

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
ENGENHARIA QUÍMICA

ARIÉLLY PORTO RYPKA

***KVASS: ELABORAÇÃO DE UMA PRÉ-MISTURA EMPREGANDO
SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PONTA GROSSA

2020

ARIÉLLY PORTO RYPKA

**KVASS: ELABORAÇÃO DE UMA PRÉ-MISTURA EMPREGANDO
*SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química, do Departamento Acadêmico de Engenharia Química, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. César Augusto Canciam



PONTA GROSSA

2020



TERMO DE APROVAÇÃO

**KVASS: ELABORAÇÃO UMA PRÉ-MISTURA EMPREGANDO LEVEDURA
SACCHAROMYCES CEREVISIAE**

por

ARIÉLLY PORTO RYPKA

Monografia apresentada no dia 23 de outubro de 2020 ao Curso de Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Ponta Grossa. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. César Augusto Canciam
(UTFPR)
Orientador

Prof. MSc. Luiz Alberto Chavez Ayala
(UTFPR)

Prof. Dr. Matheus Pereira Postigo
(UTFPR)

Prof. Dra. Juliana de Paula Martins
Responsável pelo TCC do Curso de Engenharia Química

O termo de aprovação assinado encontra-se na coordenação do Curso

Dedico este trabalho aos meus pais, meus primeiros professores, por todo amor e apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao professor Dr. César Augusto Canciam, orientador desta pesquisa, por despertar em mim a curiosidade pelo universo da fermentação.

Ao professor Dr. Matheus Pereira Postigo por disponibilizar os recursos necessários para a finalização do estudo.

À UTFPR, professores e servidores agradeço por toda contribuição durante a minha formação.

Aos meus pais, Celeste Aparecida Porto e Antônio Otávio Rypka, pelo apoio incondicional e incentivo constante.

Ao meu irmão, Maykol Porto Rypka, por sempre me desafiar.

Ao Ivan Caputo Nunes por todo companheirismo e palavras de carinho.

A Theodora por toda alegria.

Gostaria de agradecer também a minha avó, Apolônia Maria Tokarski Rypka (In memoriam), por nossa família.

E a todos que estiveram comigo durante essa trajetória acadêmica.

RESUMO

RYPKA, Ariélly Porto. **Kvass: elaboração de uma pré-mistura empregando levedura *Saccharomyces cerevisiae***. 2020. 59 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2020.

A idos tempos, a fermentação é utilizada como forma de preservação, melhoria de sabor e funcionalidade dos alimentos. O seu uso, mesmo que intuitivamente, foi empregado na produção de bebidas históricas, como o *kvass*. O *kvass* é uma bebida tradicional russa e de países do leste europeu, originalmente produzida por meio da fermentação natural de pão seco de centeio, apresentando aproximadamente 1,2% de álcool, em volume. Devido ao baixo teor alcoólico, não é classificada na Rússia como bebida alcoólica, sendo consumida massivamente por pessoas de todas as faixas etárias. Com o advento das culturas *starters*, a fermentação pode ser inicializada pela adição de leveduras e bactérias conhecidas, mas a técnica de *backslopping* ainda é amplamente empregada na produção desta bebida. Na microbiota do *kvass*, encontram-se leveduras e bactérias ácido-lácticas. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* produz, como metabólitos primários, o álcool etílico e o dióxido de carbono. Ao passo que as bactérias ácido-lácticas, têm como principal produto o ácido láctico. Ambos os microrganismos são extensivamente utilizados na indústria de alimentos. A presença de microrganismos caracteriza e afeta positivamente as qualidades organolépticas do *kvass*, atribuindo à bebida o rótulo de probiótica. Atualmente, o mercado de bebidas não alcoólicas no Brasil sofre uma mudança no padrão de consumo, esperam-se inovações, clareza nas matérias-primas utilizadas e no processo de preparo, bem como na sua origem. Comprovando que os consumidores têm valorizado as bebidas que oferecem outras funcionalidades, além do sabor e refrescância. Assim, se identificou uma lacuna para inovação, já que além das características probióticas, o *kvass* é pouco estudado e explorado em solo brasileiro. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo analisar formulações de pré-mistura, com diferentes modos de preparo, para a produção do *kvass*. Para isso, foram definidas três pré-misturas com a mesma base e quantidade fixa de levedura *Saccharomyces cerevisiae*, enquanto se variava a adição de flavorizantes e aromatizantes naturais: mel e limão tahiti (*Citrus latifolia*). Comparou-se o pH, acidez titulável e teor de álcool da bebida final. Os resultados obtidos foram satisfatórios, mostrando o potencial das pré-misturas e diferentes modos de preparo em produzir o *kvass* de acordo com a legislação dos países bálticos, grandes consumidores e produtores desta bebida.

