kombuchas por diferentes autores.	75

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Gráfico do crescimento de pesquisas no <i>Google</i> relacionadas a kombucha no Brasil no período de 2016 a 2022 (<i>GOOGLE TRENDS</i> , 2022).	22
Figura 2. Gráfico do crescimento de pesquisas no <i>Google</i> relacionadas a kombucha no Rio Grande do Sul no período de 2016 a 2022 (<i>GOOGLE TRENDS</i> , 2022).	23
Figura 3. Gráfico das publicações em função do ano sobre kombucha no mundo (<i>SCOPUS</i> , 2021).	25
Figura 4. Processo de produção de kombucha.	26
Figura 5. Demonstração ilustrativa de um PSM (PENTAIR, 2020).	35
Figura 6. Demonstração ilustrativa da classificação das membranas quanto a porosidade.	37
Figura 7. Ilustração dos mecanismos de filtração em a) fluxo frontal e b) fluxo tangencial (FAVERO, 2014).	38
Figura 8. Vista externa (a) e interna (b) da membrana de MF utilizada no processo.	47
Figura 9. Vista externa (a) e interna (b) da membrana de UF utilizada no processo.	47
Figura 10. Fluxograma da metodologia realizada.	48
Figura 11. Sistema de filtração a vácuo (QUIMIS, 2021).	49
Figura 12. Demonstração dos PSM aplicados no processo.	50
Figura 13. Esquema ilustrativo dos PSM aplicados no processo.	50
Figura 14. Fluxo de permeado em função do tempo na compactação da membrana de MF. ...	59
Figura 15. Fluxo de permeado em função do tempo na compactação da membrana de UF. ...	60
Figura 16. Fluxo de água permeada em função da pressão para a membrana de MF.	61
Figura 17. Fluxo de água permeada em função da pressão para a membrana de UF.	61
Figura 18. Fluxo de kombucha permeada em função do tempo na MF.	63
Figura 19. Fluxo de kombucha permeada em função do tempo na UF.	63
Figura 20. Fotografia da amostra de kombucha K ₁ inicial (1), após filtração a vácuo (2), após MF (3) e após UF (4).	84
Figura 21. Fotografia da amostra de kombucha K ₂ inicial (1), após filtração a vácuo (2), após MF (3) e após UF (4).	84
Figura 22. Etapas do processo produtivo da kombucha com a inclusão do PSM.	87

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1. Reação química de hidrólise da sacarose em frutose e glicose.....	27
Equação 2. Reação química de produção de etanol e gás carbônico a partir de glicose e frutose.....	28
Equação 3. Reação química de oxidação do etanol em ácido acético.....	28
Equação 4. Cálculo do fluxo de permeado de membranas.....	51
Equação 5. Cálculo da permeabilidade hidráulica de membranas.....	52
Equação 6. Cálculo da concentração de microrganismos presentes.....	54
Equação 7. Cálculo de massa específica.....	57
Equação 8. Cálculo do coeficiente de variação entre os resultados.....	58

LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS E SÍMBOLOS

- AAB – Bactérias de Ácido Acético
- ABKOM – Associação Brasileira de Kombucha
- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
- AC – Acetato de Celulose
- a.C. – Antes de Cristo
- d. C. – Depois de Cristo
- FV – Filtração a Vácuo
- HPLC – *High Performance Liquid Chromatography* (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)
- ISO – *International Organization for Standardization*
- KBI – *Kombucha Brewers International*
- LAB – Bactérias de Ácido Lático
- LAMEM – Laboratório de Membranas e Materiais
- LAPAM – Laboratório de Análises e Pesquisas Ambientais
- L.Q. – Limite de quantificação
- LTDA – Limitada
- MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
- MF – Microfiltração
- NBR – Norma Brasileira
- NF – Nanofiltração
- NTU – Unidade Nefelométrica de Turbidez
- OI – Osmose Inversa
- OIV – *International Organization of Vine and Wine*
- PA – Poliamida
- PAN – Poliacrilonitrila
- PE – Polietileno
- PES – Polietersulfona
- pH – Potencial Hidrogeniônico
- PSF – Polissulfona
- PSM – Processo de Separação por Membranas
- PTFE – Politetrafluoroetileno
- PVDF – Fluoreto de Polivinilideno
- RID – *Refractive Index Detector* (Índice Refrativo Diferencial)

SCOBY – *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts*

SMWW – *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*

UCS – Universidade de Caxias do Sul

UF – Ultrafiltração

UFC – Unidade de Formação de Colônias

K₁ – Kombucha após a primeira fermentação

K₂ – Kombucha finalizada, engarrafada e saborizada

ΔP – Variação de pressão

ρ – Massa específica

A – Área

J_p – Fluxo de permeado

L_p – Permeabilidade hidráulica

M – Massa

t – Tempo

V – Volume

°C – Graus Celsius

% – Porcentagem (proporção calculada em relação ao número 100)

% m/v – Porcentagem massa/volume (gramas de soluto em 100 mL de solução)

% v/v – Porcentagem volume/volume (volume de soluto em 100 mL de solução)

μm – Micrometro

atm – Atmosfera padrão (unidade de pressão)

bar – Unidade de pressão

cm – Centímetro

C_v – Coeficiente de variação

g – Grama

h – Hora

kg – Quilograma

L – Litro

m – Metro

m² – Metro quadrado

mEq – Miliequivalente

mg – Miligrama

min – Minuto

mL – Mililitro

mmol – Milimol

mol – Unidade de quantidade de matéria

n° – Número

Al₂O₃ – Alumina

Br⁻ – Íon brometo

CO₂ – Dióxido de carbono

CH₃CHO – Etanal

CH₃COOH – Ácido acético

C₂H₅OH – Etanol

C₆H₁₀O₅ – Celulose

C₆H₁₂O₆ – Glicose/frutose

C₁₂H₂₂O₁₁ – Sacarose

Cl⁻ – Íon cloreto

Cu – Cobre

F⁻ – Íon fluoreto

Fe – Ferro

H⁺ – Íon hidrogênio

HCO₃⁻ – Íon bicarbonato

H₂O – Água

H₂SO₄ – Ácido sulfúrico

I⁻ – Íon iodeto

Mn – Manganês

Ni – Níquel

NO₃⁻ – Íon nitrato

SiO₂ – Dióxido de silício

TiO₂ – Dióxido de titânio

Zn – Zinco

ZnO – Óxido de zinco

ZrO₂ – Dióxido de zircônia

RESUMO

A alimentação saudável é uma tendência que vem crescendo entre a população. Como uma bebida saudável e funcional, a kombucha apresenta grande potencial devido as suas variadas propriedades benéficas. A kombucha é preparada a partir da fermentação de açúcares adicionados em infusões de chás, originando uma bebida carbonatada, leve e refrescante. Os resíduos da fermentação e do processo produtivo da kombucha podem não ser visualmente agradáveis para alguns consumidores. Além disso, os microrganismos residuais da fermentação continuam em constante atividade e geram instabilidade microbiológica na bebida. Uma alternativa para minimizar estas características é a utilização de processos de separação por membranas. Membranas são barreiras que agem como filtros, retendo partículas e moléculas maiores que seu tamanho de poro e permitindo a permeação de partículas e moléculas menores. Dentro deste contexto, este estudo teve como objetivo avaliar processos de separação por membranas de microfiltração (MF) e ultrafiltração (UF) em kombuchas, a fim de reduzir a turbidez, a concentração de sólidos suspensos e a quantidade de microrganismos residuais da fermentação. Para atingir o objetivo proposto, as membranas foram compactadas e caracterizadas quanto à permeabilidade hidráulica e ao fluxo de kombucha permeada. A permeabilidade hidráulica obtida para a membrana de MF foi de $308,15 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^2\cdot\text{bar}^{-1}$ e para a membrana de UF foi de $12,05 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^2\cdot\text{bar}^{-1}$. Para ambas as membranas, o fluxo de kombucha permeada reduziu com o tempo para cada pressão avaliada individualmente, devido aos fenômenos de incrustação. Foram utilizados dois lotes diferentes de kombucha para o estudo: um lote de kombucha após o primeiro processo fermentativo (K_1) e um lote de kombucha finalizada e engarrafada (K_2). As amostras iniciais das kombuchas e as amostras após os processos de filtração foram submetidas a análise dos parâmetros de turbidez, sólidos suspensos e dissolvidos, contagem microbiana, ácidos orgânicos, pH, acidez volátil, grau alcoólico, açúcares e avaliação organoléptica. A MF reduziu a turbidez da K_1 em 96,41 % e da K_2 em 95,93 %, e a UF reduziu 99,97 % da K_1 e 81,74 % da K_2 . Os sólidos suspensos foram reduzidos em 66,40 % com a MF e 93,06 % com a UF para a K_1 , e para a K_2 houve redução de 60,75 % com a MF e 17,72 % com a UF. Os microrganismos apresentaram redução de 58,33 % com a MF e 15,63 % com a UF na K_2 . As kombuchas após MF e UF apresentaram-se visualmente mais clarificadas. Os demais parâmetros avaliados não sofreram alterações significativas com a realização dos PSM. Ambas as filtrações removeram parte dos sólidos suspensos e dos microrganismos sem prejudicar a qualidade e os benefícios da kombucha, comprovando que as técnicas de filtração por membranas foram eficientes para a finalidade proposta.

Palavras-chave: bebidas funcionais, fermentação, microfiltração, ultrafiltração

ABSTRACT

Healthy eating is a growing trend among the population. As a healthy and functional drink, kombucha has great potential due to its many beneficial properties. Kombucha is prepared from the fermentation of add sugars in teas infusions, resulting in a carbonated, light and refreshing drink. Residues from the fermentation and production process of kombucha may not be visually pleasing to some consumers. In addition, residual microorganisms from fermentation continue to be in constant activity and result in microbiological instability in kombucha. An alternative to minimize these characteristics is the use of membranes separation processes. Membranes are barriers that act as filters, retaining particles and molecules larger than their pore size and allowing smaller particles and molecules to permeate. In this context, this study aimed to evaluate separation processes by membranes of microfiltration (MF) and ultrafiltration (UF) in kombuchas, in order to reduce turbidity, suspended solids concentration and the amount of residual microorganisms from fermentation. To achieve the proposed objective, the membranes were compacted and characterized in terms of hydraulic permeability and kombucha permeate flux. The hydraulic permeability of the MF membrane was $308.15 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{bar}^{-1}$ and that of the UF membrane was $12.05 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{bar}^{-1}$. For both membranes, the permeate kombucha flux reduced with time for each pressure evaluated individually, due to fouling. Two different batches of kombucha were used for the study: a batch of kombucha after the first fermentation process (K_1) and a batch of finished and bottled kombucha (K_2). The initials samples of kombuchas and the samples after the filtration processes were submitted to analysis of the parameters of turbidity, suspended and dissolved solids, microbial count, organic acids, pH, volatile acidity, alcohol content, sugars and organoleptic evaluation. The MF reduced the turbidity of K_1 in 96.41 % and the turbidity of K_2 in 95.93 %, and the UF reduced 99.97 % in K_1 and 81.74 % in K_2 . Suspended solids were reduced by 66.40 % with MF and 93.06 % with UF for K_1 , and for K_2 there was a reduction of 60.75 % with MF and 17.72 % with UF. Microorganisms showed reduction of 58.33 % with MF and 15.63 % with UF in K_2 . The kombuchas after MF and UF were visually clearer. The other parameters evaluated did not showed significant changes with the performance of the PSM. Both filtrations removed part of the suspended solids and microorganisms without harming the quality and benefits of kombucha, proving that the techniques were efficient for the proposed purpose.

Keywords: functional beverages, fermentation, microfiltration, ultrafiltration

1 INTRODUÇÃO

Uma vida saudável, aliando saúde física, bem estar mental e estética, é um estado de equilíbrio muito buscado por grande parte da população. A tendência de consumo de produtos minimamente processados, sem aditivos, com alto valor nutricional e com benefícios para a saúde motiva as pessoas a buscarem benefícios e funcionalidades em alimentos e bebidas. Os alimentos funcionais são aqueles que possuem o diferencial de oferecer benefícios a saúde física e mental.

Entre as bebidas funcionais, existe a kombucha. Essa bebida é preparada a partir da fermentação de açúcares adicionados em infusões de chá e apresenta inúmeros benefícios ao corpo humano (ISMAIEL *et al.*, 2016). A kombucha é classificada como uma bebida probiótica por conter microrganismos vivos em sua composição, e vem sendo cada ano mais consumida no mundo, de acordo com a *Kombucha Brewers International* (KBI, 2022), e no Brasil, segundo a Associação Brasileira de Kombucha (ABKOM, 2022). Há alguns anos não era tão popular, mas seu consumo e produção vêm apresentando uma tendência de crescimento devido a mudanças na alimentação da sociedade. Seu potencial de pesquisa e inovação engloba uma grande gama de processos.

Após a fermentação, é comum um excesso de microrganismos ficar retido na bebida. O mesmo ocorre com outros sólidos suspensos residuais. Isso resulta em uma bebida com aspecto turvo, o que para alguns consumidores não é muito agradável visualmente. Além disso, uma grande quantidade de microrganismos acarreta em uma maior instabilidade microbiológica, o que reduz o prazo de validade do produto armazenado. A maioria das kombuchas comercializadas atualmente, no entanto, não utiliza tecnologias para remoção dessas partículas.

Como alternativa para desenvolver um produto mais estável e para que os consumidores apreciem a kombucha sem se preocupar com a turbidez aparente e os sólidos presentes, surge o potencial de aplicação de técnicas de separação. Uma bebida mais límpida é, muitas vezes, mais atrativa e estimula a compra e o consumo da população. A kombucha com menor quantidade de microrganismos presentes é vantajosa em relação à kombucha original por reduzir ou desacelerar o processo fermentativo, tornando a bebida microbiologicamente segura e permitindo que seja armazenada por mais tempo refrigerada e, principalmente, em temperatura ambiente. É importante que no final do processo a kombucha ainda contenha microrganismos em sua composição, para manter as propriedades probióticas originais que fornecem benefícios ao consumidor.

Uma técnica de separação aplicável é o processo de separação por membranas, um método já empregado em diversos ramos da indústria. Já é explorada a utilização de membranas de microfiltração e ultrafiltração em indústrias de bebidas para filtração, clarificação ou remoção de alguns compostos presentes. Nessa técnica, a membrana funciona como uma espécie de filtro que remove componentes de interesse de uma mistura. É importante que o processo não remova os compostos benéficos da bebida, preservando seus atributos positivos. A utilização de membranas é uma opção que se destaca pela simplicidade, rapidez e baixo custo.

Pela popularidade da kombucha ser recente, existem ainda poucos estudos envolvendo esse tema. Toda e qualquer pesquisa é promissora por se tratar de um assunto pouco discutido academicamente. É importante conhecer seu processo de fabricação, bem como os inúmeros benefícios que seu consumo propicia. Por isso, o estudo de métodos de otimização do processo e do produto é relevante para o meio acadêmico e para o meio industrial. Além disso, a aplicação de processos de separação por membranas na filtração de kombuchas é um assunto que até hoje foi pouco discutido e sua aplicação industrial não é conhecida.

A união entre uma tecnologia tradicional já empregada na indústria de bebidas e uma bebida que está em ascensão no mercado é um tema potencialmente inovador. Diante deste contexto, este trabalho visa avaliar processos de separação por membranas para filtração de kombuchas como alternativa para reduzir a concentração de sólidos, a turbidez e a quantidade de microrganismos residuais da fermentação, de forma que a qualidade e as propriedades físico-químicas não sejam prejudicadas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar métodos de separação por membranas na filtração de kombuchas para reduzir a concentração de sólidos, a turbidez e a quantidade de microrganismos residuais da fermentação.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Realizar a compactação de membranas de microfiltração e ultrafiltração e caracterizá-las quanto a permeabilidade hidráulica e ao fluxo de kombucha permeada.

Avaliar a eficiência dos processos de microfiltração e ultrafiltração na redução dos sólidos suspensos, dos microrganismos residuais e da turbidez e definir qual dos dois é a melhor alternativa.

Verificar se os demais parâmetros analíticos avaliados (sólidos dissolvidos, ácidos orgânicos, pH, acidez volátil, graduação alcoólica e açúcares) sofreram modificações com os processos de microfiltração e ultrafiltração.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 KOMBUCHA

A kombucha é uma bebida fermentada originária do Oriente consumida há milhares de anos (AMARASINGHE *et al.*, 2018; ANSARI *et al.*, 2017; PURE & PURE, 2016). A origem da kombucha é incerta, mas acredita-se que surgiu na China em 221 a.C., como o chá da imortalidade. Mais tarde, em 414 d.C., um médico chamado Kombu levou a bebida para o Japão como um medicamento para curar problemas digestivos do imperador Inkyo. O chá do Kombu pode então ter dado origem ao nome kombucha. No início do século XX, com a expansão das rotas comerciais, a kombucha chegou ao ocidente (BRUSCHI *et al.*, 2018).

Kombucha é definida pela legislação como “a bebida fermentada obtida através da respiração aeróbia e fermentação anaeróbia do mosto obtido pela infusão ou extrato de *Camellia sinensis* e açúcares por cultura simbiótica de bactérias e leveduras microbiologicamente ativas (SCOBY)” (BRASIL, 2019).

A kombucha é uma bebida efervescente e refrescante e possui sabor ácido, carbonatado e doce. Deve ser armazenada sob refrigeração e servida gelada (MARTINI, 2018; BRUSCHI *et al.*, 2018; VITAS *et al.*, 2018). De acordo com Dimidi e colaboradores (2019), há uma grande variedade de kombuchas disponível comercialmente.

De acordo com o *Google Trends*, a ferramenta do *Google* que avalia as tendências de pesquisa dos usuários, a busca pelo termo “kombucha” no Brasil vem aumentando desde 2016, como mostra a Figura 1. A região Sul do Brasil é a que se mostra mais interessada pela bebida, sendo Santa Catarina o estado do Brasil com maior número de pesquisas, seguida pelo Rio Grande do Sul e, em terceiro lugar, Paraná. A Figura 2 ilustra o crescimento das pesquisas relacionadas a kombucha no Rio Grande do Sul (*GOOGLE TRENDS*, 2022).

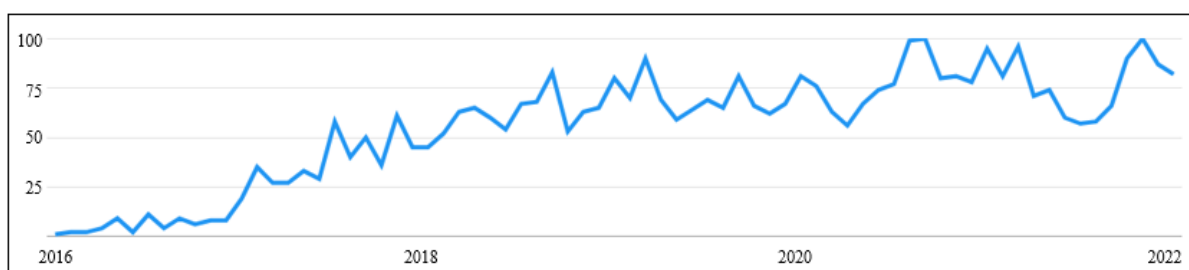


Figura 1. Gráfico do crescimento de pesquisas no *Google* relacionadas a kombucha no Brasil no período de 2016 a 2022 (*GOOGLE TRENDS*, 2022).

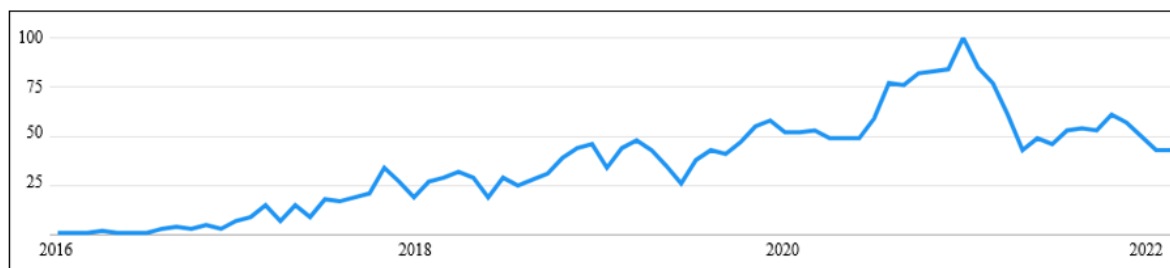


Figura 2. Gráfico do crescimento de pesquisas no *Google* relacionadas a kombucha no Rio Grande do Sul no período de 2016 a 2022 (*GOOGLE TRENDS*, 2022).

A kombucha vem aumentando sua popularidade devido a suas propriedades funcionais (BHATTACHARYA *et al.*, 2016). A categoria de produtos funcionais inclui alimentos naturais, inteiros, processados, fortificados, enriquecidos ou aprimorados que fornecem benefícios para a saúde física e mental além da nutrição básica. Os benefícios são causados pela presença de componentes biologicamente e fisiologicamente ativos (KIM & ADHIKARI, 2020; WATAWANA *et al.*, 2015c).

O mercado de bebidas funcionais é um segmento de rápido crescimento no mercado, e os produtos probióticos e simbióticos ocupam uma parcela importante desse setor (KIM & ADHIKARI, 2020). A legislação define probiótico como “microrganismo vivo que, quando administrado em quantidades adequadas, confere um benefício à saúde do indivíduo” (BRASIL, 2018). Algumas referências definem quantidades mínimas de microrganismos para serem consumidos em doses diárias, mas os valores variam conforme a literatura. Saad (2016) aponta uma concentração mínima de 10^7 UFC·mL⁻¹, e Riquette (2013) e Jardim (2012) alegam um mínimo de 10^8 UFC·mL⁻¹. Jardim ainda menciona que essa é a quantidade ideal de microrganismos para um produto probiótico pronto para o consumo, apesar de quantidades inferiores serem aceitas desde que comprovada a propriedade probiótica dos microrganismos. Um produto, para ser considerado probiótico, não pode passar por processos que inviabilizem ou removam totalmente os microrganismos presentes. A maioria dos produtos probióticos são de origem láctea. Bebidas probióticas à base de plantas, como a kombucha, são consideradas ótimas alternativas também para o público vegano (SANTOS, 2016).

Segundo pesquisa realizada por Bruschi e colaboradores (2018), as exigências do consumidor em relação à escolha de alimentos e bebidas são movidas por basicamente 5 fatores: sensorialidade e prazer; saudabilidade e bem-estar; conveniência e praticidade; confiabilidade e qualidade; e sustentabilidade e ética. No quesito de saúde e bem-estar, os produtos funcionais vêm se destacando no mercado.

A kombucha é o produto de maior crescimento no mercado de bebidas funcionais, além de ser uma das bebidas fermentadas de baixo teor alcoólico mais populares do mundo (KAPP & SUMNER, 2019). Devido aos seus inúmeros benefícios, a kombucha também é conhecida popularmente como bebida viva, bebida milenar, elixir da vida e líquido energizante e revigorante (BRASIL, 2019).

A primeira kombucha a ser comercializada foi em 1990 nos Estados Unidos. Desde então, a indústria do ramo está em constante expansão. A partir da década de 2010, empresas multinacionais de bebidas como PepsiCo e Coca-Cola começaram a investir no mercado de kombucha, adquirindo empresas fabricantes da bebida para fazerem parte de seu portfólio (SOTO *et al.*, 2018). Com o crescimento do segmento, em 2014 foi criada a KBI (*Kombucha Brewers International*), uma organização sem fins lucrativos estabelecida para auxiliar os produtores de kombucha com processos, regulamentos e legislações (KIM & ADHIKARI, 2020). No Brasil, o mercado ainda é limitado. A ABKOM (Associação Brasileira de Kombucha), fundada em 2018, conta com 25 produtores associados. De acordo com a associação, que objetiva padronizar os processos produtivos da bebida, o mercado de kombucha já movimentou 18,9 milhões de reais em faturamento, com 1,6 milhões de litros produzidos e comercializados em 5553 pontos de venda (ABKOM, 2022).

Uma pesquisa realizada por Sousa e colaboradores (2020) com 262 pessoas constatou que a maior parte dos consumidores de kombucha são do sexo feminino (82,10 %), com faixa etária entre 21 e 30 anos (40,5 %), renda mensal entre 1 e 2 salários mínimos (31,3 %) e com pós-graduação como nível de escolaridade (33,6 %). 71,3 % dos entrevistados afirmaram saber o que é uma bebida probiótica, 52,67 % tinham conhecimento dos benefícios da kombucha e 50,76 % conheciam o processo de fabricação da bebida.

Estudos sobre kombucha estão em constante ascensão. De acordo com a base de dados da *Scopus* (2021), um banco de dados de publicações acadêmicas, as pesquisas científicas relacionadas a kombucha apresentam crescimento desde o ano de 2000. A Figura 3 mostra o avanço do número de publicações envolvendo kombucha no âmbito mundial.

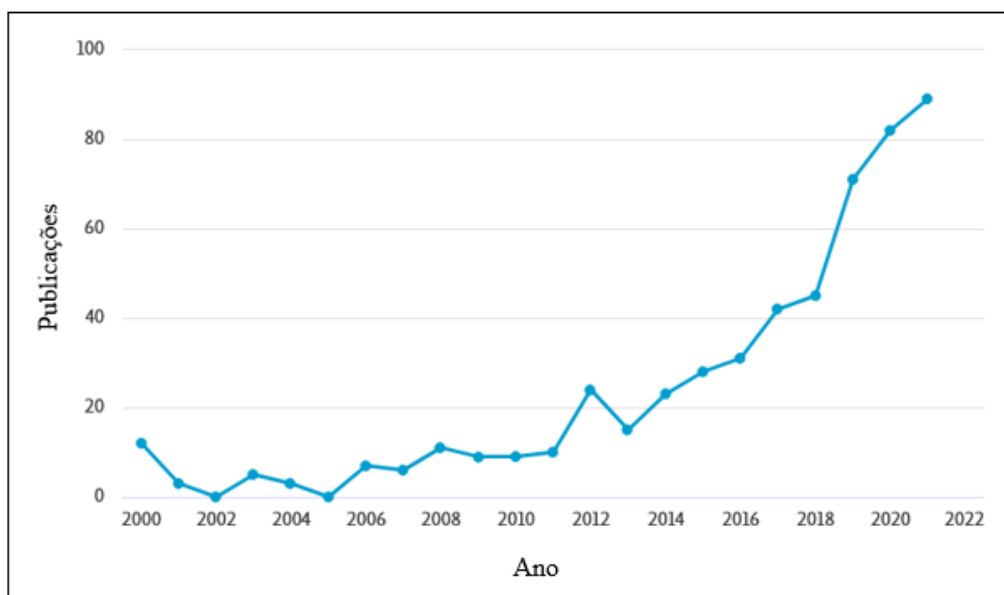


Figura 3. Gráfico das publicações em função do ano sobre kombucha no mundo (SCOPUS, 2021).