Palavras-chave: *Kvass*. Fermentação. *Saccharomyces cerevisiae*. Rússia. Países bálticos.

ABSTRACT

RYPKA, Ariélly Porto. **Kvass: elaboration of pre-mix formulation using the yeast *Saccharomyces cerevisiae***. 2020. 59 p. Undergraduate final project (Chemical Engineering) – Federal Technological University of Paraná. Ponta Grossa, 2020.

In the past, fermentation has been used as a way of preserving, improving the taste and functionality of food. Its use, even if intuitively, was used in the production of historic drinks, such as kvass. Kvass is a traditional drink from Russian and Eastern European countries, originally produced through the natural fermentation of dry rye bread, containing approximately 1.2% alcohol by volume. Due to its low alcohol content, it is not classified in Russia as an alcoholic beverage, being consumed massively by people of all age groups. With the advent of starter cultures, fermentation can be initiated by adding both known yeasts and bacteria, but the backslopping technique is still widely used in the production of this drink. In the kvass microbiota, yeasts and lactic acid bacteria are found. The yeast *Saccharomyces cerevisiae* produces, as primary metabolites, ethyl alcohol and carbon dioxide while lactic acid bacteria have lactic acid as their main product. Both microorganisms are used extensively in the food industry. The presence of microorganisms characterizes and positively affects the organoleptic qualities of kvass, giving the label of a probiotic drink. Currently, the market for non-alcoholic beverages in Brazil undergoes a change in the pattern of consumption in which innovations are expected, such as clarity in the raw materials used and in the preparation process, as well as in their origin. Proving that consumers have valued drinks that offer other features, in addition to flavor and refreshment. Thus, a gap for innovation was identified, since besides the probiotic characteristics, kvass is little studied and explored in Brazilian soil. Thus, the present work aimed to analyze pre-mix formulations, with different ways of preparation, to produce kvass. For this, three formulations were defined with the same base and fixed amount of yeast *Saccharomyces cerevisiae*, while the addition of natural flavorings were varied such as: honey and tahiti lemon (*Citrus latifolia*). The pH, titratable acidity and alcohol content of the final drink were compared. The results obtained were satisfactory, showing the potential of premixes and different ways of preparing to produce kvass according to the legislation of the Baltic countries, large consumers and producers of this drink.

Keywords: Kvass. Fermentation. *Saccharomyces cerevisiae*. Russia. Baltic countries.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fluxograma das principais técnicas para produção do <i>kvass</i>	18
Figura 2 – Fluxograma da produção do <i>kvass</i> com adição de BAL	20
Figura 3 – Modo de preparo das pré-misturas A, B e C	34
Figura 4 – Escala de cores da fita indicadora de pH da marca Macherey-Nagel	36
Figura 5 – Picnômetro de 50 mL	38
Figura 6 – Formulação utilizando pão de centeio integral de fermentação natural ...	41
Figura 7 – Preparo do <i>kvass</i> utilizando pão de centeio produzido a partir de mistura para pão	41
Figura 8 – Preparo do <i>kvass</i> utilizando pão de centeio de fermentação natural	42
Gráfico 1 – Densidade da solução etanol-água em função do teor de etanol.....	39
Quadro 1 – Quantificação dos ingredientes base das pré-misturas	33
Quadro 2 – Composição das pré-misturas para <i>kvass</i>	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores da densidade da solução etanol-água em função do teor de etanol	39
Tabela 2 – Resultados do pH.....	43
Tabela 3 – Resultados da acidez titulável em mEq/L.....	44
Tabela 4 – Resultados da acidez titulável em Eq/100 ml de <i>kvass</i>	45
Tabela 5 – Resultados da graduação alcóolico utilizando o Anexo A.....	46
Tabela 6 – Resultados do teor alcóolico utilizando o método da comparação	47

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

BAL	Bactérias ácido-lácticas
d.C.	Depois de Cristo
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GRAS	<i>Generally Reconized as Safe</i>
IAL	Instituto Adolfo Lutz
ITAL	Instituto de Tecnologia de Alimentos
MAPA	Ministério da Agricultura, Abastecimento e Pecuária
pH	Potencial Hidrogeniônico
PR	Paraná
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 <i>KVASS</i>	16
3.1.1 Aspectos Gerais sobre o <i>Kvass</i>	16
3.1.2 Métodos de Produção	17
3.2 MICROBIOTA DO <i>KVASS</i>	23
3.2.1 Leveduras	23
3.2.1.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	24
3.2.2 Bactérias Ácido-láticas	26
3.3 MATÉRIAS-PRIMAS PARA FORMULAÇÃO DA PRÉ-MISTURA	28
3.3.1 <i>Secale Cereale L</i>	28
3.3.1.1 Pão de centeio	29
3.3.2 Frutas	30
3.3.2.1 Uvas-passas	30
4 MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1 DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO PARA <i>KVASS</i>	32
4.2 PREPARO DO <i>KVASS</i>	33
4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	35
4.3.1 Preparação das Amostras	35
4.3.2 pH	36
4.3.3 Acidez Titulável	36
4.3.4 Teor Alcoólico	37
4.3.4.1 Densímetro de leitura direta a 20°C	37
4.3.4.2 Densidade e densidade relativa a 20°C/20°C com picnômetro	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1 DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO E PREPARO DO <i>KVASS</i>	40
5.2 PH	43
5.3 ACIDEZ TITULÁVEL	44
5.4 TEOR ALCOÓLICO	46
6 CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS	50
ANEXO A – Porcentagem de álcool em volume a 20°C (% v/v) correspondente à densidade relativa	55
ANEXO B – <i>Adopting the technical regulation for description, production and placing for sale of non-alcoholic beverages and kvass</i> – Lei N° 3D-13 da Ordem de ministros para agricultura da República da Lituânia item V	57

1 INTRODUÇÃO

A tecnologia e a tradição de produzir produtos fermentados remontam a idos tempos, visto que a milhares de anos o homem sabia intuitivamente que essa era uma maneira de preservar, torná-los mais saborosos e com benefícios à saúde. Entre estes produtos, têm-se as bebidas produzidas a partir de processos de fermentação, tais como o kefir, iogurte, kombucha, *kvass* e o *levain*.

Historicamente, o *kvass*, objeto deste estudo, foi produzido pelos Eslavos, sendo o *soft drink* mais consumido nos países da Europa Oriental, desde os primórdios do processo civilizatório, face ao período de escassez e de reaproveitamento de alimentos básicos vivenciados por estes povos. Sendo produzido à base de cereais, originalmente pela fermentação natural de pão de centeio envelhecido e água. Nos dias atuais, utiliza-se pão de centeio seco, açúcar, uva-passa e uma cultura de leveduras como *starter* da fermentação, podendo ter a adição de frutas, vegetais, ervas ou mel.

A respeito do *kvass*, reporta-se também a descrição dos idos de 989 d.C registrados no *The Russian Primary Chronicle*, o mais antigo texto escrito da Rússia, no qual a palavra “*kvass*” foi mencionada pela primeira vez. Importantes escritores russos citaram a bebida em suas obras durante o tempo, como Anton Chekhov, Fyodor Dostoevsky e Liev Tolstói.

Nos tempos da União Soviética, o *kvass* foi extremamente popular, era vendido nas ruas a partir de grandes barris amarelos, mas estes desapareceram em 1990, quando foram implementadas novas exigências para seu transporte e armazenamento.

O *kvass* ainda é pouco estudado e explorado, a literatura encontrada baseia-se principalmente no trabalho desenvolvido por Ivo Lidums e pesquisadores, da Latvia University of Agriculture.

Sensorialmente, a bebida apresenta-se efervescente, refrescante, com gosto característico de pão e possui certa acidez. No processo artesanal, não se pasteuriza o *kvass* após a fermentação, o que leva a presença de microrganismos no produto, caracterizando-a como uma bebida probiótica. A coloração e o sabor variam conforme o grau de torrefação do pão, quanto mais tostado maior é o escurecimento e o gosto

de amargor. Além do mais, a bebida era adicionada como ingrediente de pratos tradicionais, como na sopa fria *Okroshka*.

Atualmente, o *kvass* continua popular nas nações eslavas e do leste europeu, especialmente na Rússia e Ucrânia, e nas antigas repúblicas soviéticas. Também é consumida, de acordo com Lidums e Karklina (2016), em Harbin e Xinjiang, na China, onde a cultura russa teve influência. A produção recente é realizada em escala industrial com o uso da pasteurização e a adição de conservantes, corantes, concentrados de *kvass* e malte.