3.1.1 Matérias-primas para produção de kombucha

Os ingredientes obrigatórios para a produção de kombucha são água potável, infusão de chá preto (*Camellia sinensis*), açúcares e uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras (SCOBY) (BRASIL, 2019). SCOBY é a abreviação de *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts* (ISMAIEL *et al.*, 2016) e contém variados gêneros e espécies de microrganismos acomodados em uma matriz de celulose (PURE & PURE, 2016). A composição microbiana do SCOBY pode variar de acordo com fatores como a localização geográfica e o clima (WATAWANA *et al.*, 2015b).

Como ingredientes opcionais, a legislação permite a utilização de espécies vegetais, frutas e outras especiarias, açúcares de origem vegetal, gás carbônico industrial, fibras, vitaminas, sais minerais e outros nutrientes, bem como alguns aromatizantes, conservantes, estabilizantes e corantes (BRASIL, 2019).

Apesar de ser tradicionalmente preparada com chá preto ou chá verde, a kombucha pode ser produzida com qualquer outro tipo de chá, além de ervas, plantas medicinais, frutas, vegetais, flores e algas (EBERSOLE *et al.*, 2017; KIM & ADHIKARI, 2020; SOTO *et al.*, 2018). Dependendo da localidade e da vegetação, diferentes tipos de matérias-primas podem estar disponíveis (WATAWANA *et al.*, 2016).

3.1.2 Processo de produção de kombuchas

A Figura 4 mostra as principais etapas envolvidas no processo de produção de kombucha, detalhadas em seguida.

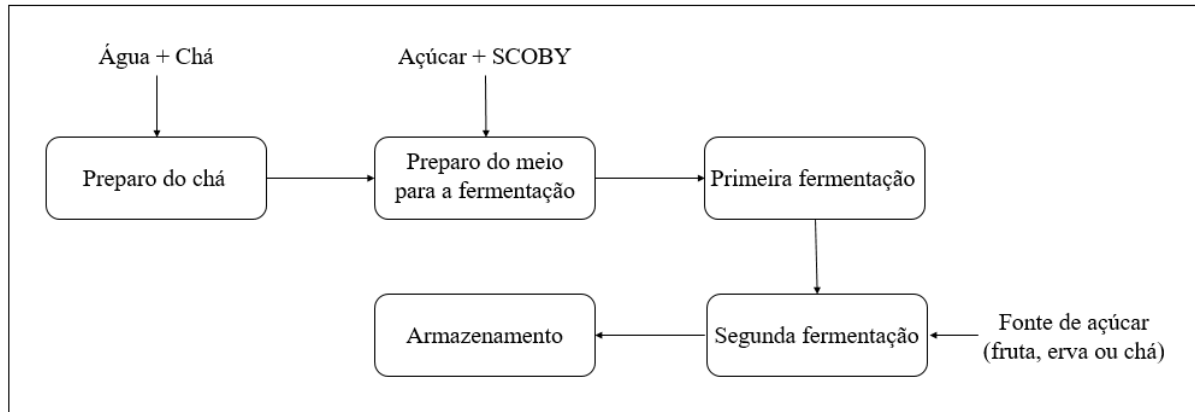


Figura 4. Processo de produção de kombucha.

3.1.2.1 Preparo do chá

Primeiramente, uma infusão é preparada adicionando-se chá em água fervente. O tempo de infusão ideal para o chá é variável, podendo variar de 2 a 10 minutos (BRUSCHI *et al.*, 2018). Após o preparo desse substrato, o líquido é resfriado à temperatura ambiente. As folhas do chá contidas na mistura, se houverem, podem ser filtradas em uma peneira e descartadas (ANSARI *et al.*, 2017). O chá no meio de cultivo fornece as fontes de nitrogênio necessárias para as bactérias (WATAWANA *et al.*, 2015c), além de ser a principal fonte de polifenóis (VITAS *et al.*, 2018).

3.1.2.2 Preparo do meio para a fermentação

A próxima etapa consiste em adicionar uma quantidade de açúcar adequada para a fermentação, normalmente sacarose. As proporções de insumos utilizados na preparação da kombucha variam de acordo com a literatura, podendo ser utilizado cerca de 0,5 % (m/v) de chá (SANTOS, 2016) e uma quantidade de açúcar de 5 a 20 % (m/v) do volume da infusão

(ANSARI *et al.*, 2017; GAGGIA *et al.*, 2018; LEAL *et al.*, 2018; VAZQUEZ-CABRAL *et al.*, 2017).

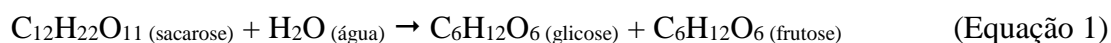
Em seguida é acrescentado o SCOBY, composto pelos microrganismos (BRUSCHI *et al.*, 2018). Esses microrganismos interagem por meio do metabolismo cooperativo, contribuindo para as características da bebida final (VILLARREAL-SOTO *et al.*, 2020).

Para estimular o processo de fermentação, pode ser adicionado o chamado líquido *starter*, que é uma parcela do chá antigo fermentado utilizado como acidificante, em proporções de 10 a 20 % (VILLARREAL-SOTO *et al.*, 2020).

3.1.2.3 Primeira fermentação

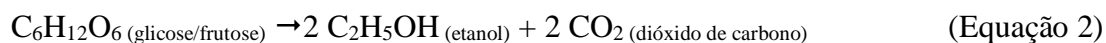
A mistura de ingredientes preparada é armazenada em local protegido da luz (ANSARI *et al.*, 2017). A faixa de temperatura ideal de fermentação e de desenvolvimento dos microrganismos presentes é de 22 a 28 °C (NEFFE-SKOCIŃSKA *et al.*, 2017). O período de fermentação pode ser de 7 a 14 dias (KAPP & SUMNER, 2019; WATAWANA *et al.*, 2015b). A fermentação prolongada não é recomendada devido ao acúmulo de ácidos orgânicos, que podem atingir níveis prejudiciais para o consumo direto (SOTO *et al.*, 2018) e podem modificar o sabor da bebida de frutado e refrescante para excessivamente ácido e avinagrado (ISMAIEL *et al.*, 2016). É importante definir e controlar as condições e parâmetros da fermentação para garantir a obtenção de um produto microbiologicamente estável e com boa qualidade sensorial e nutritiva (NEFFE-SKOCIŃSKA *et al.*, 2017). Estudos comprovam que com o aumento da temperatura e da concentração dos insumos, a taxa de fermentação e a concentração dos produtos também aumentam. Por isso, o tempo ideal de fermentação depende dessas características do processo (DAMIN *et al.*, 2021).

Durante a fermentação, em condições aeróbicas, a sacarose, que atua como fonte de carbono, é hidrolisada em glicose e frutose por meio da enzima invertase, derivada das leveduras, conforme Equação 1 (MARTINI, 2018; NEFFE-SKOCIŃSKA *et al.*, 2017; WATAWANA *et al.*, 2015c).



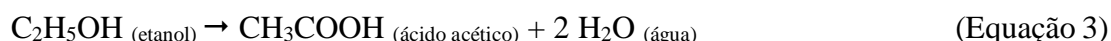
Em condições anaeróbicas, as leveduras produzem etanol a partir da glicose e da frutose, gerando também dióxido de carbono, conforme Equação 2 (MARTINI, 2018; NEFFE-

SKOCIŃSKA *et al.*, 2017; WATAWANA *et al.*, 2015c). A presença do gás carbônico é observada pelas bolhas de gás presentes na bebida (ISMAIEL *et al.*, 2016).



As principais leveduras encontradas na kombucha são aeróbias facultativas e, segundo estudos, são do gênero *Saccharomyces*. Mas outros gêneros podem também ser encontrados, como *Zygosaccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Brettanomyces*, *Candida*, *Pichia*, *Torulopsis*, *Kloeckera* e *Issatchenkia* (LEONARSKI *et al.*, 2021; WATAWANA *et al.*, 2015c).

As bactérias dominantes no meio de cultura são as bactérias de ácido acético (AAB), sendo os principais gêneros *Acetobacter* e *Gluconobacter*. As AAB são resistentes a ambientes de baixo pH e realizam a acidificação da bebida, metabolizando o etanol produzido pelas leveduras em ácido acético (NEFFE-SKOCIŃSKA *et al.*, 2017). Alguns estudos identificaram ainda a presença de bactérias de ácido lático (LAB) como *Lactobacillus* e *Lactococcus* (KAPP & SUMNER, 2019) e de bactérias dos gêneros *Corynebacteriaceae* (WATAWANA *et al.*, 2015c), *Enterobacter* (NEFFE-SKOCIŃSKA *et al.*, 2017), *Rubrobacter*, *Komagataeibacter* (LEONARSKI *et al.*, 2021) e *Bacterium* (AMARASINGHE *et al.*, 2018). A oxidação do etanol em ácido acético é realizada conforme Equação 3. A reação consiste na conversão do álcool em ácido carboxílico e água (RASPOR & GORANOVIC, 2008).



O ácido acético é o ácido dominante produzido durante a fermentação, mas outros ácidos também são metabolizados (PURE & PURE, 2016). O ácido glucônico e o ácido glucurônico, por exemplo, são produzidos por meio da oxidação de certa parte da glicose (TALEBI *et al.*, 2017).

As bactérias acéticas presentes produzem como metabólito secundário uma película celulósica sobre a superfície da bebida, na interface líquido-ar, que se destaca em relação a fase líquida. Essa película é conhecida como fungo do chá, possui uma certa quantidade de microrganismos e é utilizada como o próprio SCOBY em produções posteriores. Ou seja, à medida que novas películas vão sendo formadas, elas são retiradas e separadas para utilização na próxima fermentação (ANSARI *et al.*, 2017; WATAWANA *et al.*, 2015b).

O pH é um parâmetro importante, pois os valores de pH diminuem durante a fermentação. Isso ocorre devido a produção de ácidos (PURE & PURE, 2016). A medição do

pH pode ser utilizada para controlar o curso da fermentação e determinar o final do processo. Apesar de não haver um ponto final claro para a fermentação, um valor de pH de cerca de 4,2 é um nível recomendado para encerrar o processo (LEAL *et al.*, 2018). Além disso, a concentração de íons hidrogênio é um fator que pode ativar ou inibir o desenvolvimento de microrganismos. As bactérias presentes na kombucha se desenvolvem em pHs na faixa de 3,0 a 6,3, enquanto para as leveduras o pH ótimo é em torno de 4,5 a 6,5 (NEFFE-SKOCIŃSKA *et al.*, 2017; SHAHBAZI *et al.*, 2018). É importante monitorar o pH da bebida para que não fique abaixo de 2, evitando problemas gastrointestinais nos consumidores e garantindo uma bebida sensorialmente agradável (SUHRE, 2020). Outras várias propriedades bioquímicas sofrem mudanças durante a fermentação, juntamente com mudanças nas comunidades microbianas (CHAKRAVORTY *et al.*, 2016). A fermentação pode ser controlada também em termos de sua acidez volátil, verificando o parâmetro para obtenção de uma bebida agradavelmente ácida e com um nível de acidez volátil aceitável para o consumo (WATAWANA *et al.*, 2016).

À medida que a fermentação ocorre, a cor do líquido vai ficando mais clara em relação a cor original, devido as alterações resultantes da ação de enzimas microbianas sobre os polifenóis. Ao final do processo, as leveduras se encontram depositadas no fundo dos tanques ou recipientes de fermentação (VITAS *et al.*, 2018). Para melhoria da qualidade do produto, a legislação permite a utilização de tecnologias como filtração, pasteurização e centrifugação (BRASIL, 2019).

O mecanismo e a cinética das reações químicas envolvidas na produção de kombucha ainda são pouco relatados na literatura. O mesmo ocorre com os parâmetros do processo produtivo, que variam de acordo com as matérias-primas utilizadas e suas concentrações. Por ser uma bebida produzida em sua maioria de forma artesanal, não há muitos estudos e definições sobre padronização dos métodos e processos de produção em escala industrial. As limitações surgem justamente pelo processo não ser padronizado e controlado, o que gera produtos com características finais, composição microbiana e composição físico-química diferentes entre si (DAMIN *et al.*, 2021).

3.1.2.4 Segunda fermentação

A segunda etapa do processo é realizada para saborizar e aumentar a carbonatação da kombucha. Para isso, é adicionada uma nova fonte de açúcar à bebida. Podem ser utilizados diferentes tipos de frutas, ervas ou chás, que são adicionados na kombucha e a mistura é mantida

em temperatura ambiente por alguns dias, preferencialmente já dentro das garrafas. Essa parte do processo é uma segunda fermentação, pois nessa etapa as bactérias consomem o açúcar presente, produzindo gás carbônico (ANSARI *et al.*, 2017). Os microrganismos do SCOBY podem estar presentes na kombucha finalizada, sendo proibida a sua adição após o processo fermentativo (BRASIL, 2019).

3.1.2.5 Armazenamento

Ao ser encerrada a carbonatação, a kombucha deve ser refrigerada. Se o produto não for armazenado e refrigerado adequadamente após o fim do processo, a fermentação continuará ocorrendo normalmente, o que gera uma grande quantidade de dióxido de carbono que aumenta a pressão da garrafa e pode gerar o rompimento da mesma (KIM & ADHIKARI, 2020). Uma temperatura de cerca de 4 °C é ideal para reduzir a atividade de alguns microrganismos. A refrigeração não encerra a fermentação, apenas desacelera o processo. Os microrganismos presentes continuam realizando a fermentação, principalmente em temperatura ambiente, tornando a kombucha uma bebida instável microbiologicamente (DAMIN *et al.*, 2021). De acordo com pesquisas de Alencar e colaboradores (2015), o prazo de validade de kombuchas é de 3 a 6 meses sob refrigeração, e cerca de 1 semana sob temperatura ambiente.

Para evitar a superprodução de dióxido de carbono e de etanol e garantir a segurança alimentar, uma alternativa é realizar a pasteurização do produto acabado. Pode-se também adicionar cerca de 0,1 % de benzoato de sódio e 0,1 % e sorbato de potássio como conservantes (WATAWANA *et al.*, 2015b).

3.1.3 Composição e propriedades da kombucha

A fermentação é um método antigo utilizado muitas vezes para preservação de alimentos, garantindo a segurança alimentar. É um processo de transformação de matéria realizada por microrganismos. Muitas mudanças bioquímicas ocorrem durante a fermentação, o que modifica significativamente a composição do produto, podendo aprimorar suas propriedades sensoriais e medicinais (ANSARI *et al.*, 2017).

A kombucha é uma combinação complexa de diversos componentes e subprodutos (KAPP & SUMNER, 2019). A composição química e microbiana e a concentração de cada

metabólito produzido na kombucha são variáveis, sendo dependentes do SCOBY utilizado, da concentração inicial dos ingredientes, tipo de chá utilizado, condições da fermentação (tempo, temperatura, ambiente e rotas metabólicas) (PURE & PURE, 2016) e, por fim, da matriz variável das frutas e especiarias adicionadas na segunda fermentação para saborização (SUHRE, 2020). Essas características influenciam diretamente no sabor final do produto, no seu valor nutricional e nas suas propriedades (GAGGIA *et al.*, 2018; LEAL *et al.*, 2018).

O Quadro 1 apresenta os principais componentes que podem estar presentes na kombucha.

Ácidos orgânicos	Ácido acético
	Ácido glucônico
	Ácido glucurônico
	Ácido lático
	Ácido butírico
	Ácido propiônico
	Ácido málico
	Ácido cítrico
	Ácido tartárico
	Ácido pirúvico
	Ácido carbônico
Vitaminas	Vitamina B ₁ (tiamina)
	Vitamina B ₂ (riboflavina)
	Vitamina B ₃ (niacina)
	Vitamina B ₆ (piridoxina)
	Vitamina B ₁₂ (cobalamina)
	Vitamina C (ácido ascórbico)
Compostos gerais	Etanol
	Açúcares (sacarose, glicose e frutose)
	Polifenóis
	Dióxido de carbono
	Fibras
	Aminoácidos
	Enzimas
	Microrganismos
Minerais	Cobre (Cu)
	Ferro (Fe)
	Manganês (Mn)
	Níquel (Ni)
	Zinco (Zn)
Ânions	Fluoreto (F ⁻)
	Cloreto (Cl ⁻)
	Nitrato (NO ₃ ⁻)
	Sulfato (SO ₄ ⁻)

Quadro 1. Principais componentes da kombucha (KIM & ADHIKARI, 2020; WATAWANA *et al.*, 2015c).

Apesar de não haver estudos *in vivo* em humanos sobre as propriedades e benefícios da kombucha, apenas *in vitro* e *in vivo* em animais (KAPP & SUMNER, 2019), sabe-se que seus efeitos benéficos são atribuídos a variedade de componentes ativos produzidos durante a fermentação (ISMAIEL *et al.*, 2016). Os ácidos orgânicos possuem atividade antimicrobiana e evitam a contaminação da bebida por bactérias e fungos patogênicos, além de possuírem ação antioxidante e desintoxicante. O principal ácido presente na kombucha é o ácido acético. A prevenção contra patógenos é eficaz contra bactérias dos gêneros *Escherichia*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas* e *Salmonella*, e contra fungos como *Aspergillus* e *Penicillium* (LEAL *et al.*, 2018; SHAHBAZI *et al.*, 2018).

Os polifenóis, originários do chá, favorecem as propriedades antioxidantes, terapêuticas e desintoxicantes, além de contribuírem na ação antimicrobiana (BHATTACHARYA *et al.*, 2016; LEAL *et al.*, 2018; PURE & PURE, 2016; WATAWANA *et al.*, 2015c). As principais classes de polifenóis envolvidos são flavonoides, ácidos fenólicos, catequinas e epicatequinas (VÁZQUEZ- CABRAL *et al.*, 2017). Os flavonoides, especificamente, são importantes componentes anti-envelhecimento (WATAWANA *et al.*, 2016). Outra importante função dos polifenóis é a potencial proteção contra o desenvolvimento de alguns tipos de câncer, inibindo enzimas e interrompendo processos que resultam no crescimento de células cancerígenas (LEAL *et al.*, 2018).

A vitamina C possui forte atividade antioxidante. A vitamina B₃ fornece benefícios para a pele e atua na estimulação do colágeno dentro das células, contribuindo na ação anti-envelhecimento (VITAS *et al.*, 2018). Os minerais auxiliam no metabolismo e no equilíbrio do pH do corpo e da pressão sanguínea. O etanol, presente em baixas concentrações, auxilia na prevenção de doenças cardiovasculares, além de possuir atividade antibacteriana contra patógenos (LEAL *et al.*, 2018).

De forma geral, a kombucha ainda fortalece o sistema imunológico do corpo e previne alguns distúrbios. Entre os efeitos mais benéficos pode-se destacar a regulação da atividade fisiológica do sistema gastrointestinal e das glândulas. O consumo da bebida facilita a digestão e a absorção de nutrientes e apresenta propriedades antibióticas, harmoniza o metabolismo, diminui o colesterol sanguíneo, reduzindo os riscos de doenças cardiovasculares, e purifica o sangue (ANSARI *et al.*, 2017). Além disso, oferece efeitos terapêuticos e sensação de bem-estar (WATAWANA *et al.*, 2015c). Estudos abordam ainda a capacidade da kombucha de melhorar a saúde do cabelo, pele e unhas, reduzir a insônia, aliviar dores de cabeça e reduzir o estresse (AMARASINGHE *et al.*, 2018).

No que se refere à interação com a microbiota intestinal, a kombucha é classificada como uma bebida simbiótica, que é uma combinação balanceada de probióticos com prebióticos. Probióticos são microrganismos benéficos que auxiliam no equilíbrio da flora intestinal, melhoram a digestão, estimulam o sistema imunológico e agem contra o crescimento excessivo de bactérias nocivas. Prebióticos são ingredientes nutricionais não digeríveis, como carboidratos complexos e fibras, que são resistentes às enzimas intestinais e ajudam seletivamente no crescimento e atividade dos microrganismos benéficos presentes no corpo humano (WATAWANA *et al.*, 2015a). Os principais microrganismos probióticos existentes na kombucha são as bactérias do ácido láctico. Além disso, podem estar presentes na kombucha os componentes pós-bióticos, que são produtos do metabolismo dos microrganismos que podem reproduzir as propriedades e benefícios dos probióticos. Os principais compostos caracterizados como pós-bióticos são alguns ácidos orgânicos e seus derivados, como o butirato e o propionato. É importante ressaltar que o caráter probiótico da kombucha é generalizado, sendo dependente dos microrganismos presentes na bebida. Algumas kombuchas podem não possuir em sua composição final a comunidade microbiana responsável pelas propriedades probióticas (WATAWANA *et al.*, 2015b).

Os metabólitos secundários produzidos durante a fermentação também possuem sua devida importância. A celulose bacteriana, composta por fibrilas de celulose pura, se trata de um biomaterial que possui diversas potenciais aplicações. É uma alternativa para substituição da celulose vegetal, pois é um material cristalino de alta pureza, composto por um polímero linear de alto peso molecular. É um polímero com elevada cristalinidade, pureza, maleabilidade, termoestabilidade e resistência mecânica. O baixo pH da kombucha é vantajoso por eliminar a necessidade de esterilização da celulose bacteriana. Entre as principais aplicações deste biomaterial, destaca-se a fabricação de curativos para a área da medicina, a produção de embalagens, a utilização nas indústrias alimentícias e o emprego na área da biotecnologia e da nanotecnologia. Estima-se que a produção de celulose bacteriana a partir da kombucha promove uma economia de cerca de 30 % em relação à produção em meio sintético. Segundo estudos, a produção de celulose bacteriana inicia a partir do 3º dia de fermentação e aumenta gradualmente até o 12º dia, seguido de um aumento acentuado até o 15º dia e podendo atingir uma concentração de $4,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. As características da celulose bacteriana podem diferir de acordo com a natureza da microflora da kombucha (LEONARSKI *et al.*, 2021; SUHRE, 2020; VITAS *et al.*, 2018).

3.1.4 Parâmetros analíticos da kombucha

Em 2019, o Brasil se tornou um dos primeiros países do mundo a implementar uma legislação específica para kombucha. A legislação brasileira prevê alguns parâmetros para a garantia da qualidade de kombuchas, conforme Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros analíticos da legislação de kombucha (BRASIL, 2019).

Parâmetro	Mínimo	Máximo
pH	2,5	4,2
Gradação alcoólica (%) (v/v) para kombucha não-alcoólica	-	0,5
Gradação alcoólica (%) (v/v) para kombucha alcoólica	0,6	8,0
Acidez volátil (mEq·L ⁻¹)	30	130
Pressão (atm a 20 °C) na kombucha adicionada de CO ₂	1,1	3,9

Além disso, a legislação não aprova a presença de edulcorantes sintéticos. Quanto aos metais contaminantes, há limites de 0,05 mg·kg⁻¹ para arsênio e chumbo e 0,02 mg·kg⁻¹ para cádmio. Na kombucha finalizada, a lei proíbe a presença de resíduos de agrotóxicos em concentrações acima dos limites para cada fruta ou vegetal utilizado como insumo. É proibido também a adição de ácidos sintéticos ou provenientes de outras fontes que não seja o próprio processo fermentativo. Por fim, a legislação proíbe a “presença de qualquer substância em quantidade que possa se tornar nociva para a saúde humana” ou que possa ser utilizada para adulteração da bebida (BRASIL, 2019).

A kombucha normalmente é não alcoólica, apresentando teores de etanol inferiores a 0,5 % (v/v). Porém, existem algumas kombuchas que são comercializadas como bebidas alcoólicas, por conterem mais de 0,5 % (v/v) de etanol em sua composição (EBERSOLE *et al.*, 2017). De acordo com a legislação, quando a bebida apresentar teor de álcool que a classifica como alcoólica é obrigatório que essa informação conste visível no rótulo da garrafa comercializada (BRASIL, 2019).

A análise da composição química é importante para o controle da qualidade e da autenticidade do produto, indicando possíveis adulterações. Além disso, pode fornecer ao fabricante informações sobre eventuais alterações ou problemas no processo (PURE & PURE, 2016).

3.2 PROCESSOS DE SERAÇÃO POR MEMBRANAS

Processo de separação por membranas (PSM) é uma operação unitária de separação que pode ser utilizada como alternativa a uma sequência de processos físicos para redução de tempo e de custos. O PSM tem como objetivo separar misturas, purificar soluções e fracionar ou concentrar componentes de uma solução. Nesse processo, a membrana age como uma espécie de filtro, formando uma barreira permeável ou semipermeável que restringe parcialmente ou totalmente a passagem de alguns componentes presentes na corrente de alimentação. O fluido escoar através da membrana movido por uma força motriz, a diferença de pressão. Nesse processo, conforme ilustrado na Figura 5, a solução é dividida em permeado e concentrado (COSTER *et al.*, 2018).

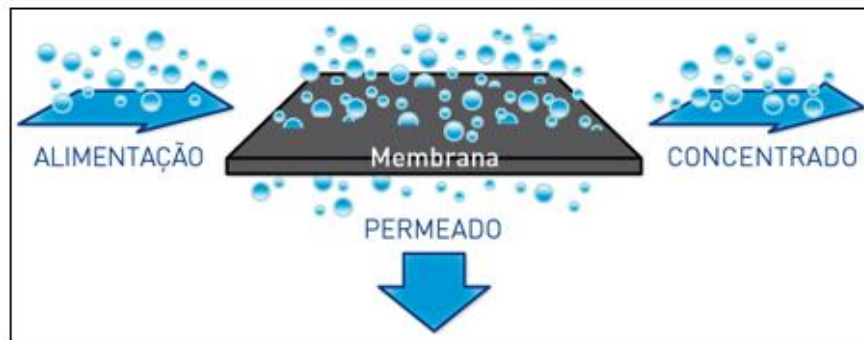


Figura 5. Demonstração ilustrativa de um PSM (PENTAIR, 2020).

A corrente de alimentação é composta pela solução ou mistura contendo todos os componentes. A corrente de permeado é a parte da alimentação que permeia pela membrana, e nessa corrente há poucos ou nenhum componente maior do que o tamanho dos poros da membrana. A corrente de concentrado é a parte que fica retida na membrana, e é composta em sua maioria por partículas maiores do que o poro da membrana, sendo incapazes de permear (FAVERO, 2014). A permeação total de moléculas ocorre desde que tenham uma configuração e orientação favoráveis ao se aproximar dos poros. A separação dos componentes da alimentação pode ocorrer por diversos mecanismos, como exclusão por tamanho, diferença de coeficiente de difusão, diferença de carga elétrica, diferença de solubilidade e diferença de reatividade (COSTER *et al.*, 2018).

Os PSM são operados em temperatura ambiente, apenas com a aplicação de uma pressão, sem mudança de fase. A principal vantagem na utilização de membranas para processos de separação é a simplicidade de operação (ZHAO *et al.*, 2020). É uma tecnologia limpa com pouca geração de resíduos que, em comparação a metodologias convencionais de separação de

misturas como centrifugação, filtração comum, destilação, liquefação, evaporação, clarificação, adsorção e extração, possui o diferencial de ser ambientalmente mais sustentável e economicamente mais viável, devido à menor quantidade de energia consumida (XIN *et al.*, 2020).

Os PSM vêm apresentando resultados promissores na inovação tecnológica em relação a sua eficiência e flexibilidade de aplicação. Suas principais aplicações estão nas áreas de purificação de águas, tratamento de água e efluentes, na medicina e nas indústrias alimentícia, de bebidas, farmacêutica, têxtil, metalúrgica, química e biotecnológica (COSTER *et al.*, 2018).

3.2.1 Classificação dos processos de separação por membranas quanto a porosidade da membrana

Os PSM podem ser classificados em relação ao tamanho dos poros da membrana e as partículas que neles ficam retidas, conforme descrito na Tabela 2 e ilustrado na Figura 6. A Tabela 2 mostra também a faixa de pressão que pode ser aplicada em cada processo. O sistema opera com base na diferença de massa molecular, em que componentes maiores que o tamanho dos poros da membrana são retidos e componentes menores que o tamanho dos poros atravessam a membrana (WEN-QIONG *et al.*, 2019). A redução do tamanho dos poros diminui a permeabilidade e promove um aumento da seletividade da membrana (SOUTO *et al.*, 2005).

Tabela 2. Classificação das membranas quanto a porosidade (WEN-QIONG *et al.*, 2019).

Membrana	Diâmetro dos Poros	Compostos Retidos	Pressão Aplicada
Microfiltração (MF)	0,1 a 10 μm (10^{-7} m a 10^{-5} m)	Microrganismos e partículas em suspensão e coloidais	0,5 a 3 bar
Ultrafiltração (UF)	1 a 100 nm (10^{-9} m a 10^{-7} m)	Proteínas, vírus e macromoléculas dissolvidas de alta massa molar.	1 a 7 bar
Nanofiltração (NF)	0,5 a 1 nm ($5 \cdot 10^{-10}$ m a 10^{-9} m)	Moléculas dissolvidas de média massa molar e íons divalentes e multivalentes.	5 a 25 bar
Osiose Inversa (OI)	< 0,5 nm ($5 \cdot 10^{-10}$ m)	Moléculas dissolvidas de baixa massa molar, sais e íons monovalentes.	15 a 80 bar

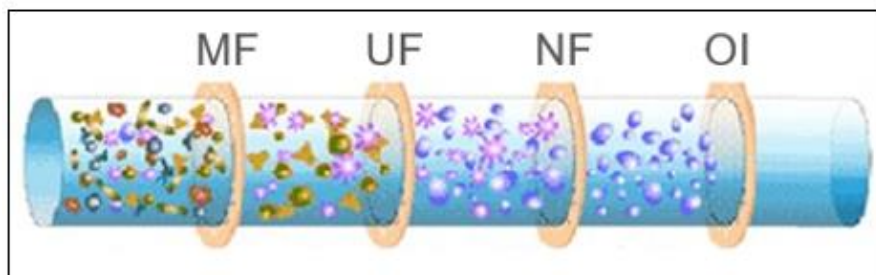


Figura 6. Demonstração ilustrativa da classificação das membranas quanto a porosidade.

3.2.2 Condições de operação de processos de separação por membranas

As membranas podem ser operadas em estágio único ou múltiplos estágios, com ou sem recirculação. Normalmente processos em múltiplos estágios promovem uma economia de água em comparação a processos de um único estágio (WEN-QIONG *et al.*, 2019). Para auxiliar no processo, geralmente uma bomba é instalada na alimentação do sistema (RALL *et al.*, 2020).

Algumas condições operacionais que podem variar no processo são a pressão, a velocidade e a vazão de alimentação, e isso influencia no fluxo de permeação. Em um sistema contendo água como fonte de alimentação, o aumento desses parâmetros acarreta um aumento de fluxo de permeado (TRUBYANOV *et al.*, 2020; WEN-QIONG *et al.*, 2019).

A operação dos PSM pode ser realizada em fluxo frontal ou em fluxo tangencial. No sistema de fluxo frontal, também conhecido como filtração convencional, a alimentação é introduzida perpendicularmente em relação a membrana. Nesse modelo de filtração, há a tendência de deposição de material na superfície da membrana, podendo ocorrer redução de fluxo ao longo do processo. No fluxo tangencial, também chamado de fluxo cruzado, a alimentação é introduzida paralelamente em relação à membrana. Esse sistema minimiza o acúmulo de partículas na membrana e promove um fluxo mais estável (FAVERO, 2014). Na Figura 7 estão ilustrados os mecanismos dos dois modelos de filtração.

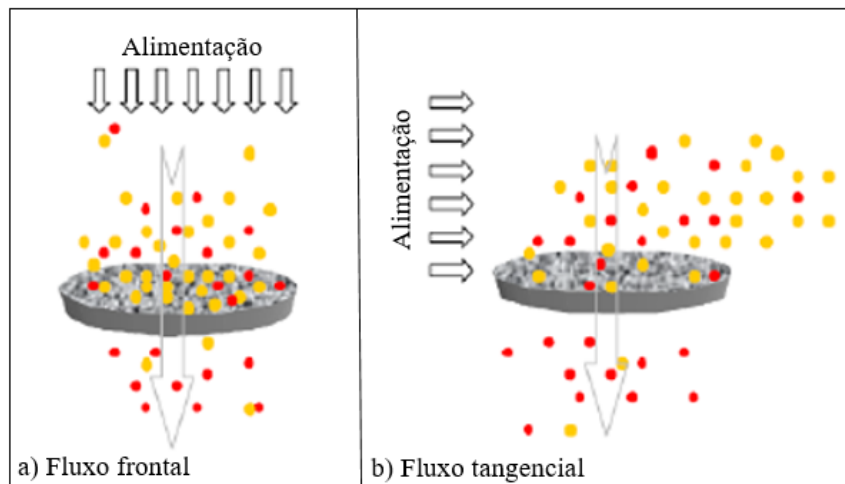


Figura 7. Ilustração dos mecanismos de filtração em a) fluxo frontal e b) fluxo tangencial (FAVERO, 2014).

Nas aplicações industriais, o principal objetivo é manter uma alta taxa de fluxo de permeado aliado a garantia da qualidade constante do produto (HASSAN *et al.*, 2013). Todo processo de separação por membranas visa uma impureza mínima do permeado aliada a uma redução de custos de operação. Na prática, as plantas de separação por membrana são geralmente projetadas usando uma membrana conhecida e otimizando as condições operacionais do processo para essa membrana (RALL *et al.*, 2020).

3.2.3 Membranas

As membranas podem ser fabricadas por diferentes técnicas e materiais, e isso influencia nas suas características e propriedades. É importante que a membrana selecionada para o processo de interesse tenha propriedades adequadas, garanta o objetivo do processo e permita uma alta taxa de retenção e um alto fluxo de permeado (RALL *et al.*, 2020).

3.2.3.1 Propriedades das membranas

Algumas das características importantes de uma membrana que podem afetar no seu desempenho são a composição química da superfície, morfologia da superfície e da seção transversal, distribuição de elementos na superfície e na seção transversal, espessura, área superficial, rugosidade da superfície, porosidade, hidrofobicidade, seletividade, permeabilidade e interação da membrana com os componentes da solução de alimentação, como o coeficiente

de difusão. Desconsiderando interferentes, uma maior área filtrante, menor espessura, menor rugosidade, maior porosidade e maior hidroflicidade possibilitam maiores fluxos de permeado (ZHAO *et al.*, 2020; ZOU *et al.*, 2020).

As membranas podem ser de geometria plana, como espiral e placa e quadro, e de geometria cilíndrica, como tubular, fibra oca e capilar. As membranas de fibra oca são muito utilizadas industrialmente por possuírem elevada área superficial, o que é vantajoso e favorece o processo (THURMER, 2010).

Geralmente o desempenho de uma membrana é caracterizado pela permeabilidade e pela seletividade. A permeabilidade se refere ao fluxo de permeado e a seletividade está relacionada com a capacidade de retenção de determinados componentes (THURMER, 2010).

3.2.3.2 Materiais para fabricação de membranas

Membranas para filtração podem ser fabricadas a partir de diversos materiais, de acordo com as características desejadas e as propriedades da solução a ser filtrada. Há membranas poliméricas, cerâmicas, metálicas, organominerais ou compósitas (CHEN *et al.*, 2019; WEN-QIONG *et al.*, 2019). Alguns materiais utilizados para fabricação de membranas estão descritos no Quadro 2.

Materiais de Membranas	
Orgânicos (poliméricos)	Polissulfona (PSF)
	Polietileno (PE)
	Polietersulfona (PES)
	Poliamida (PA)
	Fluoreto de polivinilideno (PVDF)
	Poliacrilonitrila (PAN)
	Politetrafluoroetileno (PTFE)
	Celulose (C ₆ H ₁₀ O ₅)
	Acetato de celulose (AC)
Inorgânicos (cerâmicos ou metálicos)	Alumina (Al ₂ O ₃)
	Dióxido de silício (SiO ₂)
	Dióxido de zircônia (ZrO ₂)
	Óxido de zinco (ZnO)
	Dióxido de titânio (TiO ₂)
Organominerais	ZrO ₂ /PSF

Quadro 2. Materiais utilizados para fabricação de membrana (WEN-QIONG *et al.*, 2019).

Membranas poliméricas possuem baixo custo de produção, são as mais comercializadas e conseqüentemente as mais utilizadas nos PSM. Elas possuem boa seletividade e estabilidade a longo prazo, além de serem estáveis em uma ampla faixa de pH. Entretanto, a dificuldade de limpeza e suas propriedades térmicas e mecânicas são fatores limitantes para a maioria das membranas fabricadas com esse tipo de material. Além disso, geralmente os materiais poliméricos são hidrofóbicos, o que é uma característica que afeta negativamente no desempenho de uma membrana (KUMAR & ISMAIL, 2015; TRUBYANOV *et al.*, 2020).

As membranas cerâmicas geralmente são hidrofílicas e possuem elevada resistência mecânica, resistência térmica, resistência química a agentes agressivos, resistência a elevadas pressões e velocidades e longa vida operacional. Apesar de não apresentarem propriedades anti-incrustantes satisfatórias (ZOU *et al.*, 2020), as membranas cerâmicas são passíveis de reutilização a longo prazo e possuem facilidade de limpeza, podendo ser limpas utilizando diversos agentes químicos. A obstrução dos poros de membranas cerâmicas é mais lenta do que de membranas poliméricas e, na maioria dos casos, acarreta em incrustações reversíveis passíveis de limpeza (WEN-QIONG *et al.*, 2019).

3.2.4 Limitações inerentes aos processos de separação por membranas

Com o tempo de uso a membrana pode ficar mais resistente à filtração, diminuindo o fluxo de permeação e reduzindo a produtividade. Isso ocorre devido ao acúmulo de partículas sólidas dos componentes concentrados sobre a superfície da membrana ou dentro dos poros, causando entupimento. Essa incrustação é chamada de *fouling*. Além da redução de fluxo, o *fouling* também ocasiona uma menor eficiência, maior demanda de energia, maior custo operacional, maior necessidade de manutenção e menor vida útil da membrana (WEN-QIONG *et al.*, 2019; ZOU *et al.*, 2020).

Existem três principais mecanismos de incrustação. A adsorção parcial de matéria rejeitada ocorre dentro dos poros e acarreta a obstrução dos mesmos. A obstrução de poros por partículas de tamanho semelhante ao tamanho do poro causa o bloqueio dos poros. O acúmulo e a deposição de partículas na superfície da membrana formam uma camada chamada de bolo ou torta, que impede a passagem de outros componentes (KUMAR & ISMAIL, 2015).

As incrustações podem ser reversíveis ou irreversíveis. A incrustação reversível é considerada não adesiva, pois há apenas acúmulo de partículas, e pode ser removida por

métodos hidrodinâmicos. A incrustação irreversível é causada por fenômenos físicos, interações hidrofóbicas, interações macromoleculares extracelulares entre as partículas e a membrana, ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals (KUMAR & ISMAIL, 2015).

A resistência à incrustação de uma membrana depende de suas propriedades, como tipo de material, porosidade, tamanho, forma, comprimento, espessura, hidrofobicidade e rugosidade. Além disso, depende das condições operacionais, como pressão, velocidade, fluxo e agitação. Fatores como composição da solução de alimentação e seu pH e temperatura também influenciam na resistência à incrustação da membrana (WEN-QIONG *et al.*, 2019).

Partículas de maior dimensão tendem a formar aglomerados com maior espaçamento, o que facilita sua remoção. Já as partículas menores formam aglomerados com arranjos mais densos e compactados, resultando em um maior bloqueio do fluxo (LEMMA *et al.*, 2015). Uma membrana com a superfície lisa previne incrustações, pois as partículas incrustantes tendem a se fixar mais nas superfícies ásperas e rugosas (KUMAR & ISMAIL, 2015). Quanto maior a porosidade da membrana, maior o fluxo de permeação e quanto menor a porosidade maior a tendência ao bloqueio dos poros (WEN-QIONG *et al.*, 2019).

Uma maior hidrofobicidade da membrana aumenta a adesão de substâncias na sua superfície, devido as interações que ocorrem entre as partículas e a superfície da membrana (JANG *et al.*, 2015). Quanto mais hidrofílica for a membrana, maior a probabilidade de formar uma camada de hidratação que protege e previne o contato entre contaminantes e a superfície da membrana, aumentando sua capacidade anti-incrustante (ZHAO *et al.*, 2020; ZOU *et al.*, 2020).

Existem métodos para alterar a superfície da membrana para aumentar sua hidrofobicidade, aumentar a repulsão entre a membrana e as partículas da alimentação e melhorar outras propriedades de interesse como resistência a certos componentes, biocompatibilidade e carga. Isso reduz a tendência de formar incrustações e melhora a seletividade da membrana e a pureza do permeado (WEN-QIONG *et al.*, 2019). Algumas alternativas são revestimento de superfície e modificação de superfície (JANG *et al.*, 2015). Para realizar essas modificações, podem ser utilizados polímeros hidrofílicos, nanopartículas inorgânicas e polímeros anfifílicos (ZHAO *et al.*, 2020).

Outro fenômeno que acarreta em uma redução do fluxo de permeado é a polarização por concentração, que ocorre quando componentes retidos da solução são acumulados próximos da superfície da membrana. A concentração de soluto se torna maior nas proximidades da interface membrana-solução, promovendo uma resistência ao fluxo. A polarização por

concentração pode ser minimizada por meio do aumento da velocidade de escoamento da alimentação (GHIGGI, 2014).

Para prevenir incrustações, uma alternativa é aplicar um pré-tratamento na solução de alimentação. Um método adequado de pré-tratamento antes de um PSM pode melhorar a eficiência do sistema, reduzir a frequência de limpeza da membrana e prolongar a sua vida útil. Algumas alternativas de pré-tratamento são centrifugação, coagulação, floculação, filtração a vácuo, filtração por placas, adsorção, peneiramento e tratamentos químicos. A aplicação de métodos de pré-tratamento melhora a eficiência da membrana e reduz a necessidade de limpeza frequente (KUMAR & ISMAIL, 2015).

A lavagem intermediária do equipamento entre processos é necessária para reduzir os efeitos de incrustações. Existem métodos específicos de limpeza para remoção de incrustações e restauração de fluxo: os métodos físicos, químicos, físico-químicos e bioquímicos. A limpeza física é a mais utilizada e depende de forças mecânicas para remover sujeiras da superfície da membrana. Pode ser feita através de limpeza hidráulica, lavagem a ar e permeação de retorno de CO₂, em que a pressão exercida pelo fluxo é suficiente para remover os aglomerados de partículas e abrir os poros (LEMMA *et al.*, 2015; WEN-QIONG *et al.*, 2019). A limpeza química é geralmente aplicada quando a incrustação não pode ser removida por limpeza física. Ela é feita através da adição de produtos que reagem quimicamente com os contaminantes de forma a removê-los. Cada tipo de contaminante requer tipos diferentes de agentes químicos. A limpeza físico-química é uma combinação dos dois primeiros métodos, melhorando efetivamente a eficiência da limpeza. A limpeza bioquímica é realizada através de produtos que contêm agentes bioativos, como microrganismos e enzimas, para remover os componentes incrustados (KUMAR & ISMAIL, 2015).

3.3 FILTRAÇÃO E PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS NA INDÚSTRIA DE BEBIDAS

A filtração é uma operação unitária muito utilizada na indústria alimentícia para remoção das partículas sólidas suspensas presentes nas bebidas. Alguns métodos que podem ser utilizados são centrifugação, criofiltração, filtração com algodão, filtração por placas ou processo de separação por membranas (줄리안 오베이도 바스퀘즈 크리스찬 범이슬, 2018).

A utilização de filtrações como meio de clarificação de bebidas passou a ser utilizada devido a demanda dos consumidores por produtos límpidos e sem deposição de sólidos. A filtração também garante uma estabilidade microbiológica após a embalagem do produto, pelo fato de remover alguns microrganismos. A filtração por membranas oferece a possibilidade de clarificação e estabilização microbiana em uma única etapa (ROSÁRIA *et al.*, 2022).

Processos de separação por membranas são utilizados em muitos ramos da indústria de bebidas para purificação e concentração de líquidos sem a influência da temperatura e com gasto energético reduzido. O tratamento por membranas preserva a maioria das propriedades dos produtos alimentícios, possibilitando a obtenção de alimentos de alto valor nutricional (OMELCHENKO *et al.*, 2021). Além disso, o processo físico de separação elimina a necessidade de aditivos exógenos, preservando as características iniciais das bebidas (SUI *et al.*, 2022). A aplicação de membranas em filtração de bebidas promove uma alta capacidade de separação e clarificação (MEJIA & YÁÑEZ-FERNANDEZ, 2021). No entanto, apesar dos avanços feitos para melhorar os aspectos tecnológicos dos processos de filtração, o processo, se não bem definido e controlado, ainda pode afetar a variabilidade da composição e pode gerar impactos no perfil sensorial das bebidas (ROSÁRIA *et al.*, 2022).

A microfiltração é muito utilizada para esterilização de bebidas, clarificação de vinhos e cervejas e concentração de alguns componentes. A ultrafiltração é aplicada para fracionamento e concentração de proteínas, clarificação de bebidas, filtração de sucos e recuperação de óleos. A nanofiltração pode ser utilizada para purificação de enzimas e concentração de lactose e açúcares. A osmose inversa pode ser aplicada na concentração de sucos de frutas e na desalcoolização de bebidas (KUMAR & ISMAIL, 2015; THURMER, 2010).

Filtrações por membrana têm sido amplamente utilizadas para a remoção completa ou parcial de microrganismos em bebidas para atingir elevados padrões de qualidade e segurança alimentar, aumentando o prazo de validade do produto. Podem ser removidas bactérias patogênicas específicas e bactérias responsáveis por alterações no sabor e aparência. Desse modo, a concentração microbiana geral é reduzida, aumentando assim a estabilidade do produto. Em bebidas fermentadas, células de levedura podem ser removidas para sua recuperação e posterior reutilização. A microfiltração com membranas poliméricas e cerâmicas é um método já utilizado para a filtração de bebidas, e apresenta grande eficácia (HASSAN *et al.*, 2013; LEMMA *et al.*, 2015).

PSM vêm sendo muito empregados com o objetivo de clarificar cervejas e vinhos. Membranas de MF e UF são alternativas mais rápidas e economicamente viáveis em

substituição às técnicas tradicionais de clarificação. Os processos convencionais englobam a adição de agentes clarificantes que agem sobre as partículas presentes responsáveis pela turbidez e pela instabilidade, seguido da aplicação de técnicas como filtração, centrifugação ou transfegas, demandando um tempo elevado (CRISTOFOLI, 2016).

Membranas de MF são muito utilizadas para filtração de vinhos. Pesquisas detectaram que membranas com poros maiores que 0,4 μm não alteram as características sensoriais da bebida, enquanto membranas com poros menores que 0,25 μm podem influenciá-las em suas características organolépticas devido à retenção não desejável de alguns compostos (CRISTOFOLI, 2016).

Diversos estudos já aplicaram a tecnologia de separação por membranas em diferentes etapas na produção de cervejas, como pasteurização, desalcoolização e clarificação. Membranas de microfiltração de náilon já foram utilizadas como alternativa para redução da turbidez de cervejas, se mostrando um processo eficiente sem afetar os aspectos organolépticos e nutricionais da bebida. Membranas de osmose inversa foram utilizadas para desalcoolização de cervejas. O processo reduziu, além do álcool, a turbidez, o amargor e a estabilidade da espuma, e não afetaram a qualidade da cerveja final (LEMMA *et al.*, 2015).

A ultrafiltração é um processo muito empregado em indústrias de laticínios para isolar proteínas e outros componentes do soro de leite (JANG *et al.*, 2015). Alguns modelos de membranas são de geometria espiral, tubular e fibra oca. Já foi relatada a utilização de membranas poliméricas, cerâmicas e organominerais, sendo que a maior eficiência foi das membranas organominerais, com resultados de permeabilidade muito maior do que as demais (WEN-QIONG *et al.*, 2019).

A utilização de membranas de MF e UF na área de bebidas, apesar de vantajosa, é desafiadora devido à matriz complexa dos líquidos. Na clarificação de vinhos, os polifenóis e os polissacarídeos são os principais componentes responsáveis por incrustações. Na filtração de cervejas, a sacarose, a enzima amilase, as leveduras, os ácidos e as catequinas podem acarretar na formação de *fouling*. Na filtração de soro de leite, as proteínas e os minerais tendem a se depositar na superfície e nos poros da membrana, causando a redução de fluxo (KUMAR & ISMAIL, 2015).

Um processo já utilizado na produção de kombuchas é a centrifugação seguida de filtração. O líquido é centrifugado em alta velocidade de forma que as substâncias indesejáveis, como cascas de frutas e outros sólidos, sejam precipitadas. Após, é aplicada uma filtração para remoção dessas substâncias. A centrifugação permite a remoção dos sólidos de maiores

tamanhos. A vantagem dos PSM em relação à centrifugação é a redução da carga microbiana para aumentar a estabilidade da bebida (VITAS *et al.*, 2018).

Há estudos que realizaram filtração a vácuo em kombuchas no intuito de remover os componentes em suspensão, porém industrialmente não há evidências da aplicação dessa técnica (SANTOS, 2016).

A aplicação de processos de separação por membranas tem muito potencial em filtração de kombuchas. É importante eleger a membrana adequada quanto ao material de fabricação e quanto a porosidade, levando em consideração os componentes a serem removidos. Os parâmetros do processo também devem ser bem definidos para otimizar o método e promover alta permeabilidade seletividade (DANELUZ *et al.*, 2021).

Aplicações de PSM para otimizar a kombucha em relação às características visuais e microbiológicas ainda são desconhecidas. A técnica de filtração por membranas, por suas características positivas já descritas, é um método com grande potencial para esta aplicabilidade.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Kombuchas

As amostras utilizadas foram kombuchas da marca comercial Oba Kombuchas, uma microempresa localizada no município de Flores da Cunha, no Rio Grande do Sul. Foram utilizadas amostras de kombucha de duas etapas diferentes do processo.

A primeira batelada de amostras consistiu na kombucha após a primeira fermentação, sem passar pelo processo de saborização, coletada no meio do processo e armazenada em bombonas. A fermentação desse lote de kombucha iniciou no dia 13 de julho de 2021. A coleta, a realização do processo e as análises das amostras foram realizadas no período de 2 a 13 de agosto de 2021. Essa kombucha foi denominada como K_1 .

A segunda batelada consistiu na kombucha finalizada, engarrafada e saborizada com frutas vermelhas. A fermentação desse lote iniciou no dia 12 de outubro de 2021, e as kombuchas foram engarrafadas para a segunda fermentação no dia 30 de outubro de 2021. A coleta, a realização do processo e as análises das amostras foram realizadas no período de 6 a 13 de dezembro de 2021. Essa kombucha foi denominada como K_2 .

4.1.2 Membranas

Para realização dos testes, foram utilizadas uma membrana de microfiltração e uma membrana de ultrafiltração disponibilizadas pelo Laboratório de Membranas e Materiais (LAMEM) da Universidade de Caxias do Sul (UCS). Ambas as membranas eram membranas comerciais da marca Pam Membranas Seletivas LTDA. As membranas não eram novas e já haviam sido utilizadas anteriormente em outros processos.

O Quadro 3 e o Quadro 4 mostram as principais características das membranas de MF e UF, respectivamente, de acordo com as informações fornecidas pelo fabricante. A Figura 8 e a Figura 9 ilustram a vista externa e interna das membranas de MF e UF, respectivamente.

Membrana de MF	
Porosidade	10^{-7} m a 10^{-5} m
Material	Polietersulfona (PES)
Geometria	Fibra oca (cilíndrica)
Área de filtração	0,027 m ²
Taxa de rejeição	99,99 %
Permeabilidade hidráulica	127,20 L·h ⁻¹ ·m ² ·bar ⁻¹
Pressão máxima de operação	1 bar

Quadro 3. Propriedades da membrana de MF (PAM MEMBRANAS – manual do fabricante).

Membrana de UF	
Porosidade	10^{-9} m a 10^{-7} m
Material	Polietersulfona (PES)
Geometria	Fibra oca (cilíndrica)
Área de filtração	0,059 m ²
Taxa de rejeição	97 %
Permeabilidade hidráulica	11,95 L·h ⁻¹ ·m ² ·bar ⁻¹
Pressão máxima de operação	2 bar

Quadro 4. Propriedades da membrana de UF (PAM MEMBRANAS – manual do fabricante).

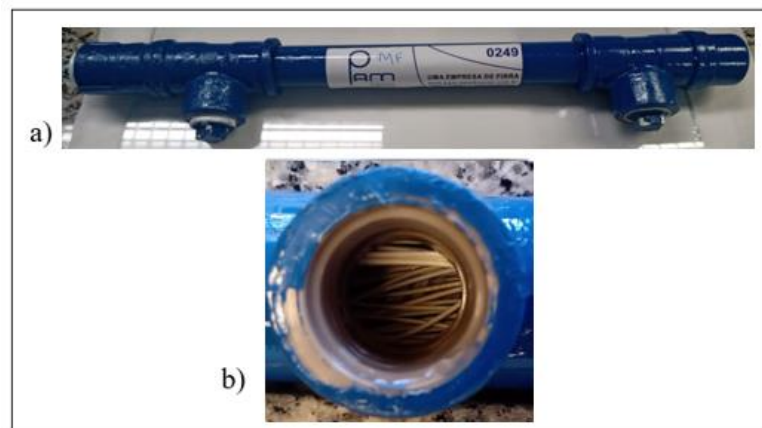


Figura 8. Vista externa (a) e interna (b) da membrana de MF utilizada no processo.