Na fermentação natural, as principais culturas são de leveduras e bactérias ácido-lácticas (BAL). As leveduras têm função de produzir álcool etílico e gás carbônico, enquanto as BAL produzem ácido láctico e atuam como agentes bacteriostáticos. Entretanto, caso não se faça a fermentação natural, é possível a adição dos microrganismos.

Em relação a produção no Brasil, há duas marcas que levam o nome de *kvass*, a Hopnyk Kvass e a Gandras. A Hopnyk Kvass é uma cerveja com 4% de álcool baseada no estilo *kvass*, desenvolvida pela parceria entre as cervejarias Ogre Beer, ØL Beer, Vosgerau, de São José dos Pinhais/PR, e a padaria Slow Bakery/La Panoteca de Curitiba/PR. A segunda marca é produzida de maneira tradicional pelo cervejeiro Rogério Sventkauskas, que comercializa em feiras relacionadas com a cultura e a tradição dos países do leste europeu.

No que diz respeito ao mercado de bebidas não alcoólicas, o Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), através da sua publicação Brasil *Beverage Trends* 2020 que analisa as tendências, para o quadriênio 2016/2020, destaca a mudança nos padrões tradicionais de consumo de alimentos e bebidas. Demonstrando que os consumidores buscam inovações, estando interessados em saber quais são as matérias-primas utilizadas, como foi o preparo e qual é a sua origem.

Este estudo classificou as tendências de consumo que geram a demanda por produtos com características diferenciadas, como maior qualidade e incorporação de atributos de saudabilidade, naturalidade e sustentabilidade. Comprovando que os consumidores têm valorizado as bebidas que oferecem outras funcionalidades, além do sabor e refrescância.

Ancorado nestas tendências, o ITAL constatou que as macrotendências do mercado de bebidas carbonatadas são: personalização e experiência, nutrição e funcionalidade, evitação e purificação, conveniência e estilo de vida, sustentabilidade

e engajamento. Dentro destes itens, espera-se que ocorram inovações em sistemas flexíveis para preparo doméstico de bebidas, a utilização mínima de ingredientes, sem adição de compostos químicos como flavorizantes, corantes ou conservantes

Diante do levantamento, a presente pesquisa está em conformidade com as inclinações do mercado das bebidas, que aliado ao fato do *kvass* ser pouco estudado e explorado no Brasil, possibilita-se uma lacuna para inovação, bem como para a releitura de um clássico. Assim, este trabalho visa desenvolver e analisar pré-misturas, com diferentes modos de preparo, para a produção artesanal do *kvass*.

Este projeto está assente nas diretrizes do curso de Engenharia Química da UTFPR-PG, que dispôs os conhecimentos necessários nas áreas de desenvolvimento de produto, análise sensorial e biotecnologia, indispensáveis para o desdobramento da presente pesquisa

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Elaboração da pré-mistura do *kvass*, com diferentes modos de preparo e flavorizantes, no intuito de produzir a bebida final com pH, acidez e teor alcoólico de acordo com a legislação dos países bálticos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Definir as formulações e modos de preparo, utilizando como flavorizantes limão e mel;
- Determinar o pH, acidez titulável e teor alcoólico do produto das diferentes pré-misturas;
- Selecionar a melhor pré-mistura nos parâmetros físico-químicos analisados.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

O objetivo deste capítulo é conceituar o *kvass* e as matérias-primas base utilizadas na composição do produto, tendo em vista que há diversas formas de produzir a bebida.

3.1 KVASS

Esta seção, designa-se a base teórica acerca do *kvass*, diferenciando formas de produção, identificando suas características e a microflora presente.

3.1.1 Aspectos Gerais sobre o *Kvass*

Para entender melhor a confluência da bebida *kvass* na história, diversos autores a classificam como uma bebida à base de cereais, produzida originalmente a partir de pão de centeio de fermentação natural envelhecido. Embora, a utilização de tal pão seja clássica e preferida, pode-se obter o *kvass* por meio de pães frescos de outros tipos de grãos, como trigo, e da mistura de farinha de centeio e malte de centeio, podendo-se utilizar malte de cevada.