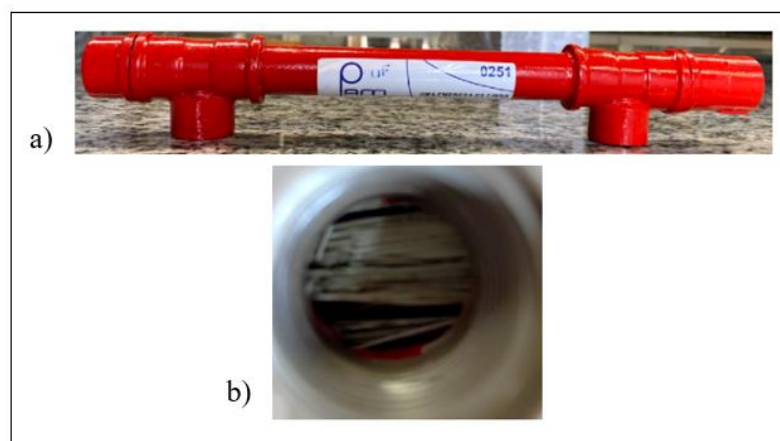


Figura 9. Vista externa (a) e interna (b) da membrana de UF utilizada no processo.

O polietersulfona (PES) é um polímero industrial com propriedades físicas e químicas vantajosas. Possui alta capacidade de processamento, resistência ao calor e estabilidade em diferentes condições ambientais. O PES é muito utilizado para fabricação de membranas comerciais. Existem estudos sobre a aplicação de membranas de PES em bebidas para separação de proteínas (KHOSRAVI, 2022).

4.2 METODOLOGIA

A Figura 10 mostra o fluxograma geral das etapas realizadas no trabalho.

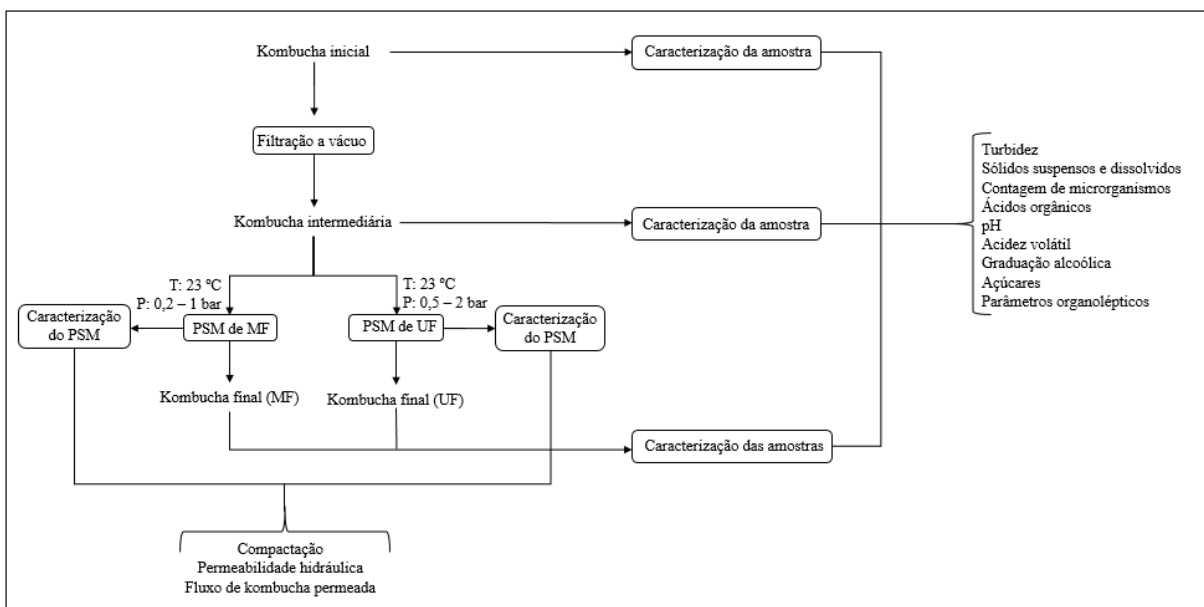


Figura 10. Fluxograma da metodologia realizada.

4.2.1 Filtração a vácuo

Devido à grande quantidade de sólidos presentes na kombucha, a amostra foi previamente filtrada em um sistema de filtração a vácuo (Figura 11) e papel filtro comum. O objetivo dessa pré-filtração foi retirar os sólidos maiores para evitar grandes incrustações e danificações na membrana. O processo foi realizado no LAMEM.



Figura 11. Sistema de filtração a vácuo (QUIMIS, 2021).

4.2.2 Processos de separação por membranas aplicados à kombucha

As amostras de kombucha foram submetidas a dois processos de separação por membranas: microfiltração e ultrafiltração. O modo de operação para os dois PSM foi o mesmo, apenas a membrana foi trocada. O processo foi realizado no LAMEM.

Para operar o sistema, uma bomba diafragma foi utilizada para bombeamento do tanque de alimentação para a unidade de filtração. A temperatura da corrente de alimentação foi controlada para permanecer em torno de 23 °C. A pressão aplicada no sistema foi controlada utilizando um manômetro. A pressão aplicada foi de 0,2 bar para a MF e de 1 bar para a UF. A amostra (alimentação) encontrava-se em um béquer, e devido à pressão exercida permeou através da membrana. A membrana reteve determinados componentes (concentrado) e permitiu a passagem de outros (permeado). A corrente de concentrado retornava para o béquer de alimentação, enquanto a corrente de permeado era recolhida em outro recipiente. O tempo de filtração foi o tempo necessário para coletar o volume de kombucha exigido para as análises. A Figura 12 mostra uma imagem do PSM completo e a Figura 13 esquematiza o processo.

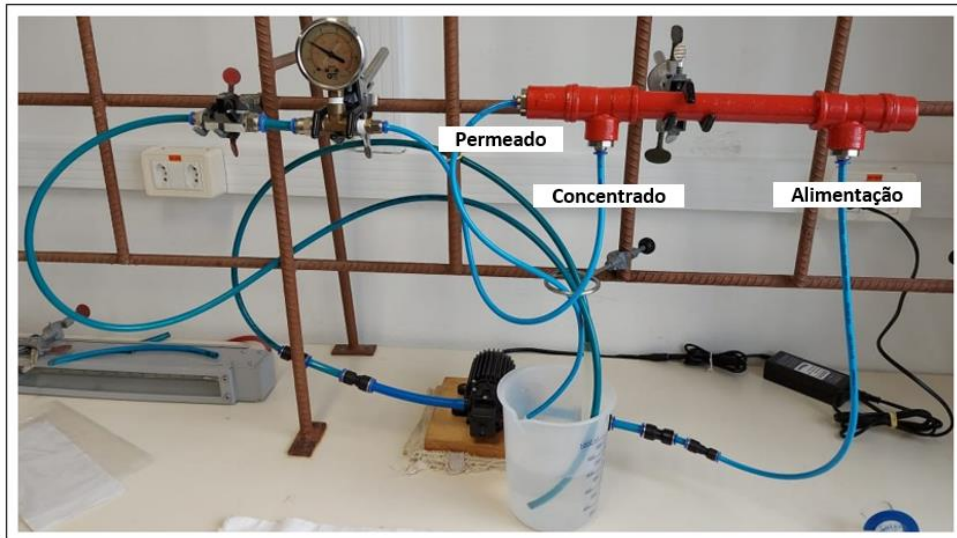


Figura 12. Demonstração dos PSM aplicados no processo.

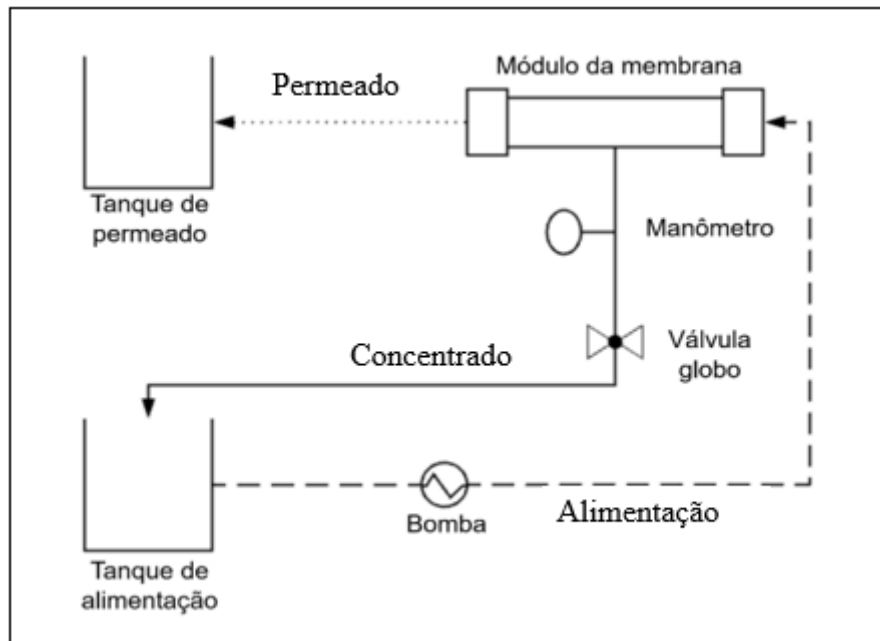


Figura 13. Esquema ilustrativo dos PSM aplicados no processo.

4.2.3 Caracterização das membranas

4.2.3.1 Compactação

O objetivo da compactação é promover o adensamento da microestrutura das membranas para garantir resultados mais confiáveis. A membrana é composta por um material

polimérico cujas cadeias, em pressão atmosférica, estão relaxadas, e a aplicação de pressão promove uma compactação das cadeias poliméricas (THURMER, 2010).

A compactação foi realizada antes de iniciar a caracterização das membranas e os processos de filtração por membranas. Para a compactação, foi realizado o PSM utilizando-se água como fonte de alimentação. Foram aplicadas diferentes pressões, com a permanência de 30 minutos em cada pressão. Para a membrana de MF, iniciou-se com 1 bar e seguiu-se com 0,8, 0,6, 0,4 e 0,2 bar. Para a membrana de UF, iniciou-se com 2 bar e seguiu-se com 1,5, 1 e 0,5 bar. Após decorridos 5 minutos para estabilização do processo, foram realizadas coletas do permeado em intervalos de 10 minutos, com duração de 30 segundos cada coleta (0,0083 h), para medição do volume permeado. O processo foi realizado durante 155 minutos para a MF e 125 minutos para a UF. Foi plotado o gráfico do fluxo de permeado em função do tempo decorrido da permeação. A membrana foi considerada com a compactação completa quando a vazão de permeado foi constante com o tempo.

O cálculo do fluxo é descrito pela Equação 4, em que J_p é o fluxo de permeado ($L \cdot h^{-1} \cdot m^2$), V é o volume de permeado (L) coletado em 30 segundos de permeação, A é a área de filtração da membrana (m^2) fornecida pelo fabricante, e t é o tempo de permeação (0,0083 h).

$$J_p = \frac{V}{A \cdot t} \quad (\text{Equação 4})$$

4.2.3.2 Permeabilidade hidráulica

A permeabilidade hidráulica visa verificar a variação do fluxo de permeado em função da pressão aplicada, avaliando a filtração na ausência de sólidos. É uma das propriedades da membrana que define seu desempenho. Essa etapa foi realizada para analisar a característica inicial da membrana antes da execução do processo.

Essa propriedade foi verificada realizando o PSM com água. Foram aplicadas diferentes pressões, com a permanência de 30 minutos em cada pressão. Para a membrana de MF, iniciou com 0,2 bar e seguiu-se com 0,4, 0,6, 0,8 e 1 bar. Para a membrana de UF, iniciou-se com 0,5 bar e seguiu-se com 1, 1,5 e 2 bar. Após decorridos 5 minutos para estabilização do processo, foram realizadas coletas do permeado em intervalos de 10 minutos, com duração de 30 segundos cada coleta (0,0083 h), para medição do volume permeado. O processo foi realizado durante 155 minutos para a MF e 125 minutos para a UF. Foi plotado o gráfico do

fluxo de permeado em função da pressão aplicada. O fluxo de permeado foi calculado conforme Equação 4.

O valor da permeabilidade hidráulica foi obtido a partir do coeficiente angular da reta do gráfico do fluxo de permeado em função da pressão. O cálculo também pode ser realizado de acordo com a Equação 5, em que L_p é a permeabilidade hidráulica ($L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2} \cdot bar^{-1}$), J_p é o fluxo de água permeada ($L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$) e ΔP é a variação de pressão (bar) (THURMER, 2010).

$$L_p = \frac{J_p}{\Delta P} \quad (\text{Equação 5})$$

4.2.3.3 Fluxo de kombucha permeada

O valor de fluxo de permeado da amostra é expresso como o volume do fluido que atravessa uma unidade de área da membrana em uma determinada pressão e tempo, e foi obtido a partir da coleta da kombucha K_1 . O processo foi realizado conforme descrito em 4.2.3.2, mas com a kombucha como fonte de alimentação. O processo foi realizado por meio da aplicação de pressão em degraus, em que se aumenta a pressão enquanto se observa o comportamento do fluxo de permeado (VIRTANEN *et al.*, 2018). Isso pode reduzir a formação de *fouling*, forçando a passagem da alimentação e causando menos entupimento dos poros.

4.2.4 Caracterização das amostras de kombucha

As kombuchas iniciais K_1 e K_2 , as kombucha filtradas a vácuo e as kombuchas permeadas obtidas dos PSM de MF e UF foram analisadas em relação a alguns parâmetros analíticos. As análises foram realizadas pelo mesmo operador, no mesmo ambiente e com as mesmas condições. Desse modo, foi avaliada a influência das filtrações sob os parâmetros das amostras e foi observado se os PSM provocaram alterações nas propriedades das kombuchas.

O Quadro 5 descreve os parâmetros avaliados e as respectivas técnicas analíticas utilizadas para determinação, descritas em seguida.

Parâmetro	Técnica analítica
Turbidez	Nefelometria
Sólidos suspensos e dissolvidos	Gravimetria
Contagem de microrganismos	Plaqueamento em superfície
Ácidos orgânicos	Cromatografia líquida
pH	Potenciometria
Acidez volátil	Titulometria
Gradação alcoólica	Cromatografia líquida
Açúcares	Cromatografia líquida
Avaliação organoléptica	Análise visual

Quadro 5. Parâmetros analíticos avaliados das kombuchas e suas respectivas técnicas analíticas.

4.2.4.1 Turbidez

O método para determinação da turbidez foi o método nefelométrico, baseado na intensidade da luz difundida pela amostra comparativamente à intensidade da luz espalhada por uma amostra padrão. A medição foi realizada por leitura direta, em que a amostra foi inserida no equipamento e a leitura foi efetuada. Para realização do ensaio, foi utilizado um turbidímetro da marca Digimed, modelo DM-C2. O ensaio foi realizado no LAMEM.

4.2.4.2 Sólidos suspensos e sólidos dissolvidos

A quantificação dos sólidos presentes na amostra foi realizada pelo Laboratório de Análises e Pesquisas Ambientais da UCS (LAPAM), pelo método gravimétrico com metodologias baseadas na 23ª edição do SMWW (*Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*) (APHA, 2017). A gravimetria é uma técnica baseada na quantificação dos componentes a partir das massas. Cadinhos ou cápsulas de porcelana vazios foram previamente pesados e receberam a amostra filtrada. O processo foi realizado e, no final, o cadinho ou a cápsula foram novamente pesados para determinar a massa residual do componente de interesse.

No Quadro 6 constam os sólidos analisados e seus respectivos métodos, bem como o limite de quantificação (L.Q.) do método utilizado. O limite de quantificação é a menor concentração do analito que pode ser determinada com precisão e exatidão (BRASIL, 2005).

Parâmetro	Metodologia	L.Q. (mg·L⁻¹)
Sólidos dissolvidos totais	SMWW-Método 2540-C	10,0
Sólidos suspensos totais	SMWW-Método 2540-D	12,0

Quadro 6. Sólidos analisados das amostras de kombucha.

Para determinação dos sólidos suspensos, o cadinho foi colocado em estufa a 104 °C por 1 hora e meia. Para os sólidos dissolvidos, a cápsula foi deixada em banho-maria a 90 °C para parte do seu conteúdo evaporar, em seguida foi colocada em estufa a 180 °C por 1 hora, e mantida na estufa por mais 1 hora a 104 °C.

4.2.4.3 Contagem de microrganismos

A determinação da quantidade de microrganismos aeróbios mesófilos foi realizada pelo laboratório da empresa Engequímica, com metodologia baseada na ABNT NBR ISO 4833-2 (ABNT, 2015), pela técnica de plaqueamento em superfície. A comunidade microbiana da kombucha pode ser dividida em duas partes: o biofilme celulósico formado na superfície e a bebida líquida fermentada. A avaliação microbiológica é relevante principalmente no líquido, pois é a parte que é ingerida pelos consumidores (CHAKRAVORTY *et al.*, 2016).

Apenas a kombucha K₂ foi analisada quando a concentração de microrganismos. O procedimento de contagem de microrganismos consistiu em primeiramente transferir 0,1 mL da amostra (ou respectiva diluição) para uma placa de petri contendo ágar, espalhando em movimentos circulares para que a amostra se encontrasse em toda extensão da placa. Após decorridos 15 minutos para absorção da amostra pelo ágar, as placas tampadas foram incubadas em incubadora microbiológica a 30 °C por 72 horas. Após o período de incubação, as colônias formadas foram contadas e o resultado (em UFC·mL⁻¹) foi calculado de acordo com a Equação 6.

$$\text{Resultado} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de colônias}}{\text{Volume inoculado (mL)} \cdot \text{Fator de diluição}} \quad (\text{Equação 6})$$

4.2.4.4 Ácidos orgânicos

A determinação dos ácidos orgânicos presentes na amostra foi realizada pelo LAPAM, por metodologia descrita por Souza e colaboradores (2021). Para análise, foi utilizada a técnica

de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). A cromatografia é uma técnica de separação de misturas com o objetivo de isolar, identificar e quantificar os analitos presentes. Essa separação ocorre de acordo com as interações químicas ou físicas da amostra com as fases móvel e estacionária. Na cromatografia líquida, a fase móvel é um solvente no estado líquido que carrega a amostra, fazendo-a passar pela fase estacionária, que é composta por uma coluna. A amostra é injetada no cromatógrafo e os componentes da mistura percorrem a coluna com diferentes velocidades e tempo de retenção, e assim ocorre a separação. Para a quantificação, é utilizado um detector acoplado ao sistema (SOUZA *et al.*, 2021).

A kombucha K₁ foi analisada quanto aos teores de ácido acético, láctico e glucônico. A kombucha K₂ foi analisada quanto às concentrações de ácido acético, propiônico e butírico. O equipamento utilizado foi um cromatógrafo da marca Shimadzu, modelo LC-20AD. O fluxo de amostra utilizado foi de 0,5 mL·min⁻¹, em uma temperatura constante de 60 °C. A coluna utilizada como fase estacionária foi uma coluna Aminex HPX 87H 7,8 x 300 mm da marca Biorad. O detector utilizado para quantificação foi um RID (Índice Refrativo Diferencial). Como fase móvel, foi utilizado ácido sulfúrico (H₂SO₄) 5 mmol·L⁻¹ para a determinação dos ácidos acético, láctico, propiônico e butírico, e ácido sulfúrico 0,05 mmol·L⁻¹ para o ácido glucônico.

4.2.4.5 pH

O pH se refere ao potencial hidrogeniônico e corresponde à concentração de íons de hidrogênio (H⁺) dissolvido. Esse parâmetro determina a acidez, neutralidade ou alcalinidade de uma solução. O pH é importante pois ele possui efeito sobre a intensidade da cor, a turbidez, o sabor, o potencial de oxirredução, a atividade enzimática e as alterações microbianas de uma bebida (ESSAWET *et al.*, 2015).

Para a análise de pH, foi utilizado o método potenciométrico, que consistiu na medição direta do pH da solução utilizando um pHmetro composto de eletrodos. Foi utilizado um pHmetro da marca Tecnozon, modelo mPA-210. O ensaio foi realizado no LAMEM.

4.2.4.6 Acidez Volátil

A acidez volátil é um parâmetro físico-químico amplamente considerado em todo segmento analítico. Este tipo de acidez é parte integrante da acidez total, mas se diferencia no ponto de vista quantitativo, pois representa uma parte menor. O ácido acético representa, normalmente, mais de 90 % dos ácidos voláteis (NOGUEIRA *et al.*, 2003).

O ensaio de acidez volátil foi realizado pelo laboratório enológico da Vinícola Salton. Foi utilizado o método titulométrico potenciométrico com prévia destilação por arraste com vapor d'água, baseado na separação dos ácidos voláteis por meio de arraste com vapor d'água e retificação dos vapores. A referência do método foi o Manual de Métodos de Análises de Bebidas e Vinagres do MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) (Brasil, 2005) e o *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis* da OIV (*International Organization of Vine and Wine*) (método OIV-MA-AS313-02) (OIV, 2021).

O método consistiu em, primeiramente, promover a geração de vapor d'água utilizando um gerador de vapor com aquecimento e pressão controlada. Após, foi realizada a destilação de 10 mL da amostra juntamente com 1 mL de ácido tartárico 50 % em um volatímetro com coluna retificadora e condensador. Uma mistura de 200 mL do destilado e do vapor d'água condensado foi recolhida e foi realizada a titulação em titulador automático (marca Metrohm, modelo SM 702 Titrino). A titulação do destilado foi realizada com hidróxido de sódio $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ e o resultado da acidez volátil bruta foi mostrado diretamente no visor do equipamento, na unidade de $\text{mEq}\cdot\text{L}^{-1}$.

4.2.4.7 Graduação alcoólica

O grau alcoólico volumétrico corresponde ao volume de etanol (em mL) contido em 100 mL de amostra. É uma característica muito importante da kombucha, pois determina se a bebida é ou não alcoólica e influencia diretamente nas características organolépticas, sendo às vezes um fator determinante para o consumo.

A determinação do teor de etanol presente na amostra foi realizada pelo LAPAM. Para análise, foi utilizada a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (idem 4.2.4.4) por metodologia padrão do fabricante combinada com metodologia descrita por Souza e colaboradores (2021). O equipamento foi um cromatógrafo da marca Shimadzu, modelo LC- 20AD. O fluxo de amostra utilizado foi de $0,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, em uma temperatura constante de

60°C. A coluna utilizada como fase estacionária foi uma coluna Aminex HPX 87H 7,8 x 300 mm da marca Biorad. A fase móvel utilizada foi uma solução de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 5 mmol·L⁻¹. O detector utilizado para quantificação foi um RID.

A concentração de etanol foi obtida em g·L⁻¹. Sabendo-se que a massa específica (ρ) do etanol é igual a 789 kg·m⁻³ ou 0,789 g·cm⁻³, aplicou-se a Equação 7, em que M é a massa de etanol contida em 1 L de solução e V é o volume correspondente.

$$\rho = \frac{M}{V} \quad (\text{Equação 7})$$

A concentração em % (v/v) corresponde ao volume do componente presente em 100 mL de solução. O volume encontrado de etanol corresponde ao volume em 1 L de solução, então foram aplicadas relações matemáticas para encontrar o volume correspondente a 100 mL de solução.

4.2.4.8 Açúcares

A determinação dos açúcares presentes na amostra (glicose e frutose) foi realizada pelo LAPAM. Para análise, foi utilizada a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (idem 4.2.4.4) por metodologia padrão do fabricante. O equipamento foi um cromatógrafo da marca Shimadzu, modelo LC-20AD. O fluxo de amostra utilizado foi de 1,4 mL·min⁻¹, em uma temperatura constante de 30 °C. A coluna utilizada como fase estacionária foi uma coluna Zorbax – Carbohydrate 4,6 x 250 mm 5 μm da marca Agilent. A fase móvel utilizada foi uma solução composta por 75 % de acetonitrila e 25 % de água. O detector utilizado para quantificação foi um RID.

4.2.4.9 Avaliação organoléptica

A análise sensorial é uma avaliação do produto a partir da utilização dos sentidos. Os parâmetros de avaliação organoléptica das kombuchas incluíram a análise do aspecto visual. Esse atributo sensorial é importante pois pode influenciar diretamente nas escolhas dos consumidores. Além disso, as características organolépticas de uma bebida estão relacionadas

com seus atributos intrínsecos, como autenticidade ou defeitos de fabricação ou conservação.

A análise organoléptica foi realizada no LAMEM. As amostras foram colocadas em erlenmeyers identificados, e a avaliação foi realizada a partir da análise visual das amostras, observando-se a coloração e a turbidez aparentes.

4.2.5 Análise estatística

Os resultados obtidos de cada parâmetro das kombuchas para as amostras originais, após filtração a vácuo, após MF e após UF foram comparados entre si através da realização de uma análise estatística com auxílio do *software Microsoft Excel*, pelo cálculo do coeficiente de variação. Inicialmente foi calculado a média e o desvio padrão dos resultados (Apêndice A e Apêndice B). O coeficiente de variação (Cv), em porcentagem, foi calculado utilizando-se a Equação 8.

$$Cv = \frac{\text{Desvio padrão}}{\text{Média}} \cdot 100 \% \quad (\text{Equação 8})$$

Como critério, foi estabelecido que um Cv maior que 10 % indica uma diferença estatística entre os resultados, enquanto um Cv menor do que 10 % aponta resultados estatisticamente iguais (ALBANO & RAYA-RODRIGUEZ, 2015; SCHMILDT *et al.*, 2017).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS

5.1.1 Compactação

A Figura 14 e a Figura 15 mostram o fluxo de água permeada (J_p) em função do tempo para as membranas de MF e UF, respectivamente. Para ambas as membranas, o fluxo foi diminuindo gradualmente com o tempo e com a redução da pressão. No final de ambos os processos observou-se um fluxo constante, confirmando a finalização da compactação. A microfiltração teve sua compactação finalizada em 155 minutos, enquanto a ultrafiltração finalizou a compactação em 125 minutos.

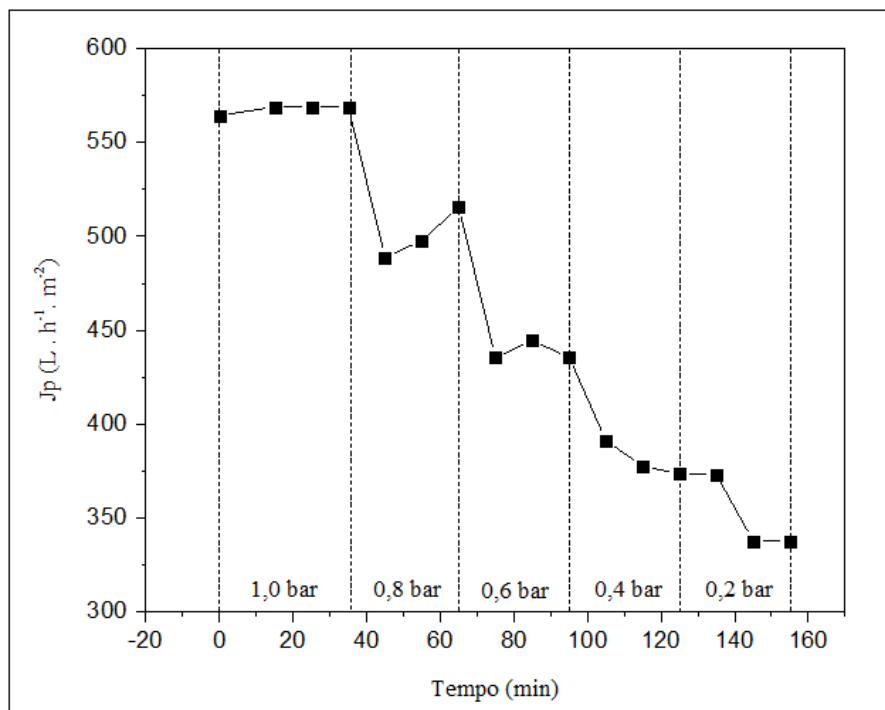


Figura 14. Fluxo de permeado em função do tempo na compactação da membrana de MF.

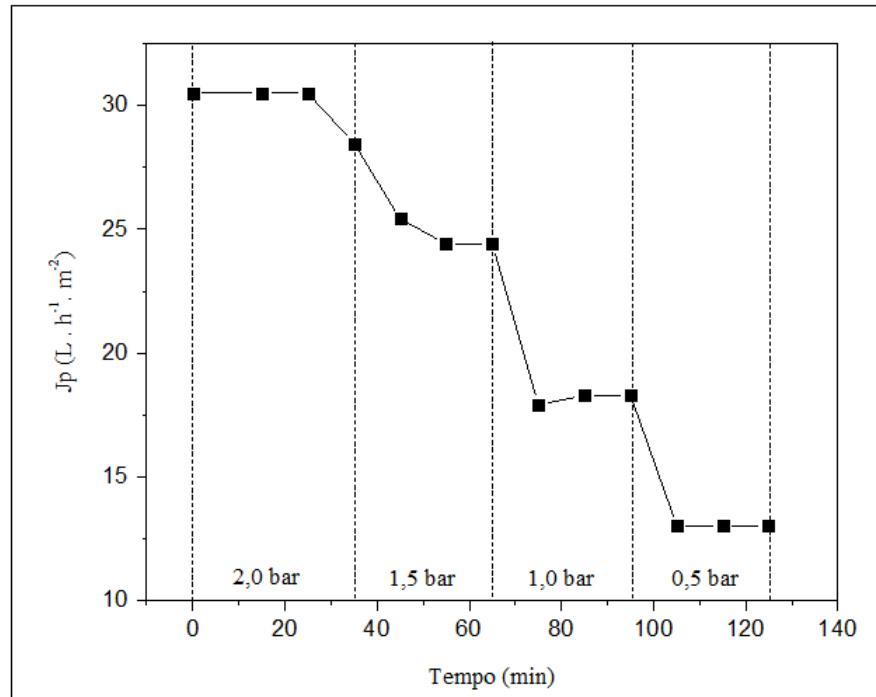


Figura 15. Fluxo de permeado em função do tempo na compactação da membrana de UF.

Na compactação da membrana de MF sob pressão de 1 bar, o fluxo médio foi de $568,89 L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$. Em 0,8 bar, a média foi de $500,74 L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$. Em 0,6 bar, o fluxo médio foi de $438,52 L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$. Na pressão de 0,4 bar, o fluxo médio foi de $380,74 L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$ e em 0,2 bar a média foi de $342,22 L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$.

Na compactação da membrana de UF sob pressão de 2 bar, o fluxo médio foi de $29,83 L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$. Em 1,5 bar, a média foi de $24,75 L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$. Em 1 bar, o fluxo médio foi de $18,17 L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$ e na pressão de 0,4 bar, o fluxo médio foi de $13,02 L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$.

Favero (2014) realizou compactação de membranas poliméricas de MF e UF em seus estudos e observou uma redução de fluxo de água em relação ao tempo durante a compactação em pressão de 5 bar, atingindo por fim um fluxo constante em 120 minutos.

Cadore (2015) realizou a compactação de uma membrana de MF de poli(éter-imida) (PEI) em uma pressão de 0,3 bar e observou uma redução do fluxo ao longo do tempo até se tornasse estável após 6 minutos. Porém, após 24 horas foi constatado que houve a descompactação da membrana devido a acomodação natural das cadeias poliméricas.

5.1.2 Permeabilidade hidráulica

A Figura 16 e a Figura 17 mostram o fluxo de água permeada (J_p) em função da pressão (P) aplicada para as membranas de MF e UF, respectivamente. Para ambas as membranas, o fluxo foi aumentando gradualmente com o tempo e com o aumento da pressão.

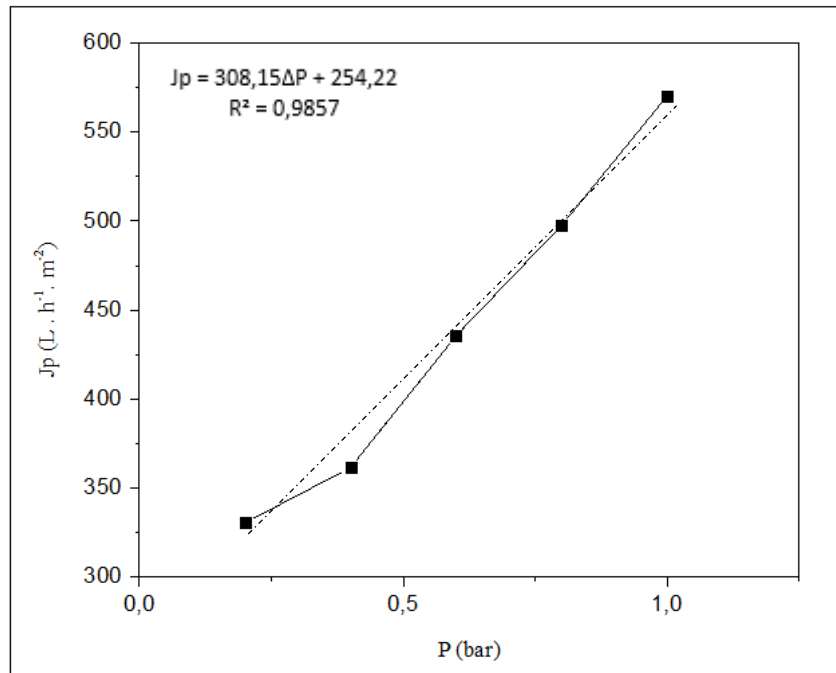


Figura 16. Fluxo de água permeada em função da pressão para a membrana de MF.

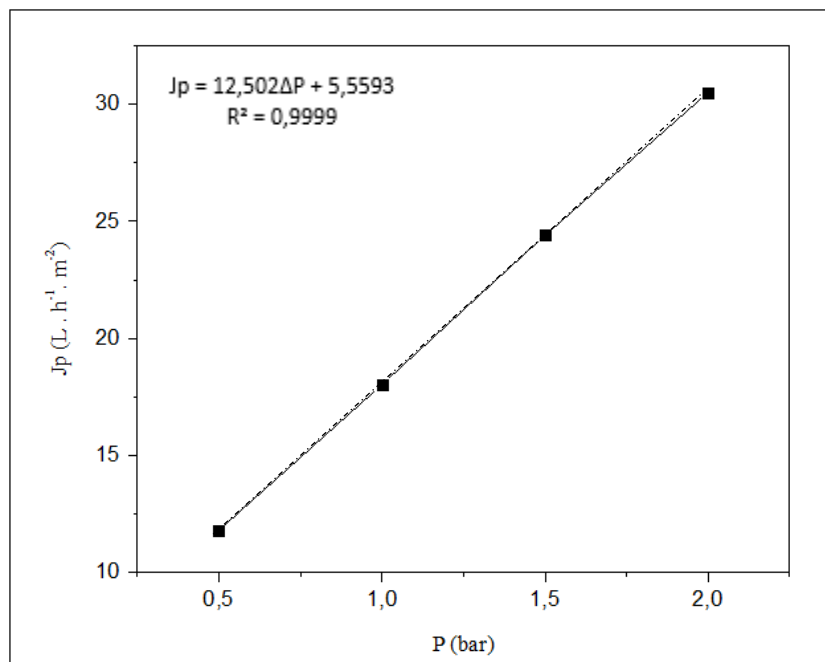


Figura 17. Fluxo de água permeada em função da pressão para a membrana de UF.

A permeabilidade hidráulica obtida para a membrana de MF por meio da equação da reta foi de $308,15 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^2\cdot\text{bar}^{-1}$. O valor encontrado diferiu da permeabilidade hidráulica teórica da membrana fornecida pelo fabricante, que era de $127,20 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^2\cdot\text{bar}^{-1}$ (PAM MEMBRANAS – manual do fabricante). O fluxo de água permeada apresentou comportamento linear no decorrer do processo ($R^2 = 0,9857$). A divergência entre os valores da permeabilidade hidráulica teórica e prática pode ser explicada pela possível ocorrência de uma descompactação da membrana, modificando suas características iniciais.

Para a membrana de UF, a permeabilidade hidráulica obtida foi de $12,502 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^2\cdot\text{bar}^{-1}$. O valor foi semelhante à permeabilidade hidráulica teórica da membrana fornecida pelo fabricante, que era de $11,95 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^2\cdot\text{bar}^{-1}$ (PAM MEMBRANAS – manual do fabricante). O comportamento do fluxo de água permeada apresentou uma linearidade constante de crescimento ($R^2 = 0,9999$). O valor de permeabilidade hidráulica coerente deve-se as características e propriedades da membrana comercial mantidas durante o processo.

Cadore (2015) realizou um estudo de permeabilidade hidráulica em uma membrana de microfiltração de poli(éter-imida) (PEI) em uma pressão de 0,3 bar. A permeabilidade encontrada foi de $73 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^2\cdot\text{bar}^{-1}$, enquanto a permeabilidade hidráulica teórica da membrana fornecida pelo fabricante era de $300 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^2\cdot\text{bar}^{-1}$. As diferenças foram explicadas pelo desgaste da membrana provocado pela utilização recorrente.

Ghiggi (2014) obteve uma permeabilidade hidráulica de $7 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^2\cdot\text{bar}^{-1}$ para uma membrana de ultrafiltração testada em pressão variável de 3 a 6 bar. Favero (2014) realizou testes de permeabilidade hidráulica de membranas poliméricas de MF e UF em seus estudos e observou um crescimento do fluxo de água com o aumento da pressão. Cristofoli (2016) realizou testes de permeabilidade hidráulica com seis membranas cerâmicas e compósitas de MF desenvolvidas em seus estudos, com pressão variando de 0,5 a 3,5 bar, e verificou que para todas elas o fluxo de água aumentou com o aumento da pressão aplicada. Os valores de permeabilidade hidráulica variaram de $25,1 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^2\cdot\text{bar}^{-1}$ a $2045,9 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^2\cdot\text{bar}^{-1}$.

Persson e colaboradores (1995) realizaram um estudo sobre compactação de membranas e observaram que a compactação afetou o fluxo de água permeada de uma membrana polimérica de microfiltração. A permeabilidade hidráulica diminuiu exponencialmente com o aumento da pressão aplicada. Apesar de promover uma redução de fluxo, a compactação não alterou as propriedades de separação das membranas.

5.1.3 Fluxo de kombucha permeada

A Figura 18 e a Figura 19 mostram o fluxo da kombucha K_1 permeada (J_p) em função do tempo para as membranas de MF e UF, respectivamente.

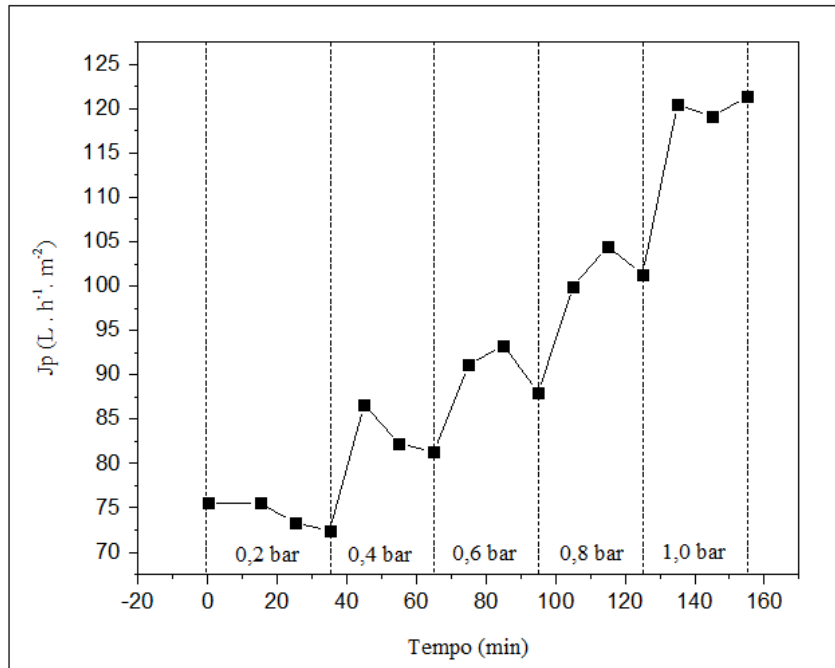


Figura 18. Fluxo de kombucha permeada em função do tempo na MF.

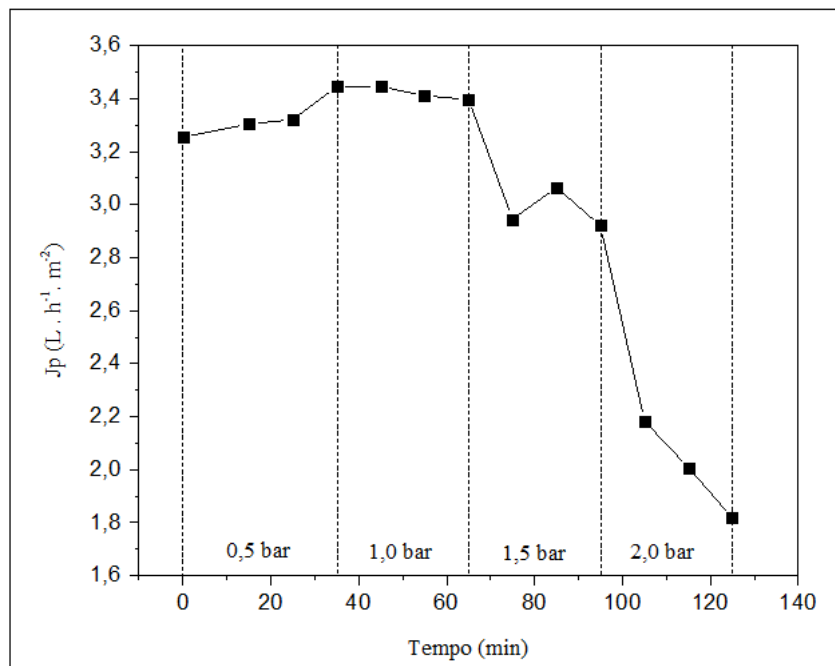


Figura 19. Fluxo de kombucha permeada em função do tempo na UF.

No processo de MF o fluxo foi aumentando com o passar do tempo e com o aumento da pressão aplicada. Na pressão de 0,2 bar, o fluxo médio de permeado foi de $73,78 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$. Em 0,4 bar, a média aumentou para $83,41 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$. Em 0,6 bar, o fluxo médio aumentou para $90,81 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$. Em 0,8 bar a média aumentou para $101,93 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ e em 1 bar chegou a média de $120,30 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$.

No processo de UF o fluxo de permeado reduziu ao longo do tempo e com a elevação da pressão aplicada. Na pressão de 0,5 bar, o fluxo médio de permeado foi de $3,36 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$. Em 1 bar, a média aumentou para $3,42 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$. Em 1,5 bar, o fluxo médio reduziu para $2,98 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ e em 2 bar reduziu para $2,00 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$.

Em ambos os processos, percebeu-se que o fluxo de permeado é mais estável em pressões mais baixas. De acordo com Kumar e Ismail (2015), a aplicação de uma pressão menor, apesar de demandar um tempo maior de processo, promove um fluxo constante e requer menos energia. Isso sugere que o fluxo crítico está nas regiões de baixa pressão. O fluxo crítico é o fluxo acima do qual o *fouling* é observado. Abaixo desse fluxo, o *fouling* é desprezível e não há declínio de fluxo com o tempo. Ou seja, o fluxo crítico delimita a região de baixa taxa de *fouling* e a de alta taxa de *fouling* (VIRTANEN *et al.*, 2018). Por isso, a sugestão foi a aplicação de uma pressão de 0,2 bar para a MF e de 1 bar para a UF.

Para ambas as membranas, no geral houve declínio no fluxo de kombucha permeada em cada pressão avaliada individualmente. A estrutura densa da membrana promovida pela compactação pode acarretar na diminuição do fluxo de permeado. Quando uma membrana polimérica é colocada sob pressão, os polímeros são ligeiramente reorganizados e a estrutura é alterada (PERSSON *et al.*, 1995). Isso resulta na redução da porosidade da membrana ou no fechamento de poros, aumentando a resistência e reduzindo a permeabilidade (TANIS-KANBUR *et al.*, 2019).

A diminuição do fluxo de kombucha permeada em função do tempo na ultrafiltração está relacionada com o *fouling* e a polarização por concentração ocorridos durante o processo. O fato da corrente de concentrado retornar para o tanque de alimentação ao longo do PSM acarretou em uma alimentação cada vez mais concentrada, contribuindo para o acúmulo de partículas e para o declínio do fluxo.

Apesar dos fenômenos de *fouling* e polarização por concentração estarem presentes, houve um aumento no fluxo de kombucha permeada em função do tempo na microfiltração. Este comportamento pode estar relacionado com a possibilidade de ter ocorrido uma descompactação da membrana ou de haver algum macroporo presente na membrana que tenha facilitado a passagem das partículas. Modificações nas propriedades da membrana podem

ocorrer como resultado da deterioração física ou química da membrana. Em pressões de operação elevadas, a membrana pode apresentar deformações que modificam sua permeabilidade (VIRTANEN *et al.*, 2018).

Sui e colaboradores (2022) realizaram um estudo de ultrafiltração em vinhos em pressão constante e observaram uma redução do fluxo de permeado ao longo do tempo, causado pela incrustação de alguns componentes do vinho. Foi avaliado também o comportamento do vinho permeado em relação a diferentes pressões aplicadas. Inicialmente, o aumento da pressão resultou em um aumento do fluxo de permeado. Após certo tempo, houve um declínio no fluxo causado pela deposição de partículas na superfície da membrana.

Mejia e Yáñez-Fernandez (2021) realizaram testes de microfiltração em suco de pera e observaram uma redução do fluxo de permeado com o tempo de operação em diferentes pressões, devido ao acúmulo de partículas na superfície e nos poros da membrana. Durante o processo, diferentes estágios foram observados. Nos primeiros 12 minutos, houve uma grande queda no fluxo de permeado em todas as pressões testadas. Depois, até os 60 minutos, o fluxo foi decaindo lentamente. A partir desse tempo, o fluxo se estabilizou, atingindo o estado estacionário. À medida que a pressão aumentava, o fluxo passou a ser independente da pressão aplicada.

Khosravi e colaboradores (2022) realizaram a caracterização de membranas de PES de nanofiltração na filtração de uma solução proteica de albumina do soro bovino. O processo foi realizado por 30 minutos em uma pressão de 5 bar e por mais 60 minutos em uma pressão de 4 bar. A pressão de operação foi reduzida para obtenção de um fluxo mais uniforme. O fluxo de permeado foi uniforme nos primeiros 60 minutos e depois começou a decair, o que pode ser atribuído à incrustação na membrana após a passagem da solução de proteína.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE KOMBUCHA

A Tabela 3 e a Tabela 4 apresentam os resultados obtidos das análises realizadas nas amostras de kombucha K_1 e K_2 , respectivamente, antes do processo de filtração, após a filtração à vácuo (FV) e após a execução dos PSM de microfiltração (MF) e ultrafiltração (UF). Nas tabelas constam também o percentual de aumento ou redução de cada parâmetro. Os percentuais das amostras após filtração a vácuo foram calculados em relação às amostras iniciais. Já os percentuais das amostras após os processos de MF e UF foram calculados em relação às amostras filtradas a vácuo, devido ao PSM ter sido realizado com as amostras já filtradas a

vácuo. Os resultados obtidos de cada análise serão abordados, discutidos e comparados entre si nos itens subsequentes.

Tabela 3. Resultados dos parâmetros analisados das amostras de kombucha K₁.

Parâmetro		Inicial	Após FV	Após PSM	
				FV + MF	FV + UF
Turbidez (NTU)		337,00	61,00 (- 81,90 %)	12,09 (- 80,18 %)	0,10 (- 99,84 %)
Sólidos (mg·L ⁻¹)	Sólidos Suspensos	634	210 (- 66,88 %)	213 (+ 1,43 %)	44 (- 79,05 %)
	Sólidos Dissolvidos	31762	31234 (- 1,66 %)	30656 (- 1,85 %)	30308 (- 2,96 %)
Ácidos (g·L ⁻¹)	Acético	1,86	2,42 (+ 30,10 %)	2,36 (- 2,48 %)	2,40 (- 0,82 %)
	Lático	0	0	0	0
	Glucônico	0	0	0	0
pH		3,19	3,29 (+ 3,13 %)	3,53 (+ 7,29 %)	3,38 (+ 2,74 %)
Acidez Volátil (mEq·L ⁻¹)		38,87	38,61 (- 0,67 %)	39,32 (+ 1,84 %)	37,39 (- 3,16 %)
Graduação alcoólica (g·L ⁻¹)		4,25	5,36 (+ 26,16 %)	4,88 (- 8,96 %)	4,95 (-7,65 %)
Açúcares (g·L ⁻¹)	Glicose	11,46	14,94 (+ 30,37 %)	15,02 (+ 0,54 %)	14,97 (+ 0,20 %)
	Frutose	8,47	11,09 (+ 30,92 %)	11,16 (+ 0,63 %)	11,11 (+ 0,18 %)

Tabela 4. Resultados dos parâmetros analisados das amostras de kombucha K₂.

Parâmetro		Inicial	Após FV	Após PSM	
				FV + MF	FV + UF
Turbidez (NTU)		431,00	105,00 (- 75,64 %)	17,53 (- 83,30 %)	78,70 (- 25,05 %)
Sólidos (mg·L ⁻¹)	Sólidos Suspensos	158	300,00 (+ 89,97 %)	62,00 (- 79,33 %)	130,00 (- 56,67 %)
	Sólidos Dissolvidos	11978	13348,00 (+ 11,44 %)	14102,00 (+ 5,65 %)	12920,00 (- 3,21 %)
Microrganismos aeróbios mesófilos (UFC·mL ⁻¹)		9,6·10 ²	8,9·10 ² (- 7,29 %)	4·10 ² (- 53,93 %)	8,1·10 ² (- 8,99 %)
Ácidos (g·L ⁻¹)	Acético	2,61	6,44 (+ 147,09 %)	6,52 (+ 1,24 %)	5,97 (- 7,30 %)
	Propiônico	0,1958	0,10 (- 47,41 %)	0,11 (+ 0,10 %)	0,11 (+ 0,10 %)
	Butírico	0,4231	0,19 (- 54,86 %)	0,32 (+ 68,42 %)	0,27 (+ 42,11 %)
pH		2,96	3,03 (+ 2,36 %)	3,06 (+ 0,99 %)	3,05 (+ 0,66 %)
Acidez Volátil (mEq·L ⁻¹)		63,62	67,15 (+ 5,55 %)	68,24 (+ 1,62 %)	67,42 (+ 0,40 %)
Graduação alcoólica (g·L ⁻¹)		5,79	11,88 (+ 105,41 %)	11,96 (+ 0,67 %)	10,68 (- 10,10 %)
Açúcares (g·L ⁻¹)	Glicose	3,12	5,73 (+ 83,35 %)	6,09 (+ 6,28 %)	5,67 (- 1,05 %)
	Frutose	5,27	11,45 (+ 117,11 %)	11,38 (- 0,61 %)	10,04 (- 12,31 %)

5.2.1 Turbidez

Para a kombucha K₁, os PSM foram eficientes na redução da turbidez. O coeficiente de variação (Cv) entre a amostra antes e depois da MF foi de 94,64 % e o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 140,96 %, o que mostrou que os resultados foram estatisticamente diferentes e que a realização dos PSM afetou a turbidez da kombucha. O Cv entre a amostra microfiltrada e a amostra ultrafiltrada foi de 139,10 %, o que significa que houve diferença estatística entre os PSM e os resultados de turbidez foram significativamente alterados de acordo com a membrana utilizada. A filtração a vácuo também mostrou eficiência significativa para reduzir o teor de turbidez da kombucha, apresentando um Cv de 98,07 % quando comparada com a kombucha inicial.

A kombucha K₂ também apresentou redução significativa de sua turbidez com os PSM. O Cv entre a amostra antes e depois da MF foi de 100,96 % e o Cv entre a amostra antes

e depois da UF foi de 20,25 %. O Cv entre a amostra microfiltrada e a amostra ultrafiltrada foi de 89,90 %, comprovando que o tipo de membrana afetou no teor de redução da turbidez. A kombucha filtrada a vácuo apresentou um Cv de 86,01 % em relação à kombucha inicial, mostrando eficiência na redução da turbidez também.

A turbidez foi provocada principalmente por partículas em suspensão, em sua maioria compostos sólidos e microrganismos que dificultaram a passagem da luz. Na etapa de pré-filtração ficaram retidos alguns componentes sólidos de maior tamanho, visualmente perceptíveis. Na membrana de microfiltração, com poros entre 10^{-7} e 10^{-5} m, ficaram retidos parte dos compostos em suspensão, dos coloides e dos microrganismos responsáveis pela aparência turva. Já a membrana de ultrafiltração, com porosidade entre 10^{-9} e 10^{-7} m, promoveu a retenção de parte de outras macromoléculas além dos componentes citados (WEN-QIONG *et al.*, 2019). A retenção destes compostos reduziu significativamente a turbidez da amostra, tornando a aparência mais agradável visualmente.

A menor redução de turbidez na K₂ com a UF em relação a MF pode estar associada com o fato de que a microfiltração foi realizada um dia antes da ultrafiltração. A matriz complexa da kombucha pode apresentar comportamento variado em diferentes condições e em um curto espaço de tempo. Antes do processo de UF a kombucha permaneceu armazenada sob refrigeração, mas a fermentação continuou ativa. A fração de kombucha utilizada para a UF foi o final do lote da amostra, com mais resíduos e maior acidez. Em função da acidez acentuada, alguma fibra pode ter se rompido e a separação pode não ter sido tão eficiente. Além disso, o caráter ácido resultou em uma corrosão das conexões da tubulação do processo. As partículas responsáveis pela turbidez da kombucha ultrafiltrada podem ser resultantes da oxidação dos materiais, e não da própria kombucha. A membrana de UF já estava desgastada devido ao uso contínuo, e ao final do processo foi descartada.

A literatura sobre filtração de kombuchas é limitada, tornando escasso o embasamento teórico para discussão dos resultados. Foram utilizadas referências de estudos em cervejas e vinhos, por se tratarem de bebidas fermentadas com bioquímica semelhante à da kombucha. Outras bebidas também serviram de referência para comparação de parâmetros analíticos.