Salienta-se que uma bebida, por definição, é um líquido preparado para consumo humano com a combinação de duas ou mais matérias-primas, como água, açúcar, corantes, aditivos e leveduras. Classifica-se entre bebidas alcoólicas e não alcoólicas, correspondendo a legislação e padrões de cada país.

O *kvass* é um produto sazonal com um consumo maior durante os dias quentes, naturalmente carbonatada, refrescante, possui baixa doçura, ligeiramente azeda, com um sabor agradável do pão de centeio e coloração predominantemente marrom dourada (DLUSSKAYA et al., 2007; DZIUGAN, 2008; KATZ, 2012; LIDUMS et al., 2017). Contudo, para Adadi et al. (2019) a coloração pode variar com a utilização de diferentes matérias-primas.

Avaliar a coloração desejada para a bebida é um dos processos iniciais quando se utiliza o pão como matéria-prima. A partir deste momento, determina-se o grau de torrefação que dará o tom e o amargor no produto. Deve-se ponderar o tempo

de secagem, levando-se em consideração que quanto mais escuro o tom requerido, maior será o tempo de torrefação e o desenvolvimento de gosto amargo no *kvass*.

Como assegura Lidums et al. (2015), a produção do *kvass* é similar ao modo de produção da cerveja, mas a fermentação alcoólica é finalizada antes de alcançar 1,2% de álcool, em volume. O processo de fermentação deve ser acompanhado para que não se alcance valores de álcool em volume superiores a 2,5%, caso isto ocorra a bebida é inutilizada.

Por apresentar um baixo teor alcoólico, o *kvass* é classificado como uma bebida não alcoólica na Rússia. O pesquisador Jargin (2009), médico de formação e professor na *People's Friendship University of Russia*, em carta ao editor para a revista *Alcohol and Alcoholism* sugeriu que o *kvass* é um contribuinte para a alta prevalência do alcoolismo crônico na antiga União Soviética. Na Rússia, a falta de informação nos rótulos do teor alcoólico, faz com que a bebida seja consumida massivamente por grupos que não deveriam ingerir álcool, como crianças e adolescentes, mesmo sabendo-se que estas são épocas importantes para o desenvolvimento e prevenção do alcoolismo.

No que se refere à legislação brasileira, o Decreto nº 6.871/2009, determinou no Art. 12º que bebida alcoólica é a que possui “graduação alcoólica acima de meio por cento em volume até cinquenta e quatro por cento em volume [...]” (BRASIL, 2009). Em síntese, o *kvass* produzido em território brasileiro que possuir mais de 0,5% em álcool é categorizado como bebida alcoólica. A venda de bebidas com teores alcoólicos, conforme o Art. 81 da Lei nº 8.069/1999, “é proibida a venda à criança ou ao adolescente de: [...] II – bebidas alcoólicas [...]” (BRASIL, 1999).

Neste contexto, caso queira-se comercializar a bebida no Brasil é necessário seguir a legislação vigente em relação à rotulagem e ao registro da bebida no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