Em estudos anteriores, testes foram realizados com membrana de microfiltração de náilon para reduzir a turbidez de cervejas, o que resultou em uma redução de 95,6 % a 99,6% na turbidez (LEMMA *et al.*, 2015). Omelchenko e colaboradores (2021) realizaram testes de microfiltração em cervejas e observaram uma redução de 17,24 % na turbidez.

Com a utilização de membrana de UF de alumina, Pinto e colaboradores (2008) obtiveram redução de 48,6 % na turbidez de vinhos. Já Urkiaga e colaboradores (2002)

avaliaram em seus estudos a MF de vinhos utilizando membranas de polietersulfona e alcançaram resultados de 96,7 % de redução na turbidez. Sui e colaboradores (2022) também observaram redução significativa na turbidez de vinhos após passarem por processos de ultrafiltração, comprovando a eficácia da UF em remover os sólidos em suspensão e coloides da bebida. Rosária e colaboradores (2022) realizaram um estudo de microfiltração em vinhos e observaram uma redução nos valores de turbidez para todos os vinhos estudados. Os teores de redução variaram entre 63,6 % e 87,6 % em relação ao valor inicial.

Mejia e Yáñez-Fernandez (2021) realizaram estudos de microfiltração em suco de pera. O valor inicial da turbidez do suco era de 164,3 NTU, e após a MF a turbidez reduziu para 0,37 NTU.

5.2.2 Sólidos suspensos e sólidos dissolvidos

Para a kombucha K_1 , o Cv para sólidos suspensos entre a amostra antes e depois da MF foi de 1,00 %, o que significa que não houve diferença estatística significativa. Essa diferença pode estar relacionada com alguma possível contaminação durante a análise de sólidos suspensos, que resultou em um valor alto para a amostra microfiltrada. O Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 92,42 %, o que mostrou que os resultados foram estatisticamente diferentes e que a realização do PSM afetou a concentração de sólidos suspensos da kombucha. O Cv entre a amostra microfiltrada e a amostra ultrafiltrada foi de 93,00 %, o que significa que houve diferença estatística entre os PSM e os resultados de sólidos suspensos foram significativamente alterados de acordo com o método de PSM. A filtração a vácuo mostrou eficiência significativa para reduzir o teor de sólidos suspensos da kombucha, apresentando um Cv de 71,05 % quando comparada com a kombucha inicial. Os resultados estão coerentes com os resultados obtidos da turbidez, exceto para a MF devido à possível contaminação, pois os sólidos suspensos são os principais compostos responsáveis pela aparência turva de uma solução. Uma redução da concentração de sólidos suspensos gera, portanto, uma redução no valor de turbidez.

A kombucha K_1 não apresentou reduções significativas na quantidade de sólidos dissolvidos após os PSM. O Cv entre a amostra antes e depois da MF foi de 1,32 % e o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 2,13 %. Entre as kombuchas microfiltrada e ultrafiltrada, o Cv foi de 0,81 %. A realização da filtração a vácuo também não afetou significativamente a

concentração de sólidos dissolvidos, apresentando um Cv de 1,19 % em relação à kombucha inicial.

Para a kombucha K₂, a concentração de sólidos suspensos reduziu significativamente com os PSM. O Cv entre a amostra antes e depois da MF foi de 92,98 % e o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 55,91 %, o que mostrou que os resultados foram estatisticamente diferentes. O Cv entre a amostra microfiltrada e a amostra ultrafiltrada foi de 50,09 %, o que significa que houve diferença estatística entre os PSM e os resultados de sólidos suspensos foram significativamente alterados de acordo com o método de PSM. Já a filtração a vácuo promoveu um aumento na concentração de sólidos suspensos, apresentando um Cv de 43,84 % em relação à amostra de kombucha inicial. Os resultados da MF e UF estão coerentes com os valores de turbidez obtidos para as amostras. O fato da redução da quantidade de sólidos suspensos ter sido maior com a MF segue a explicação descrita em 5.2.1, considerando-se possíveis falhas no processo de UF e a matriz complexa da amostra. Nos resultados de filtração a vácuo acredita-se que tenha ocorrido alguma contaminação durante a análise de sólidos suspensos, pois o método gravimétrico é muito manual e passível a equívocos. O aumento na concentração de sólidos não era esperado. Além disso, o aumento de sólidos suspensos não condiz com o valor de turbidez encontrado, que apresentou redução após a filtração a vácuo.

Na kombucha K₂ não foram observadas diferenças estatísticas nos resultados de sólidos dissolvidos, garantindo a conservação de outros variados componentes na bebida filtrada. O Cv entre a amostra antes e depois da MF foi de 3,88 % e o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 2,30 %. Entre as kombuchas microfiltrada e ultrafiltrada, o Cv foi de 6,19 %. A realização da filtração a vácuo também não afetou a concentração de sólidos dissolvidos, apresentando um Cv de 7,65 % em relação à kombucha inicial.

Os sólidos suspensos possuem em média tamanho na ordem de 10^{-5} m e os sólidos dissolvidos na ordem de 10^{-9} m (KIM & ADHIKARI, 2020). A etapa de pré-filtração reteve partados sólidos em suspensão. Segundo Wen-Qiong e colaboradores (2019), a membrana de microfiltração, com poros entre 10^{-7} e 10^{-5} m, permite a retenção da maioria dos sólidos suspensos. Já a membrana de ultrafiltração, com porosidade entre 10^{-9} e 10^{-7} m, além dos sólidos suspensos retém parte dos sólidos dissolvidos.

Testes foram realizados com membrana de microfiltração de náilon em cervejas, que acarretou em uma redução da maior parte dos sólidos suspensos. Já os sólidos dissolvidos não apresentaram variações significativas antes e após o PSM (LEMMA *et al.*, 2015).

Nugraha e colaboradores (2017) realizaram uma pesquisa sobre purificação de bebidas fermentadas de brócolis com membranas de MF com porosidade de cerca de 0,15 μm . O conteúdo de sólidos totais reduziu de 5,60 % para 3,60 %.

5.2.3 Contagem de microrganismos

Foi constatado uma redução na concentração de microrganismos aeróbios mesófilos na kombucha K₂ após os PSM. A redução da quantidade de microrganismos é condizente com a redução observada nos resultados de turbidez para todos os métodos de filtração. A justificativa da maior quantidade de microrganismos na kombucha ultrafiltrada em relação a kombucha microfiltrada segue o fundamento da continuidade da fermentação antes do processo de UF e da complexidade da matriz de kombucha, conforme explicado em 5.2.1. O Cv entre a amostra antes e depois da MF foi de 52,22 %, o que mostrou que os resultados foram estatisticamente diferentes e que a realização desse PSM afetou significativamente a quantidade de microrganismos da kombucha. Já o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 6,66 %, mostrando que não houve variação significativa devido às limitações enfrentadas na UF. O Cv entre a amostra microfiltrada e a amostra ultrafiltrada foi de 46,37 %, o que significa que houve diferença estatística entre os PSM e as concentrações de microrganismos foram significativamente alteradas de acordo com o método de PSM, também devido às limitações da UF. A filtração a vácuo não foi eficiente para reduzir o teor de microrganismos da kombucha, apresentando um Cv de 5,35 % quando comparada com a kombucha inicial.

Mesmo após as filtrações, uma certa quantidade de microrganismos se manteve. Isso é importante para manter as características probióticas da kombucha, pois alguns microrganismos possuem propriedades benéficas quando consumidos em quantidades adequadas (WATAWANA *et al.*, 2015a).

Microrganismos aeróbios mesófilos são aqueles que são ativos em temperatura ambiente. A kombucha é composta por microrganismos que possuem variados tamanhos, com dimensões na ordem de 10^{-5} a 10^{-7} m (KIM & ADHIKARI, 2020; NUGRAHA *et al.*, 2017). As bactérias do ácido acético, por exemplo, são microrganismos aeróbiosmesófilos que possuem cerca de $6 \cdot 10^{-7}$ m a $8 \cdot 10^{-7}$ m de comprimento, sendo em forma de haste reta ou ligeiramente curva. As leveduras são microrganismos maiores, com diâmetro de cerca de $5 \cdot 10^{-6}$ m (RASPOR & GORANOVIC, 2008).

A filtração a vácuo não permitiu a retenção de muitos microrganismos. Com a membrana de microfiltração, com poros entre 10^{-7} e 10^{-5} m, foi possível reter alguns microrganismos, dependendo da sua forma e disposição. Já na membrana de ultrafiltração, com porosidade entre 10^{-9} e 10^{-7} m, a maioria dos microrganismos poderia ter sido retido devido seu tamanho ser superior ao tamanho dos poros da membrana.

Segundo Thurmer (2010), partículas como células de processos fermentativos foram removidas por membranas de MF e UF. Turossi e colaboradores (2021) avaliaram microbiologicamente uma cerveja antes e depois de um processo de MF e observaram a redução de 94,10 % dos microrganismos aeróbios mesófilos com a filtração.

Membranas de microfiltração de náilon já foram utilizadas em testes para remover bactérias patogênicas e para reduzir a concentração microbiana geral de bebidas e, conseqüentemente, aumentar a estabilidade do produto. Nesses testes, células de leveduras foram removidas de bebidas fermentadas para sua recuperação e posterior reaproveitamento. Já as bactérias não foram totalmente removidas, mas sua concentração foi reduzida. A diferença de retenção entre bactérias e leveduras pode ser explicada pelas diferentes formas das células, cuja configuração permite ou não a passagem pelos poros da membrana. As leveduras eram maiores e foram retidas pela membrana (LEMMA *et al.*, 2015).

Estudos de Hassan e colaboradores (2013) apontam a ocorrência de incrustações biológicas reversíveis e irreversíveis em membranas cerâmicas planas de MF, devido ao crescimento de microrganismos na superfície. Os testes foram realizados com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e com a bactéria *Escherichia coli*. Em função do seu tamanho e forma, as células de microrganismos podem ser aprisionadas nos poros da membrana. Nos testes, apenas as bactérias gram-negativas permearam, enquanto as gram-positivas ficaram retidas.

A quantidade de células microbianas da kombucha podem atingir cerca de 10^6 UFC·mL⁻¹. Estudos constataram que o número de leveduras presentes na kombucha supera o número de bactérias. Além disso, o número de células de microrganismos é maior no líquido do que na película celulósica. Em alguns casos, pode ocorrer o aumento da população de bactérias e leveduras durante a fermentação por esses microrganismos terem a capacidade de consumir os substratos disponíveis e prosperar no ambiente fornecido. Em outros casos, há a diminuição da concentração de microrganismos com o tempo devido a inativação dos mesmos (WATAWANA *et al.*, 2015b).

Em um estudo conduzido por Essawet e colaboradores (2015), uma amostra de kombucha foi avaliada microbiologicamente e os resultados obtidos mostraram que a população

viável de leveduras cresceu exponencialmente por 10 dias de fermentação, reduzindo a partir do momento em que os nutrientes se tornaram limitantes e o pH diminuiu. Já as bactérias acéticas aumentaram rapidamente por 4 dias, seguida por redução contínua.

Um estudo desenvolvido por Leonarski e colaboradores (2021) observou um aumento significativo da concentração microbiana do início da fermentação até o 9º dia, indicando a fase de crescimento exponencial. Após, do 9º até o 15º dia, as concentrações de levedura não diferiram estatisticamente, indicando a fase estacionária dos microrganismos. Já as bactérias do ácido acético, do 9º ao 15º dia apresentaram declínio na sua concentração, sugerindo o início da fase de morte celular.

De acordo com Chakravorty e colaboradores (2016), a comunidade microbiana foi mais diversificada no 7º dia de fermentação. Watawana e colaboradores (2016) afirmaram que ocorreu um aumento na população geral de bactérias e leveduras durante a fermentação.

5.2.4 Ácidos orgânicos

Na kombucha K₁, o ácido lático e o ácido glucônico não foram identificados na amostra nem inicialmente nem após as filtrações. Para o ácido acético, o Cv entre a amostra antes e depois da MF foi de 1,78 % e o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 0,59 %. Entre as kombuchas microfiltrada e ultrafiltrada, o Cv foi de 1,19 %. Os resultados comprovaram que não houve diferença estatística nos valores de ácido acético e os PSM não influenciaram significativamente nos resultados. Já a amostra filtrada a vácuo apresentou um Cv de 18,50 % em relação à kombucha inicial. No entanto, essa variação não está relacionada com o processo de filtração.

Para a kombucha K₂, o Cv do ácido acético entre a amostra antes e depois da MF foi de 0,87 % e o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 5,36 %. Entre as kombuchas microfiltrada e ultrafiltrada, o Cv foi de 6,23 %. Os resultados comprovaram que não houve diferença estatística nos valores de ácido acético e os PSM não influenciaram significativamente nos resultados. Já a amostra filtrada a vácuo apresentou um Cv de 59,85 % em relação à kombucha inicial. No entanto, essa variação também não está relacionada com o processo de filtração.

O ácido acético possui tamanho na ordem de 10^{-8} m (KIM & ADHIKARI, 2020), permeando facilmente pelo filtro comum e pelas membranas de MF (poros entre 10^{-7} e 10^{-5} m) e UF (poros entre 10^{-9} e 10^{-7} m) e não sendo retido no processo.

O aumento na concentração de ácido acético nas kombuchas analisadas em relação a kombucha inicial pode estar relacionado com o progresso da fermentação. A amostra inicial foi retirada da garrafa original e armazenada em recipiente fechado sob refrigeração para posterior análise cromatográfica. No mesmo dia, a filtração a vácuo foi realizada e para isso a amostra permaneceu aberta em contato com o ar e em temperatura ambiente, para só ao final do processo ser fracionada para posterior realização da MF e UF e ser colocada sob refrigeração em recipiente fechado. Uma vez que a garrafa é aberta, a aeração e a temperatura favorecem a continuidade da fermentação, enquanto a refrigeração inibe parcialmente. A tendência é que a concentração de ácido acético aumente no decorrer da fermentação, muitas vezes significativamente (GAGGIA *et al.*, 2018). O aumento da concentração de ácido acético se deve ao fato da fermentação continuar ocorrendo ao longo do tempo, havendo a conversão dos açúcares em etanol pelas leveduras e posterior conversão do etanol em ácido acético pelas bactérias (SHAHBAZI *et al.*, 2018).

As concentrações de ácido butírico e ácido propiônico da kombucha K₂ apresentaram redução com a realização dos processos de filtração. Para o ácido propiônico, o Cv entre a amostra antes e depois da MF foi de 6,73 % e o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi também de 6,73 %. O Cv entre a amostra microfiltrada e a amostra ultrafiltrada foi de 0,00 %. Os resultados comprovaram que não houve diferença estatística e os resultados de ácido propiônico não foram significativamente alterados com os PSM. Já a filtração a vácuo apresentou uma variação significativa com Cv de 43,89 % em relação à amostra de kombucha inicial, mas essa variação não está relacionada com o processo de filtração. Para o ácido butírico, o Cv entre a amostra antes e depois da MF foi de 36,05 % e o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 24,60 %, o que mostrou que os resultados foram estatisticamente diferentes e que a realização de PSM afetou significativamente a concentração de ácido butírico da kombucha. O Cv entre a amostra microfiltrada e a amostra ultrafiltrada foi de 11,98 %, o que significa que houve diferença estatística entre os PSM e os resultados foram significativamente alterados de acordo com o método de PSM. A filtração a vácuo também reduziu significativamente a concentração de ácido butírico, apresentando um Cv de 53,32 % quando comparada com a kombucha inicial.

As moléculas de ácido butírico e ácido propiônico são maiores que as de ácido acético e possuem tamanho suficiente para parte delas serem retidas na etapa de pré-filtração (KIM & ADHIKARI, 2020). É importante que no final do processo ainda haja certa quantidade de ácido butírico e ácido propiônico, pois esses dois ácidos orgânicos atuam como pós-bióticos e fornecem benefícios ao organismo (WATAWANA *et al.*, 2015b).

Nugraha e colaboradores (2017) já realizaram estudos aplicando PSM em kombuchas e observaram a retenção de alguns ácidos orgânicos. No Quadro 7 constam algumas concentrações de ácidos orgânicos encontradas em kombuchas em estudos anteriores realizados por diferentes autores. Os resultados diferem de acordo com o tempo de fermentação. As propriedades, composição e concentração dos insumos utilizados também contribuem para a diversidade das concentrações de ácidos encontradas.

Ácido	Concentração (g·L ⁻¹)	Informações adicionais	Referência
Ácido acético	5,72	7º dia de fermentação	CHAKRAVORTY <i>et al.</i> (2016)
	12,53	14º dia de fermentação	CHAKRAVORTY <i>et al.</i> (2016)
	16,57	21º dia de fermentação	CHAKRAVORTY <i>et al.</i> (2016)
	1,83	14º dia de fermentação	ISMAIEL <i>et al.</i> (2016)
	1	15º dia de fermentação	LEONARSKI <i>et al.</i> (2021)
	0,96	3º dia de fermentação	NEFFE-SKOCIŃSKA <i>et al.</i> (2017)
	1,26	7º dia de fermentação	NEFFE-SKOCIŃSKA <i>et al.</i> (2017)
	1,65	10º dia de fermentação	NEFFE-SKOCIŃSKA <i>et al.</i> (2017)
5,6 - 11	-	VILLARREAL-SOTO <i>et al.</i> (2020)	
Ácido glucônico	2,44	7º dia de fermentação	CHAKRAVORTY <i>et al.</i> (2016)
	6,38	14º dia de fermentação	CHAKRAVORTY <i>et al.</i> (2016)
	7,36	21º dia de fermentação	CHAKRAVORTY <i>et al.</i> (2016)
	1,86	14º dia de fermentação	ISMAIEL <i>et al.</i> (2016)
	39	-	VILLARREAL-SOTO <i>et al.</i> (2020)
Ácido glucurônico	0,016	-	VILLARREAL-SOTO <i>et al.</i> (2020)
Ácido láctico	0,702	14º dia de fermentação	ISMAIEL <i>et al.</i> (2016)
	0,18	-	VILLARREAL-SOTO <i>et al.</i> (2020)
Ácido cítrico	2,77	14º dia de fermentação	ISMAIEL <i>et al.</i> (2016)
	1,5	Crescimento linear	LEONARSKI <i>et al.</i> (2021)

Quadro 7. Concentrações de ácidos orgânicos avaliadas em kombuchas por diferentes autores.

5.2.5 pH

A amostra inicial da kombucha K₁ apresentou um pH de 3,19, estando dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira, entre 2,5 e 4,2 (BRASIL, 2019). As kombuchas filtradas permaneceram com valores de pH dentro dos limites legais. A kombucha K₁ não

apresentou modificações significativas no valor de pH após os PSM. O Cv entre a amostra antes e depois da MF foi de 4,98 % e o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 1,91 %. Entre as kombuchas microfiltrada e ultrafiltrada, o Cv foi de 3,07 %. A realização da filtração a vácuo também não afetou significativamente o valor do pH, apresentando um Cv de 2,18 % em relação à kombucha inicial.

A kombucha K₂, cujo pH inicial era de 2,96, também estava de acordo com a legislação antes e após os processos de filtração. A kombucha K₂ não apresentou modificações significativas nos teores de pH após os PSM. O Cv entre a amostra antes e depois da MF foi de 0,70 % e o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 0,47 %. Entre as kombuchas microfiltrada e ultrafiltrada, o Cv foi de 0,23 %. A realização da filtração a vácuo também não afetou o valor do pH, apresentando um Cv de 1,65 % em relação à kombucha inicial. O pH permaneceu com valores aproximados mesmo com o aumento na concentração de ácido acético, o que mostra que o caráter ácido da kombucha se deve a presença de outros ácidos além do ácido acético.

A medição do pH é um fator que controla o curso da fermentação e é usado para determinar o final do processo, pois os valores de pH diminuem durante a fermentação. Isso ocorre devido a produção de ácidos (PURE & PURE, 2016). Além disso, a concentração de íons hidrogênio é um fator que pode ativar ou inibir o desenvolvimento de microrganismos, pois as bactérias e as leveduras presentes na kombucha se desenvolvem em pHs diferentes (NEFFE-SKOCIŃSKA *et al.*, 2017; SHAHBAZI *et al.*, 2018).

Após a finalização da produção da kombucha, o produto ainda continua fermentando até que haja microrganismos insumos disponíveis (KIM & ADHIKARI, 2020). Apesar da fermentação contínua, o pH não apresentou grande variação. Os ácidos orgânicos, que são os principais componentes responsáveis pelo baixo pH da kombucha (PURE & PURE, 2016), possuem tamanho menor que a porosidade da membrana utilizada (KIM & ADHIKARI, 2020), permeando facilmente e não sendo retidos nos PSM.

Apesar do pH tender a reduzir significativamente com o decorrer da fermentação (SHAHBAZI *et al.*, 2018), estudos mostram que após 7 dias de processo, depois de contínuo crescimento, o pH do meio tende a estabilizar (CHAKRAVORTY *et al.*, 2016). Isso ocorre devido ao caráter de tampão adquirido pela kombucha. Durante a fermentação, o dióxido de carbono é liberado e a solução aquosa de CO₂ obtida se dissocia e produz o ânion bicarbonato (HCO₃⁻). Este ânion reage facilmente com os íons hidrogênio (H⁺) dos ácidos orgânicos presentes no meio, inibindo a alteração da concentração de H⁺ e, desse modo, evitando maiores alterações no pH (ESSAWET *et al.*, 2015).

Lemma e colaboradores (2015) realizaram microfiltração em cervejas e observaram que o pH das amostras não variou significativamente antes e depois do processo. Sui e colaboradores (2022) avaliaram os valores de pH de vinhos antes e após um processo de ultrafiltração e não observaram diferenças significativas entre os resultados. Mejia e Yáñez-Fernandez (2021) realizaram estudos de microfiltração em suco de pera. O valor inicial do pH do suco era de 5,97, e após a MF o pH aumentou para 6,72.

Estudos anteriores analisaram o pH de kombuchas e obtiveram valores de 2,0 a 5,3 (KAPP & SUMNER, 2019). Outro estudo encontrou valores de pH variando de 4,5 e 4,8 após 7 dias de fermentação (WATAWANA *et al.*, 2015b). Leonarski e colaboradores (2021) obtiveram um valor de pH inicial para kombucha de 3,3. No 3º dia de fermentação esse valor reduziu para 2,8, e entre o 12º e o 15º dia se manteve em 2,5. Suhre (2020) encontrou em suas pesquisas valores de pH para kombuchas entre 2,5 e 3,5, mostrando não haver variações significativas entre os valores obtidos. Ismaiel e colaboradores (2016) encontraram um valor de pH de 3,14 após 14 dias de fermentação, sendo que o chá inicial não fermentado possuía um pH de 5,0.

Chakravorty e colaboradores (2016) avaliaram o comportamento do pH de amostras de kombucha em diferentes tempos de fermentação. O pH inicial da bebida era de 5,03, após 7 dias era de 2,28, no 14º dia era de 1,98 e ao final de 21 dias era de 1,88, mostrando que a partir do 7º dia o pH tende a estabilizar. Watawana e colaboradores (2016) analisaram amostras de kombucha e obtiveram valores de pH entre 6,0 e 8,0 no início da fermentação e entre 4,0 e 6,0 ao final do 7º dia de processo.

Neffe-Skocińska e colaboradores (2017) avaliaram a influência do tempo e da temperatura de fermentação nos valores de pH de kombuchas. Em 20 °C, o pH inicialmente era de 3,08, em 3 dias diminuiu para 2,85, em 7 dias diminuiu para 2,78 e em 10 dias diminuiu para 2,67. Em uma temperatura de 25 °C o pH inicial era de 3,07, após 3 dias reduziu para 2,80, após 7 dias reduziu para 2,79 e ao final de 10 dias reduziu para 2,77. Em 30°C o pH inicial era de 3,04, em 3 dias de fermentação decresceu para 2,81, em 7 dias decresceu para 2,71 e por fim, após 10 dias, o pH decresceu para 2,63.

5.2.6 Acidez volátil

A acidez volátil inicial da amostra de kombucha K_1 foi de 38,87 mEq·L⁻¹. O parâmetro ficou dentro dos limites estabelecidos pela legislação, de 30 a 130 mEq·L⁻¹ (BRASIL, 2019).

A kombucha K₁ não apresentou alterações significativas na concentração de acidez volátil após os PSM. O Cv entre a amostra antes e depois da MF foi de 1,29 % e o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 2,27 %. Entre as kombuchas microfiltrada e ultrafiltrada, o Cv foi de 3,56 %. A realização da filtração a vácuo também não alterou significativamente a concentração de acidez volátil, apresentando um Cv de 0,47 % em relação à kombucha inicial.

A kombucha K₂, com acidez volátil inicial de 63,62 mEq·L⁻¹, também se mostrou de acordo com a legislação em todas as etapas. A kombucha K₂ não apresentou alterações significativas no teor de acidez volátil após os PSM. O Cv entre a amostra antes e depois da MF foi de 1,14 % e o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 0,28 %. Entre as kombuchas microfiltrada e ultrafiltrada, o Cv foi de 0,85 %. A realização da filtração a vácuo também não afetou significativamente a concentração de acidez volátil, apresentando um Cv de 3,82 % em relação à kombucha inicial. A acidez volátil da kombucha apresentou poucas diferenças antes e após os processos mesmo havendo um aumento na concentração de ácido acético, o que mostra que existem outros ácidos na composição que contribuem no parâmetro de acidez volátil.

Os ácidos voláteis presentes na kombucha são menores que a porosidade das membranas de MF e de UF, e também menores do que os poros do filtro comum utilizado na filtração a vácuo (KIM & ADHIKARI, 2020), permeando durante as filtrações. Os resultados de acidez volátil foram condizentes com os resultados obtidos para pH, pois os ácidos voláteis contribuem no valor do pH da kombucha.

Sui e colaboradores (2022) avaliaram os valores de acidez volátil de vinhos antes e após um processo de ultrafiltração e não observaram diferenças significativas entre os resultados. Cristofoli (2016) realizou análise de acidez volátil em vinhos antes e depois de processos de MF. Os resultados apresentaram pouca variação, comprovando que os PSM não afetaram a concentração de acidez volátil nas amostras.

Estudos de Essawet e colaboradores (2015) mostraram que a acidez volátil aumentou constantemente no decorrer do processo de fermentação, e isso está relacionado a concentração de ácidos orgânicos presentes na kombucha (CHAKRAVORTY *et al.*, 2016). A acidez volátil contribui no valor de pH, e a estabilização dos valores de acidez volátil após decorrido algum tempo da fermentação está relacionada com a característica de tampão adquirida pela bebida (ESSAWET *et al.*, 2015).

5.2.7 Graduação alcoólica

Para a kombucha K₁, a graduação alcoólica inicial foi de 0,539 % (v/v). Considerando os parâmetros descritos pela legislação brasileira (BRASIL, 2019), a bebida está entre a categoria de kombucha não alcoólica, cujo limite é 0,5 % (v/v), e a categoria de kombucha alcoólica, cuja graduação se encontra entre 0,6 % e 8%. Em relação a kombucha filtrada, obteve-se uma graduação alcoólica após a pré-filtração, após a MF e após a UF de 0,680 % (v/v), 0,618 % (v/v) e 0,627 % (v/v), respectivamente. Considerando os parâmetros analíticos da legislação (BRASIL, 2019), a bebida filtrada se enquadra na categoria de kombucha alcoólica. O Cv entre a amostra antes e depois da MF foi de 6,63 % e o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 5,62 %. O Cv entre a amostra microfiltrada e a amostra ultrafiltrada foi de 1,01 %. Os resultados comprovaram que não houve diferença estatística os resultados de teor alcoólico não foram significativamente alterados com os PSM. Já a filtração a vácuo apresentou uma variação significativa com Cv de 16,33 % em relação à amostra de kombucha inicial, mas essa variação não está relacionada com o processo de filtração.

Para a kombucha K₂, a graduação alcoólica inicial foi de 0,733 % (v/v). Em relação a kombucha filtrada, obteve-se uma graduação alcoólica após a pré-filtração, após a MF e após a UF de 1,506 % (v/v), 1,515 % (v/v) e 1,354 % (v/v), respectivamente. Em todas as etapas, a kombucha foi classificada como alcoólica, de acordo com a legislação (BRASIL, 2019). O Cv entre a amostra antes e depois da MF foi de 0,47 % e o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 7,52 %. O Cv entre a amostra microfiltrada e a amostra ultrafiltrada foi de 8,00 %. Os resultados comprovaram que não houve diferença estatística os resultados de teor alcoólico não foram significativamente alterados com os PSM. Já a filtração a vácuo apresentou uma variação significativa com Cv de 48,74 % em relação à amostra de kombucha inicial, mas essa variação não está relacionada com a filtração.

As moléculas de etanol têm tamanho médio na ordem de 10^{-10} m, permeando facilmente pelo filtro comum e pelas membranas de MF (poros entre 10^{-7} e 10^{-5} m) e UF (poros entre 10^{-9} e 10^{-7} m) (KIM & ADHIKARI, 2020).

Omelchenko e colaboradores (2021) avaliaram o grau alcoólico de cervejas antes e depois de um PSM. Os resultados não variaram significativamente, sendo observada uma redução de 1,20 % após a realização da microfiltração. Sui e colaboradores (2022) avaliaram o teor alcoólico de vinhos antes e após a realização de um processo de microfiltração, e não observaram diferenças significativas entre os resultados obtidos.

O aumento da graduação alcoólica em relação ao teor de álcool inicial pode ser explicado pelo andamento da fermentação, enquanto há insumos disponíveis para os microrganismos. Segundo Gaggia e colaboradores (2018), a concentração de etanol pode aumentar durante o processo de fermentação. Levando em consideração a natureza da kombucha, por ser uma bebida fermentada, a produção de etanol a partir dos açúcares é inevitável (KIM & ADHIKARI, 2020). A concentração de etanol tende a aumentar com o andamento da fermentação até cerca de 14 dias após o início do processo fermentativo. Após isso, a tendência é que sua concentração seja reduzida devido ao consumo de etanol pelas bactérias para produção de ácido acético (CHAKRAVORTY *et al.*, 2016).

Considerando que a fermentação não é interrompida enquanto ainda houver açúcares e microrganismos, um aumento na concentração de etanol pode ser observado no momento da compra de uma kombucha, quando comparado ao seu teor alcoólico original. Esse é um dos maiores desafios enfrentados pelos produtores. É importante manter a bebida refrigerada, pois uma kombucha refrigerada a 4 °C tem tendência a produzir menos etanol do que a mesma bebida mantida em temperatura ambiente (SUHRE, 2020). É comum encontrar nas prateleiras kombuchas com teor de etanol maior do que os limites estabelecidos pela legislação, apesar de geralmente o produto ser comercializado como uma bebida não-alcoólica (EBERSOLE *et al.*, 2017).

Kapp e Sumner (2019) analisaram o grau alcoólico de kombuchas e obtiveram valores de 0,7 a 1,3 % (v/v). Concentrações de etanol de 0,697 % (v/v) também foram observadas por Villarreal-Soto e colaboradores (2020). Outros estudos avaliaram a concentração de etanol em kombuchas após 14 dias de fermentação, e os resultados obtidos variaram entre 0,018 e 0,739 % (v/v) (GAGGIA *et al.*, 2018).

Suhre (2020) observou em suas pesquisas teores alcoólicos de 0,58 a 3,02 % (v/v). Amostras de kombucha analisadas por Talebi e colaboradores (2017) mostraram variação no grau alcoólico, variando de 1,1 a 2,0 % (v/v). Foram relatados ainda teores máximos de etanol de 1,153 % (v/v) após 24 dias de fermentação, reduzindo para 0,089 % (v/v) após 62 dias.

Neffe-Skocinska e colaboradores (2017) estudaram o comportamento do etanol em kombuchas em diferentes tempos e temperaturas de fermentação. Inicialmente, no dia zero, não há presença de etanol. Na temperatura de 20 °C, o teor de etanol no 3° dia atingiu 0,393 % (v/v), no 7° dia 0,899 % (v/v) e no 10° dia 1,356 % (v/v). Em 25°C, após 3 dias de fermentação o etanol estava em 0,393 % (v/v), após 7 dias 0,989 % (v/v) e após 10 dias 1,394 % (v/v). Em 30 °C, em 3 dias o etanol apresentou uma concentração 0,279 % (v/v), em 7 dias 0,545 % (v/v) e em 10 dias 0,875 % (v/v).

5.2.8 Açúcares

Na kombucha K₁, o Cv para a glicose entre a amostra antes e depois da MF foi de 0,38 % e o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 0,14 %. O Cv entre a amostra microfiltrada e a amostra ultrafiltrada foi de 0,24 %. Para a frutose, o Cv entre a amostra antes e depois da MF foi de 0,44 % e o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 0,13 %. O Cv entre a amostra microfiltrada e a amostra ultrafiltrada foi de 0,32 %. Os resultados comprovaram que não houve diferença estatística e os valores de monossacarídeos não foram significativamente alterados com os PSM. Já a filtração a vácuo apresentou uma variação significativa com Cv de 18,64 % para a glicose e de 18,94 % para a frutose em relação à amostra de kombucha inicial. Essa variação não está relacionada com o processo de filtração, e sim com a produção contínua de monossacarídeos.

Na kombucha K₂, o Cv para a glicose entre a amostra antes e depois da MF foi de 4,31 % e o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 0,74 %. O Cv entre a amostra microfiltrada e a amostra ultrafiltrada foi de 5,05 %. Para a frutose, o Cv entre a amostra antes e depois da MF foi de 0,43 % e o Cv entre a amostra antes e depois da UF foi de 9,28 %. O Cv entre a amostra microfiltrada e a amostra ultrafiltrada foi de 8,85 %. Os resultados mostram que não houve diferenças estatísticas e os PSM não afetaram significativamente a concentração dos açúcares. Já a filtração a vácuo apresentou uma variação significativa com Cv de 41,71 % para a glicose e 52,27 % para a frutose em relação à amostra de kombucha inicial, o que está relacionado com a produção contínua desses açúcares.

O tamanho das moléculas dos monossacarídeos é na ordem de 10^{-10} a 10^{-9} m (NUGRAHA *et al.*, 2017). Essas moléculas permeiam facilmente pelo filtro comum, pela membrana de MF (poros entre 10^{-7} e 10^{-5} m) e pela membrana de UF (poros entre 10^{-9} e 10^{-7} m). Isso acarreta na preservação de suas concentrações após os processos de filtração. Os açúcares de baixa massa molar, como a glicose e a frutose, podem ser retidos apenas por membranas de osmose inversa (THURMER, 2010).

Cristofoli (2016) realizou um estudo sobre o teor de açúcares redutores em vinhos antes e depois de um processo de MF. Os resultados apresentaram pouca variação, sendo o valor inicial de $2,63 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ e os valores finais variando de $1,73 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ a $2,55 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Nugraha e colaboradores (2017) realizaram uma pesquisa sobre purificação de bebidas fermentadas de brócolis e de espinafre com membranas de MF com porosidade de cerca de $0,15 \mu\text{m}$. O conteúdo de açúcares redutores reduziu de $96,51 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ para $43,38 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ nas bebidas de brócolis, e aumentou de $86,30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ para $116,43 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ nas bebidas de espinafre.

Os açúcares redutores são os açúcares que, em soluções básicas, apresentam grupos de aldeídos ou cetonas livres capazes de sofrer oxidação. A glicose e a frutose, além dos demais monossacarídeos e de alguns dissacarídeos, são classificados como açúcares redutores. O aumento inicial na concentração dos açúcares pode ser atribuído pela hidrólise da sacarose (ISMAIEL *et al.*, 2016). Como a kombucha foi saborizada com frutas vermelhas, os açúcares contidos nas frutas serviram como fonte de carbono para a continuidade da fermentação. Então, à medida que a fermentação seguiu, as concentrações de glicose e frutose no meio aumentaram. Entretanto, as leveduras utilizam a glicose e a frutose disponíveis como fonte para produzir etanol, então a tendência é a concentração desses açúcares reduzir com o tempo (CHAKRAVORTY *et al.*, 2016).

As concentrações finais de cada monossacarídeo podem diferir de uma fermentação para outra, pois as vias metabólicas não ocorrem sempre da mesma forma. A espécie e a atividade metabólica dos microrganismos têm influência determinante nas conversões dos açúcares durante a fermentação (ISMAIEL *et al.*, 2016). Foi relatado na literatura, por análises das rotas fermentativas, que grande parte dos microrganismos envolvidos na fermentação preferem a frutose em relação à glicose como fonte de alimentação para produção de etanol, resultando em uma metabolização mais rápida da frutose (KIM & ADHIKARI, 2020; VAZQUEZ-CABRAL *et al.* 2017). Algumas leveduras do gênero *Saccharomyces* têm preferência por glicose como fonte de alimento, enquanto outras do gênero *Zygosaccharomyces* preferem a frutose. As cepas de AAB preferem glicose à frutose (SANTOS, 2016).

Segundo pesquisas anteriores, as concentrações de glicose e frutose apresentaram aumento durante o processo de fermentação (GAGGIA *et al.*, 2018). Além disso, nem toda quantidade de monossacarídeos foi fermentada durante o processo. Isso dependeu principalmente dos microrganismos envolvidos e das condições de fermentação (NUGRAHA *et al.*, 2017).

Leonarski e colaboradores (2021) realizaram um estudo da cinética do consumo de açúcar durante a fermentação de kombuchas e observaram um baixo consumo de açúcar pelos microrganismos. Nesse estudo, 20,6 % dos açúcares totais foram consumidos, correspondendo a 24,3 % de glicose e 17,1 % de frutose.

Estudos anteriores analisaram a concentração de açúcares remanescentes em kombuchas após 7 dias e 14 dias de fermentação e verificaram que a concentração de monossacarídeos aumentou com o tempo de processo. A glicose no 7º dia variou entre 8,60 e 11,40 g·L⁻¹, e no 14º dia variou entre 15,12 e 18,10 g·L⁻¹. A frutose após 7 dias atingiu

concentrações de 4,07 a 5,12 g·L⁻¹, e após 14 dias atingiu concentrações de 5,50 a 8,83 g·L⁻¹ (GAGGIA *et al.*, 2018).

Um estudo conduzido por Villarreal-Soto e colaboradores (2020) mostrou que a frutose foi menos metabolizada do que a glicose durante o processo fermentativo de kombucha. Uma explicação para isso é que a glicose é preferível como fonte para a biossíntese de celulose e para a produção de ácidos orgânicos. Damini e colaboradores (2021) obtiveram resultados semelhantes. Após 10 dias de fermentação, a kombucha analisada continha 2 g·L⁻¹ de glicose e 3,25 g·L⁻¹ de frutose, sugerindo que a glicose foi consumida mais rapidamente que a frutose.

Chakravorty e colaboradores (2016) avaliaram o comportamento do teor de açúcares redutores de amostras de kombucha em diferentes tempos de fermentação. A concentração inicial foi de 6,8 g·L⁻¹, após 7 dias aumentou para 8,2 g·L⁻¹, no 14º dia reduziu para 3,5 g·L⁻¹ e ao final de 21 dias reduziu para 2,25 g·L⁻¹. O aumento inicial no teor de açúcar pode ser atribuído a hidrólise da sacarose em glicose e frutose. Com o progresso da fermentação, os monossacarídeos foram consumidos para produzir etanol, justificando a redução na concentração.

Neffe-Skocinska e colaboradores (2017) estudaram o comportamento dos açúcares em kombuchas em diferentes tempos e temperaturas de fermentação. A sacarose, em todas as temperaturas avaliadas, apresentou um grande decréscimo desde o dia zero até o 10º dia de fermentação. Na temperatura de 20 °C, o teor de glicose no início era de 0,8 g·L⁻¹, no 3º dia atingiu 2,7 g·L⁻¹, no 7º dia 19,6 g·L⁻¹ e no 10º dia 33,4 g·L⁻¹. Na temperatura de 20 °C, o teor de frutose no início era de 0,9 g·L⁻¹, no 3º dia atingiu 2,3 g·L⁻¹, no 7º dia 17,7 g·L⁻¹ e no 10º dia 27,4 g·L⁻¹. Em 25°C, a frutose inicial estava em 1,2 g·L⁻¹ após 3 dias de fermentação estava em 7,3 g·L⁻¹, após 7 dias 20,2 g·L⁻¹ e após 10 dias 30,9 g·L⁻¹. Em todas as temperaturas avaliadas, o conteúdo de frutose foi menor do que a glicose, sugerindo que a frutose foi preferível como fonte de carbono pelas células de levedura.

5.2.9 Avaliação organoléptica

A Figura 20 e a Figura 21 permitem a comparação visual entre a kombucha inicial bruta (1), a kombucha após passar pelo processo de filtração a vácuo (2), após o PSM de MF (3) e após o PSM de UF (4) para as kombuchas K₁ e K₂, respectivamente



Figura 20. Fotografia da amostra de kombucha K_1 inicial (1), após filtração a vácuo (2), após MF (3) e após UF (4).



Figura 21. Fotografia da amostra de kombucha K_2 inicial (1), após filtração a vácuo (2), após MF (3) e após UF (4).

Visualmente, a kombucha K_1 inicial apresentou uma cor forte, turva e com sólidos suspensos aparentes. Após a filtração à vácuo, a coloração e a turbidez aparentes se mantiveram. Após a MF, apresentou uma diferença muito perceptível, com uma coloração mais clara e límpida e sem sólidos visíveis. Após a UF, a kombucha era ainda mais clara e mais límpida, sem turbidez e sólidos aparentes. O aspecto visual da kombucha K_1 condiz com a maioria dos resultados obtidos de turbidez e sólidos suspensos, que reduziram de forma decrescente com a filtração a vácuo, a MF e a UF. Os valores de turbidez e sólidos suspensos mais baixos obtido para a kombucha filtrada a vácuo em relação a amostra inicial não foram observados visualmente, visto que as amostras apresentaram aparência semelhante. A concentração de

sólidos suspensos semelhantes na amostra filtrada a vácuo e na amostra microfiltrada não foi observada visualmente, visto que a aparência da kombucha microfiltrada era mais límpida.

Visualmente, a kombucha K₂ inicial também apresentou uma cor forte, turva e com sólidos suspensos aparentes. Após a filtração à vácuo, a coloração, a turbidez e os sólidos aparentes se mantiveram. Após a MF, apresentou uma diferença na coloração, que ficou um pouco mais clara e límpida e com menos sólidos visíveis. Após a UF a kombucha estava mais ainda mais clara, porém com uma maior turbidez e sólidos suspensos aparentes. Os resultados condizem com os resultados obtidos de turbidez e sólidos suspensos, exceto para a filtração a vácuo que não foi observada diferença visual.

As características e propriedades organolépticas da kombucha devem ser preservadas mesmo após os processos de filtração. Alguns dos compostos responsáveis pela coloração e turbidez da kombucha possuem um tamanho maior que os poros do filtro comum e das membranas de MF e UF utilizadas, ficando retidos e sendo retirados da bebida. Os sólidos suspensos e dissolvidos são os principais componentes responsáveis por essas características (KIM & ADHIKARI, 2020). Após os processos de filtração houve redução nas concentrações de sólidos suspensos, ocasionando em uma bebida mais clarificada, conforme pode ser observado nas imagens.

A degradação dos polifenóis complexos em pequenas moléculas acarreta em um escurecimento da kombucha no decorrer da fermentação, porque ocorre a polimerização progressiva desses compostos fenólicos para formar moléculas de cor marrom. Porém, ao longo do tempo, pode ocorrer um clareamento progressivo da cor causado por alterações microbianas dos polifenóis em ambiente ácido por enzimas liberadas por bactérias e leveduras. Os polifenóis possuem tamanho de partículas na faixa de 10^{-9} a 10^{-8} m (ANSARI *et al.*, 2017).

Muitos compostos que podem ser responsáveis pela coloração da bebida possuem tamanho menor que os poros do filtro comum utilizado na filtração a vácuo, por isso não foram retidos na etapa de pré-filtração e conferiram à bebida um aspecto semelhante ao inicial. Já alguns deles possuem tamanho maior que os poros das membranas de MF e UF, ficando retidos e modificando as características e propriedades sensoriais das kombuchas após os PSM.

Algumas membranas mantêm as propriedades físicas de cor, sabor, aroma e nutrição de alimentos líquidos sem deteriorar sua qualidade. É recomendada a utilização de membranas com porosidade igual ou superior a 10^{-7} m para clarificação e pasteurização de bebidas para evitar modificações nas propriedades organolépticas. Membranas de UF tendem a reduzir a coloração das bebidas devido a retenção de compostos responsáveis pela cor, enquanto a MF geralmente não altera esse parâmetro (WEN-QIONG *et al.*, 2019).

Rosária e colaboradores (2022) realizaram um estudo de microfiltração em vinhos e avaliaram as características organolépticas. Foi observado que não houve diferenças significativas na cor das bebidas após o processo de filtração, reduzindo entre 1,1 % e 5,3 % a intensidade da cor, apesar de haver retenção de alguns compostos coloidais responsáveis pela cor dos vinhos tintos.

Cristofoli (2016) realizou MF em vinhos e observou que as amostras microfiltradas eram mais límpidas e mais claras em comparação com o vinho inicial. Mejia e Yáñez-Fernandez (2021) realizaram estudos de microfiltração em suco de pera e obtiveram uma bebida visualmente mais clarificada e muito mais límpida.

Watawana e colaboradores (2015b) observaram escurecimento na cor das kombuchas analisadas por eles ao longo do tempo, e as mudanças foram associadas a transformação dos polifenóis. Um estudo conduzido por Amarasinghe e colaboradores (2018) mostrou que a kombucha analisada mudou de clara para turva ao final de 8 semanas. O aumento da turbidez, às vezes ocorrida ao final da primeira de semana de fermentação, pode indicar uma maior quantidade de celulose e outros materiais fibrosos que possam estar sendo liberados para o caldo.

De forma geral, a realização das filtrações promoveu um aprimoramento da kombucha no quesito visual. A MF impactou menos do que a UF nas características visuais, sendo o método mais adequado para aplicação. A escolha por uma bebida visualmente mais límpida em relação a uma bebida mais turva é uma opção para alguns consumidores. Levando em consideração os demais parâmetros avaliados, as propriedades nutricionais e benéficas da kombucha permaneceram inalteradas após os processos, garantindo os padrões de identidade e qualidade.

5.3 INSERÇÃO DA ETAPA DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS NA FILTRAÇÃO DE KOMBUCHAS

A sugestão de aplicação do processo de separação por membranas na produção de kombuchas é após a etapa da primeira fermentação. Os resultados obtidos foram semelhantes após as duas fermentações, porém em termos de logística é mais fácil e viável a inclusão de um processo antes da bebida ser engarrafada. É importante que o PSM remova apenas parcialmente os microrganismos e os insumos disponíveis para que a segunda fermentação possa ocorrer. A Figura 22 ilustra o processo produtivo de kombuchas com a etapa do PSM incluso.

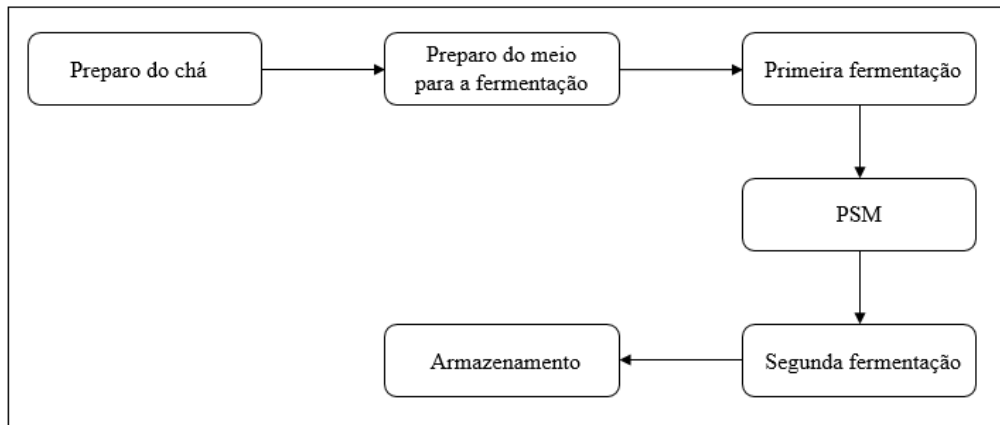


Figura 22. Etapas do processo produtivo da kombucha com a inclusão do PSM.

6 CONCLUSÃO

O estudo sobre a aplicação de processos de separação por membranas para filtração de kombuchas permitiu a união de uma tecnologia de separação muito explorada industrialmente com um produto em ascensão no mercado de bebidas. O estudo proporcionou um grande entendimento sobre as propriedades e benefícios da kombucha. Paralelamente, possibilitou a compreensão do funcionamento dos PSM como um todo.

No que se refere à caracterização das membranas, a membrana de UF avaliada apresentou permeabilidade hidráulica semelhante a teórica fornecida pelo fabricante, enquanto a membrana de MF apresentou um valor maior que o teórico, possivelmente devido a uma descompactação da membrana. Em relação ao fluxo de kombucha permeada, nas duas membranas houve uma redução do fluxo com o tempo em cada pressão avaliada individualmente, devido à polarização por concentração e a formação de *fouling* pela fonte de alimentação cada vez mais concentrada.

Os processos de microfiltração e ultrafiltração foram eficazes na redução da concentração de sólidos suspensos, da quantidade de microrganismos e do teor de turbidez das amostras de kombucha analisadas. Isso se deve ao fato desses componentes possuírem tamanho maior do que os poros das membranas e terem ficado retidos nos processos.

A realização dos processos de MF e UF não alterou significativamente os parâmetros avaliados de sólidos dissolvidos, ácido acético, ácido propiônico, ácido butírico, pH, acidez volátil, graduação alcoólica, glicose e frutose das amostras de kombucha analisadas, garantindo as propriedades benéficas funcionais da bebida. Os componentes responsáveis por essas propriedades são menores do que os poros do filtro e das membranas e permearam com a amostra. Em relação às propriedades sensoriais, as kombuchas filtradas se apresentam visualmente mais claras e límpidas, condizendo com a maioria dos resultados obtidos dos parâmetros analíticos.

De modo geral, a filtração de kombuchas por membranas pode ser considerada uma alternativa para clarificação da bebida. A microfiltração se mostrou uma opção melhor do que a ultrafiltração, pelas kombuchas microfiltradas terem sofrido impactos menores nas suas características visuais. A sugestão é a aplicação de PSM após a primeira fermentação. Para aplicação industrial desses processos, é importante levar em consideração o público alvo e o impacto que o sabor mais fraco geraria no público consumidor.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Reavaliar os resultados após determinados períodos de tempo, para prever um possível prazo de validade da kombucha.

Avaliar a segunda fermentação após a kombucha ter passado por PSM e parte dos microrganismos terem sido removidos.

Executar os PSM simultaneamente, a fim de que o processo de fermentação não influencie nos resultados obtidos.

REFERÊNCIAS

줄리안 오베이도 바스퀘즈 크리스찬 범이슬. (2018). Kombucha manufacturing method. **South Korea Patent** 0, 138, 066.

ALBANO, F. M.; RAYA-RODRIGUEZ, M. T. **Validação e garantia da qualidade de ensaios laboratoriais**: Guia prático. Rede Metrológica, 136 p., 2015.

ALENCAR, B. F.; SOUZA, J. C.; OLIVEIRA, J. G. P.; SILVA, I. C. S.; BARBOSA, J. P.; TRINDADE, D. P. A.; NUNES, G. L.; TETTE, P. A. S. Adequação de rótulos de kombuchas comercializadas no Brasil. **Tecnologia de Alimentos: tópicos físicos, químicos e biológicos**. Artmed: v. 1, p. 42-58, 2005.

AMARASINGHE, H.; WEERAKKODY, N. S.; WAISUNDARA, V. Y. Evaluation of physicochemical properties and antioxidant activities of kombucha “tea fungus” during extended periods of fermentation. **Journal of Food Science & Nutrition**: v. 6, p. 659-665, 2018.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (SMWW)**. Métodos 2540-C e 2540-D. 23 ed. LMC – Pharmabooks, 1504 p., 2017.

ANSARI, F.; POURJAFAR, H.; ESMAILPOUR, S. Study on citric acid production and antibacterial activity of kombucha green tea beverage during production and storage. **Annual Research & Review in Biology**: v. 16, p. 1-8, 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE KOMBUCHA (ABKOM). 2022. Disponível em: <<https://abkom.org.br/>>. Acesso em: 09 fev. 2022.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR ISO 4833-2**: Microbiologia da cadeia produtiva de alimentos - Método horizontal para a enumeração de microrganismos. 1 ed. 2015. 13 p.

BRASIL (2005). Instrução Normativa nº 24, de 8 de setembro de 2005. Aprova o manual operacional de bebidas e vinagres. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Cad 04 - Fermentados Alcoólicos; Cad 07 - Não Alcoólicos. Ed. 181, seção 1, p. 13.

BRASIL (2019). Instrução Normativa nº 41, de 17 de setembro de 2019. Estabelece o padrão de identidade e qualidade da kombucha em todo o território nacional. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

BRASIL (2018). Resolução da Diretoria Colegiada nº 241, de 26 de julho de 2018. Dispõe sobre os requisitos para comprovação de segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos. Ministério da Saúde – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ed. 144, seção 1, p. 97.

BHATTACHARYA, D.; BHATTACHARYA, S.; PATRA, M. M.; CHAKRAVORTY, S.; SARKAR, S.; CHAKRABORTY, W.; KOLEY, H.; GACHHUI, R. Antibacterial activity of

polyphenolic fraction of kombucha against enteric bacterial pathogens. **Current Microbiology**: v. 73, p. 885-896, 2016.

BRUSCHI, J. S.; SOUSA R. C. S.; MODESTO, K.R. O ressurgimento do chá de kombucha. **Revista de Iniciação Científica e Extensão**: v. 1, p. 162-168, 2018.

CADORE, I. R. **Efeito das condições hidrodinâmicas no desempenho de um biorreator com membranas submersas em pressão constante**. 2015. 108f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015 .

CHAKRAVORTY, S.; BHATTACHARYA, S.; CHATZINOTAS, A.; CHAKRABORTY, W.; BHATTACHARYA, D.; GACHHUI, R. Kombucha tea fermentation: microbial and biochemical dynamics. **International Journal of Food Microbiology**: v. 220, p. 63-72, 2016.

CHEN, G.; UMATHEVA, U.; ALFORQUE, L.; SHIRATAKI, H.; OGAWA, S.; KATO, C.; GHOSH, R. An annular-flow, hollow-fiber membrane chromatography device for fast, high-resolution protein separation at low pressure. **Journal of Membrane Science**: v. 590, p. 117305-117312, 2019.

COSTER, H. G. L.; FARAHANI, T. D.; CHILCOTT, T. C. (2018). Membrane and membrane separation system. **United States Patent** 9, 901, 881.

CRISTOFOLI, K. **Clarificação de vinho branco por microfiltração utilizando diferentes membranas cerâmicas e compósitas**. 2016. 120f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2016.

DAMIN, B. I. S.; GAMBA, V.; DETTMER, A.; COLLA, L. M. The Kombucha phenomenon: production aspects, health benefits, and food safety issues. **Brazilian Journal of Development**: v. 7, p. 75548-75566, 2021.

DANELUZ, J.; BALDASSO, C.; SANTOS, V.; SILVA, G. F.; DUARTE, J.; TUROSSI, T. C.; TIESEN, S. M. C. Processo de separação por membranas aplicado na filtração de kombuchas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos: pesquisas e práticas contemporâneas**: v. 2, p. 639-655, 2021.

DIMIDI, E.; COX, S. R.; ROSSI, M.; WHELAN, K. Fermented foods: definitions and characteristics, impact on the gut microbiota and effects on gastrointestinal health and diseases. **Nutrients**: v. 11, p. 1806-1832, 2019.

EBERSOLE, B.; LIU, Y.; SCHMIDT, R.; ECKERT, M.; BROWN, P. N. Determination of ethanol in kombucha products: single-laboratory validation. **Journal of AOAC International**: v. 100, p. 732-736, 2017.

ESSAWET, N. A.; CVETKOVIC, D.; VELICANSKI, A.; CANAANOVIC-BRUNET, J.; VULIC, J.; MAKSIMOVIC, V.; MARKOV, S. Polyphenols and antioxidant activities of kombucha beverage enriched with coffeeberry[®] extract. **Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly**: v. 21, p. 399-409, 2015.

FAVERO, D. **Obtenção de micro e nanocelulose para preparação de membranas poliméricas como barreira seletiva**. 2014. 96f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2014.

GAGGIA, F.; BAFFONI, L.; GALIANO, M.; NIELSEN, D. S.; JAKOBSEN, R. R.; CASTRO-MEJÍA, J. L.; BOSI, S.; TRUZZI, F.; MUSUMECI, F.; DINELLI, G.; GIOIA, D. Kombucha beverage from green, black and rooibos teas: a comparative study looking at microbiology, chemistry and antioxidant activity. **Nutrients**: v. 11, p. 1699-1709, 2018.

GHIGGI, F. F. **Preparo e caracterização de membranas de ultrafiltração de polietersulfona/ftaloilquitosana com propriedade antifouling**. 2014. 112f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014 .

GOOGLE TRENDS. Disponível em: <<https://trends.google.com.br/trends/?geo=BR>>. Acesso em: 04 jan. 2022.

HASSAN, I. B.; ENNOURI, M.; LAFFORGUE, C.; SCHMITZ, P.; AYADI, A. Experimental study of membrane fouling during crossflow microfiltration of yeast and bacteria suspensions: towards an analysis at the microscopic level. **Membranes**: v. 3, p. 44-68, 2013.

INTERNATIONAL ORGANIZATION OF VINE AND WINE (OIV). **Compendium of international methods of wine and must analysis**. Método OIV-MA-AS313-02. V. 1, 673 p., 2021.

ISMAIEL, A. A.; BASSYOUNI, H. R.; KAMEL, Z.; GABR, S. M. Detoxification of patulin by kombucha tea culture. **Journal of Food**: v. 14, p. 271-279, 2016.

JANG, H.; SONG, D. H.; KIM, I. C.; KWON, Y. N. Fouling control through the hydrophilic surface modification of poly(vinylidene fluoride) membrane. **Journal of Applied Polymer Science**: v. 132, p. 41712-41719, 2015.

JARDIM, F. B. B. **Desenvolvimento de bebida láctea probiótica carbonatada: características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais**. 2012. 136f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Araraquara, 2012.

KAPP, J. M.; SUMNER, W. Kombucha: a systematic review of the empirical evidence of human health benefit. **Annals of Epidemiology**: v. 30, p. 66-70, 2019.

KHOSRAVI, M.; HOSSEINI, S. M.; VATANPUR, V. Performance improvement of PES membrane decorated by Mil-125(Ti)/chitosan nanocomposite for removal of organic pollutants and heavy metal. **Chemosphere**: v. 290, p. 133335-133349, 2022.

KIM, J.; ADHIKARI, K. Current trends in kombucha: marketing perspectives and the need for improved sensory research. **Beverages**: v. 6, p. 15-34, 2020.

KOMBUCHA BREWERS INTERNATIONAL (KBI). 2022. Disponível em: <<https://kombuchabrewers.org/>>. Acesso em: 09 fev. 2022.

- KUMAR, R.; ISMAIL, A. F. Fouling control on microfiltration/ultrafiltration membranes: Effects of morphology, hydrophilicity, and charge. **Journal of Applied Polymer Science**: v. 132, p. 42042-42062, 2015.
- LEAL, J. M.; SUÁREZ, L. V.; JAYABALAN, R.; OROS, J. H.; ABURTO, A. E. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. **Journal of Food**: v. 16, p. 390-399, 2018.
- LEMMA, S. M.; ESPOSITO, A.; MASON, M.; BRUSETTI, L.; CESCO, S.; SCAMPICCHIO, M. Removal of bacteria and yeast in water and beer by nylon nanofibrous membranes. **Journal of Food Engineering**: v. 157, p. 1-6, 2015.
- LEONARSKI, E.; CESCO, K.; BORGES, O. M. A.; OLIVEIRA, D.; POLETTO, P. Typical kombucha fermentation: kinetic evaluation of beverage and morphological characterization of bacterial cellulose. **Journal of Food Processing and Preservation**: v. 45, p. 1-9, 2021.
- MARTINI, N. Kombucha: potion or poison? **Journal of Primary Health Care**: v. 10, p. 93-94, 2018.
- MEJIA, J. A. A.; YÁÑEZ-FERNANDEZ, J. Clarification processes of orange prickly pear juice (*Opuntia* spp.) by microfiltration. **Membranes**: v. 11, p. 354-366, 2021.
- NEFFE-SKOCIŃSKA, K.; SIONEK, B.; ŚCIBISZ, I.; KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA, D. Acid contents and the effect of fermentation condition of kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. **Journal of Food**: v. 15, p. 601-607, 2017.
- NOGUEIRA, A.; PRESTES, R. A.; SIMÕES, D. R. S.; DRILLEAU, J. F.; WOSIACKI, G. Análise dos indicadores físico-químicos de qualidade da sidra brasileira. **Semina: Ciências Agrárias**: v. 24, p. 289-298, 2003.
- NUGRAHA, T.; SUSILOWATI, A.; ASPIYANTO; LOTULUNG, P. D.; MARYATI, Y. Characterization of biomasses, concentrates, and permeates of dried powder of Kombucha fermentation of spinach (*Amaranthus* sp.) and broccoli (*Brassica oleracea*) with membrane microfiltration and freeze drying techniques for natural sources of folic acid. In: International Symposium on Applied Chemistry, 3., 2017, Jakarta. **Anais... AIP Conference Proceedings**, v. 1904. Jakarta, 2017.
- OMELCHENKO, O.; DEYNICHENKO, G.; HUZENKO, V.; ZOLOTUKHINA, I.; DMYTREVSKY, D.; CHERVONYI, V.; HORIELKOV, D.; MELNIK, O.; KOROLENKO, O.; TSVIRKUN, L. Determining the influence of membrane treatment process on the quality indicators of beer. **Eastern-European Journal of Enterprise Technologic**: v. 4, p. 66-72, 2021.
- PENTAIR. **Separação por membrana**. 2020. Disponível em: <<https://xflow.pentair.com/pt-pt/spectrum/membrane-technology-in-general/membrane-separation>>. Acesso em: 25 mai. 2020.

PERSSON, K. M.; GEKAS, V.; TRAGARDH, G. Study of membrane compaction and its influence on ultrafiltration water permeability. **Journal of Membrane Science**: v. 100, p. 155-162, 1995.

PINTO, D. M. G.; BARROS, S. T. D.; BARROS JR., C.; OLIVEIRA, R. C.; COSTA, S. C. Clarificação de vinho branco por ultrafiltração utilizando membranas cerâmicas. **Brazilian Journal of Food Technology**: v. 11, p. 305-312, 2008.

PURE, A. E.; PURE, M. E. Antioxidant and antibacterial activity of kombucha beverages prepared using banana peel, common nettles and black tea infusion. **Applied Food Biotechnology**: v. 3, p. 125-130, 2016.

QUIMIS. **Sistema de filtração**. 2021. Disponível em:
<<https://quimis.com.br/produtos/detalhes/sistema-de-filtracao>>. Acesso em: 05 set. 2021.

RALL, D.; SCHWEIDTMANN, A. M.; AUMEIER, B. M.; KAMP, J.; KARWE, J.; OSTENDORF, K.; MITSOS, A.; WESSLING, M. Simultaneous rational design of ion separation membranes and processes. **Journal of Membrane Science**: v. 600, p. 117860-117870, 2020.

RASPOR, P.; GORANOVIC, D. Biotechnological applications of acetic acid bacteria. **Critical Reviews in Biotechnology**: v. 28, p. 101-124, 2008.

RIQUETTE, R. F. R. **Bebidas fermentadas probióticas à base de extrato hidrossolúvel de soja adicionadas de mel de abelha: desenvolvimento, avaliação sensorial e determinação da vida de prateleira**. 2013. 173f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

ROSÁRIA, M.; OLIVEIRA, M.; CORREIA, A. C.; JORDÃO, A. M. Impacto f cross-flow and membrane plate filtrations under winery-scale conditions on phenolic composition, chromatic characteristics and sensory profile of different red wines. **Processes**: v. 10, p. 284-304, 2022.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**: v. 42, p. 1-16, 2016.

SANTOS, M. J. **Kombucha: caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração**. 2016. 119f. Dissertação (Mestrado em Ciências Gastronômicas) – Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2016.

SCOPUS. **Análise dos resultados de pesquisa**. 2021. Disponível em:
<<https://www.scopus.com/home.uri>>. Acesso em: 05 set. 2021.

SCHMILDT, E. R.; SILVA, W.; AMBROSIO, T. J.; SCHMIDT, O.; NASCIMENTO, A. L.; FERNANDES, A. A. Coeficiente de variação como medida da precisão em experimentos de alface. **Revista Brasileira de Agroambiente**: v. 11, p. 290-295, 2017.

SHAHBAZI, H.; GAHRUIE, H. H.; GOLMAKANI, M. T.; ESKANDARI, M. H.; MOVAHEDI, M. Effect of medicinal plant type and concentration on physicochemical,

antioxidant, antimicrobial, and sensorial properties of kombucha. **Food Science & Nutrition**: v. 6, p. 2568-2577, 2018.

SOTO, S. A. V.; BEAUFORT, S.; BOUAJILA, J.; SOUCHARD, J. P.; TAILLANDIER, P. Understanding kombucha tea fermentation: a review. **Journal of Food Science**: v. 83, p. 580-588, 2018.

SOUSA, S. F.; TORRES, L. N.; BEZERRA FILHO, W. F. S.; BARROS, M. C. L. B. Perfil dos consumidores de kombucha. In: Congresso Internacional da Agroindústria, 1., 2020, Recife. **Anais...** Recife, 2020.

SOUTO, K. M.; SILVA, A. A.; SILVA, A. A.; CARVALHO, L. H.; COSTA, A. C. F. M.; LIRA, H. L. Classificação de membranas cerâmicas e poliméricas quanto à faixa de porosidade utilizando um sistema de separação óleo/água em escala de laboratório. **Revista Matéria**: v. 10, p. 437-446, 2005.

SOUZA, B.; BOSSARDI, F.; FURLAN, G.; BORGES FOLLE, A.; REGINATTO, C.; POLIDORO, T.; CARRA, S.; SILVEIRA, M.; MALVESSI, E. Validated high-performance liquid chromatographic (hplc) method for the simultaneous quantification of 2,3-butanediol, glycerol, acetoin, ethanol, and phosphate in microbial cultivations. **Analytical Letters**: v. 54, p. 1-16, 2021.

SUHRE, T. **Kombuchas produzidas e comercializadas no Brasil: características físico-químicas e composição microbiana**. 2020. 64f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2020.

SUI, Y.; WOLLAN, D.; MCRAE, J.; MUHLACK, R.; TUKE, J.; WILKINSON, K. Impact of commercial scale ultrafiltration on the composition of white and rosé wine. **Separation and Purification Technology**: v. 284, p. 120227-120235, 2022.

TALEBI, M.; FRINK, L. A.; PATIL, R. A.; ARMSTRONG, D. W. Examination of the varied and changing ethanol content of commercial kombucha products. **Food Analytical Methods**: v. 10, p. 4062-4067, 2017.

TANIS-KANBUR, M. B.; PEINADOR, R. I.; HU, X.; CALVO, J. I.; CHEW, J. W. Membrane characterization via evaporimetry (EP) and liquid displacement porosimetry (LLDP) techniques. **Journal of Membrane Science**: v. 586, p. 248-258, 2019.

THURMER, M. B. **Preparação e caracterização de membranas poliméricas de poli(fluoreto de vinilideno) para uso em nanofiltração**. 2010. 102f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2010.

TRUBYANOV, M. M.; SHABLYKIN, D. N.; MOKHNACHEV, N. A.; SERGEEVA, M. S.; VOROTYNTSEV, A. V.; PETUKHOV, A. N.; VOROTYNTSEV, V. M. A hybrid batch distillation/membrane process for high purification - part 1: energy efficiency and separation performance study for light impurities removal. **Separation and Purification Technology**: v. 241, p. 116678-116689, 2020.

TUROSSI, T. C. **Avaliação da microfiltração como alternativa à clarificação e pasteurização de cerveja artesanal tipo IPAd.** 2021. 67f. Monografia (Graduação em Engenharia Química) – Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2021.

URKIAGA, A.; FUENTES, L. L.; ACILU, M.; URIARTE, J. Membrane comparison for wine clarification by microfiltration. **Desalination:** v. 148, p. 115-120, 2002.

VÁZQUEZ-CABRAL, B. D.; LARROSA-PÉREZ, M.; GALLEGOS-INFANTE, J. A.; MORENO-JIMÉNES, M. R.; GONZÁLEZ-LAREDO, R. F.; RUTIAGA-QUIÑONES, J. G.; GAMBOA-GÓMEZ, C. I.; ROCHA-GUZMÁN, N. E. Oak kombucha protects against oxidative stress and inflammatory processes. **Chemico-Biological Interactions:** v. 272, p. 1-9, 2017.

VILLARREAL-SOTO, S. A.; BOUAJILA, J.; PACE, M.; LEECH, J.; COTTER, P. D.; SOUCHARD, J. P.; TAILLANDIER, P.; BEAUFORT, S. Metabolome-microbiome signatures in the fermented beverage kombucha. **International Journal of Food Microbiology:** v. 333, p. 108778-108791, 2020.

VIRTANEN, T.; PARKKILA, P.; KOIVUNIEMI, A.; LAHTI, J.; VIITALA, T.; KALLIOINEN, M.; MANTTARI, M.; BUNKER, A. Characterization of membrane-foulant interactions with novel combination of Raman spectroscopy, surface plasmon resonance and molecular dynamics simulation. **Separation and Purification Technology:** v. 205, p. 263-272, 2018.

VITAS, J. S.; CVETANOVIC, A. D.; MASKOVIC, P. Z.; SVARC-GAJIC, J. V.; MALBASA, R. V. Chemical composition and biological activity of novel types of kombucha beverages with yarrow. **Journal of Functional Foods:** v. 44, p. 95-102, 2018.

WATAWANA, M. I.; JAYAWARDENA, N.; CHOO, C.; WAISUNDARA, V. Y. Application of the kombucha ‘tea fungus’ for the enhancement of antioxidant and starch hydrolase inhibitory properties of ten herbal teas. **Food Chemistry:** v. 194, p. 304-311, 2016.

WATAWANA, M. I.; JAYAWARDENA, N.; GUBAWARDHANA, C. B.; WAISUNDARA, V. Y. Health, wellness, and safety aspects of the consumption of kombucha. **Journal of Chemistry:** v. 2015, p. 1-11, 2015a.

WATAWANA, M. I.; JAYAWARDENA, N.; RANASINGHE, S. J.; WAISUNDARA, V. Y. Evaluation of the stability of the total antioxidant capacity, polyphenol contents, and starch hydrolase inhibitory activities of kombucha teas using an in vitro model of digestion. **Journal of Chemistry:** v. 2015, p. 1-9, 2015b.

WATAWANA, M. I.; JAYAWARDENA, N.; WAISUNDARA, V. Y. Enhancement of the functional properties of coffee through fermentation by “tea fungus” (kombucha). **Journal of Food Processing and Preservation:** v. 39, p. 2596-2603, 2015c.

WEN-QIONG, W.; YUN-CHAO, W.; XIAO-FENG, Z.; RUI-XIA, G.; MAO-LIN, L. Whey protein membrane processing methods and membrane fouling mechanism analysis. **Food Chemistry:** v. 289, p. 468-481, 2019.

XIN, Z.; MENG-PING, L.; ZHI-HAO, H.; HAO, Z.; WEI-LIANG, L.; XIN-RU, X.; XIAO-HUA, M.; ZHEN-LIANG, X. Fast surface crosslinking ceramic hollow fiber pervaporation composite membrane with outstanding separation performance for isopropanol dehydration. **Separation And Purification Technology**: v.234, p. 116116-116124, 2020.

ZHAO, J.; WANG, Q.; YANG, J.; LI, Y.; LIU, Z.; ZHANG, L.; ZHAO, Y.; ZHANG, S.; CHEN, L. Comb-shaped amphiphilic triblock copolymers blend PVDF membranes overcome the permeability-selectivity trade-off for protein separation. **Separation And Purification Technology**: v. 239, p. 116596-116607, 2020.

ZOU, D.; CHEN, X.; DRIOLI, E.; KE X.; QIU, M.; FAN, Y. Facile co-sintering process to fabricate sustainable antifouling silver nanoparticles (AgNPs)-enhanced tightceramic ultrafiltration membranes for protein separation. **Journal of Membrane Science**: v 593, p. 117402-117413, 2020.

APÊNDICE A – ANÁLISE ESTATÍSTICA DA KOMBUCHA K₁

Foram realizadas comparações entre as amostras da kombucha K₁ e retidos os dados estatísticos referentes às comparações. Nas tabelas do Apêndice A constam os resultados das comparações entre as amostras: microfiltrada (MF) e filtrada a vácuo (FV); ultrafiltrada (UF) e filtrada a vácuo; microfiltrada e ultrafiltrada; microfiltrada e inicial; ultrafiltrada e inicial; e filtrada a vácuo e inicial.

MF e FV			
Parâmetro	Média	Desvio Padrão	Cv (%)
Turbidez	36,55	34,58	94,64
Sólidos Suspensos	211,50	2,12	1,00
Sólidos Dissolvidos	30945,00	408,71	1,32
Ácido Acético	2,39	0,04	1,78
pH	3,41	0,17	4,98
Acidez Volátil	38,97	0,50	1,29
Gradação alcoólica	5,12	0,34	6,63
Glicose	14,98	0,06	0,38
Frutose	11,13	0,05	0,44

UF e FV			
Parâmetro	Média	Desvio Padrão	Cv (%)
Turbidez	30,55	43,06	140,96
Sólidos Suspensos	127,00	117,38	92,42
Sólidos Dissolvidos	30771,00	654,78	2,13
Ácido Acético	2,41	0,01	0,59
pH	3,34	0,06	1,91
Acidez Volátil	38,00	0,86	2,27
Gradação alcoólica	5,16	0,29	5,62
Glicose	14,96	0,02	0,14
Frutose	11,10	0,01	0,13

MF e UF			
Parâmetro	Média	Desvio Padrão	Cv (%)
Turbidez	6,10	8,48	139,10
Sólidos Suspensos	128,50	119,50	93,00
Sólidos Dissolvidos	30482,00	246,07	0,81
Ácido Acético	2,38	0,03	1,19
pH	3,46	0,11	3,07
Acidez Volátil	38,36	1,36	3,56
Gradação alcoólica	4,92	0,05	1,01
Glicose	15,00	0,04	0,24
Frutose	11,14	0,04	0,32

MF e Inicial			
Parâmetro	Média	Desvio Padrão	Cv (%)
Turbidez	174,55	229,75	131,63
Sólidos Suspensos	423,50	297,69	70,29
Sólidos Dissolvidos	31209,00	782,06	2,51
Ácido Acético	2,11	0,35	16,76
pH	3,36	0,24	7,16
Acidez Volátil	39,10	0,32	0,81
Gradação alcoólica	4,57	0,45	9,76
Glicose	13,24	2,52	19,01
Frutose	9,82	1,90	19,38

UF e Inicial			
Parâmetro	Média	Desvio Padrão	Cv (%)
Turbidez	168,55	238,22	141,34
Sólidos Suspensos	339,00	417,19	123,07
Sólidos Dissolvidos	31035,00	1028,13	3,31
Ácido Acético	2,13	0,38	17,93
pH	3,29	0,13	4,09
Acidez Volátil	38,13	1,05	2,74
Gradação alcoólica	4,60	0,49	10,76
Glicose	13,22	2,48	18,78
Frutose	9,79	1,87	19,07

FV e Inicial			
Parâmetro	Média	Desvio Padrão	Cv (%)
Turbidez	199,00	195,16	98,07
Sólidos Suspensos	422,00	299,81	71,05
Sólidos Dissolvidos	31498,00	373,35	1,19
Ácido Acético	2,14	0,40	18,50
pH	3,24	0,07	2,18
Acidez Volátil	38,74	0,18	0,47
Gradação alcoólica	4,81	0,78	16,33
Glicose	13,20	2,46	18,64
Frutose	9,78	1,85	18,94

APÊNDICE B – ANÁLISE ESTATÍSTICA DA KOMBUCHA K₂

Foram realizadas comparações entre as amostras da kombucha K₂ e retidos os dados estatísticos referentes às comparações. Nas tabelas do Apêndice B constam os resultados das comparações entre as amostras: microfiltrada (MF) e filtrada a vácuo (FV); ultrafiltrada (UF) e filtrada a vácuo; microfiltrada e ultrafiltrada; microfiltrada e inicial; ultrafiltrada e inicial; e filtrada a vácuo e inicial.

MF e FV			
Parâmetro	Média	Desvio Padrão	Cv (%)
Turbidez	61,27	61,85	100,96
Sólidos Suspensos	181,00	168,29	92,98
Sólidos Dissolvidos	13725,00	533,16	3,88
Microrganismos	650,00	339,41	52,22
Ácido Acético	6,48	0,06	0,87
Ácido Propiônico	0,11	0,01	6,73
Ácido Butírico	0,26	0,09	36,05
pH	3,05	0,02	0,70
Acidez Volátil	67,70	0,77	1,14
Gradação alcoólica	11,92	0,06	0,47
Glicose	5,91	0,25	4,31
Frutose	11,42	0,05	0,43

UF e FV			
Parâmetro	Média	Desvio Padrão	Cv (%)
Turbidez	91,85	18,60	20,25
Sólidos Suspensos	215,00	120,21	55,91
Sólidos Dissolvidos	13134,00	302,64	2,30
Microrganismos	850,00	56,57	6,66
Ácido Acético	6,21	0,33	5,36
Ácido Propiônico	0,11	0,01	6,73
Ácido Butírico	0,23	0,06	24,60
pH	3,04	0,01	0,47
Acidez Volátil	67,29	0,19	0,28
Gradação alcoólica	11,28	0,85	7,52
Glicose	5,70	0,04	0,74
Frutose	10,75	1,00	9,28

MF e UF			
Parâmetro	Média	Desvio Padrão	Cv (%)
Turbidez	48,12	43,25	89,90
Sólidos Suspensos	96,00	48,08	50,09
Sólidos Dissolvidos	13511,00	835,80	6,19
Microrganismos	610,00	282,84	46,37
Ácido Acético	6,25	0,39	6,23
Ácido Propiônico	0,11	0,00	0,00
Ácido Butírico	0,30	0,04	11,98
pH	3,06	0,01	0,23
Acidez Volátil	67,83	0,58	0,85
Graduação alcoólica	11,32	0,91	8,00
Glicose	5,88	0,30	5,05
Frutose	10,71	0,95	8,85

MF e Inicial			
Parâmetro	Média	Desvio Padrão	Cv (%)
Turbidez	224,27	292,37	130,37
Sólidos Suspensos	110,00	67,88	61,71
Sólidos Dissolvidos	13040,00	1501,89	11,52
Microrganismos	685,00	388,91	56,77
Ácido Acético	4,57	2,76	60,56
Ácido Propiônico	0,15	0,06	37,71
Ácido Butírico	0,37	0,07	19,11
pH	3,01	0,07	2,35
Acidez Volátil	65,93	3,27	4,96
Graduação alcoólica	8,88	4,36	49,16
Glicose	4,61	2,10	45,60
Frutose	8,33	4,32	51,90

UF e Inicial			
Parâmetro	Média	Desvio Padrão	Cv (%)
Turbidez	254,85	249,11	97,75
Sólidos Suspensos	144,00	19,80	13,75
Sólidos Dissolvidos	12449,00	666,09	5,35
Microrganismos	885,00	106,07	11,98
Ácido Acético	4,29	2,38	55,38
Ácido Propiônico	0,15	0,06	37,71
Ácido Butírico	0,35	0,11	30,74
pH	3,01	0,06	2,12
Acidez Volátil	65,52	2,69	4,10
Graduação alcoólica	8,24	3,46	41,99
Glicose	4,40	1,80	41,03
Frutose	7,66	3,37	44,06

FV e Inicial			
Parâmetro	Média	Desvio Padrão	Cv (%)
Turbidez	268,00	230,52	86,01
Sólidos Suspensos	229,00	100,41	43,85
Sólidos Dissolvidos	12663,00	968,74	7,65
Microrganismos	925,00	49,50	5,35
Ácido Acético	4,53	2,71	59,85
Ácido Propiônico	0,15	0,06	43,89
Ácido Butírico	0,31	0,16	53,32
pH	3,00	0,05	1,65
Acidez Volátil	65,39	2,50	3,82
Graduação alcoólica	8,84	4,31	48,74
Glicose	4,43	1,85	41,71
Frutose	8,36	4,37	52,27