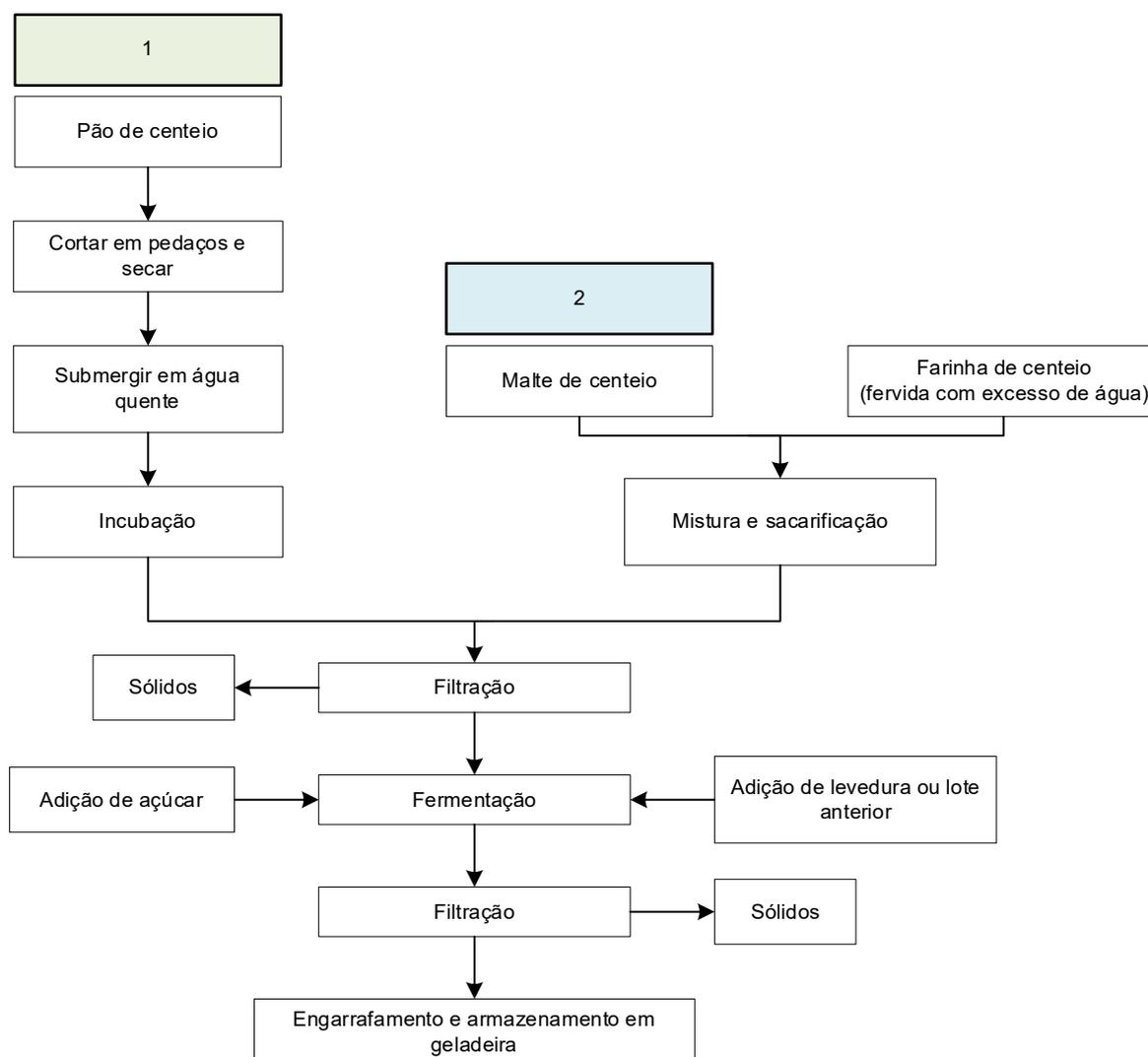
3.1.2 Métodos de Produção

Há duas técnicas principais para a produção de *kvass* baseando-se na matéria-prima principal. O primeiro processo, ocorre com a imersão do pão de centeio seco em água por algumas horas, posterior a separação do líquido e fermentação por meio da adição de fermento de pão.

A segunda técnica, utiliza a mistura de malte de centeio e farinha de centeio fervida, em água, com posterior incubação e retirada do mosto fermentado. Neste processo também existe a adição de fermento de pão.

Na Figura 1 é possível observar um fluxograma das duas técnicas em paralelo.

Figura 1 – Fluxograma das principais técnicas para produção do kvass



Nota: o caminho 1 é a primeira técnica e o caminho 2 é a segunda técnica.

Fonte: Adaptado de Dlusskaya et al. (2007)

Na técnica 1, o processo de submersão serve para a retirada de sabor do pão. Em comparação, a técnica 2 necessita da fervura da farinha para que ocorra a gelatinização e posterior sacarificação. Gava, Silva e Frias (2008) esclarecem que a gelatinização é necessária para que os grânulos de amido fiquem sujeitos a ação das

enzimas na sacarificação. O malte faz o processo de sacarificação por meio da hidrólise do amido em açúcares fermentáveis.

Para que ocorra a fermentação, é imprescindível a adição do starter. Dlusskaya et al. (2007) afirmaram que a utilização de iniciadores artesanais mantidos pela técnica de *back-slopping* (reutilização de uma fração da produção anterior) é a maneira comum de iniciar fermentações de *kvass*. Outra forma de iniciador corresponde à adição de leveduras de panificação (*Saccharomyces cerevisiae*).

Caso se deseje uma bebida com menor porcentagem de açúcar, não é necessária sua adição na fermentação. Na opinião de Dlusskaya et al. (2007), todo o açúcar primordial para a fermentação da levedura é derivado do processo de produção do pão na primeira técnica. Já na segunda, o amido gelatinizado, o qual é clivado pelas enzimas do malte, produz o açúcar.

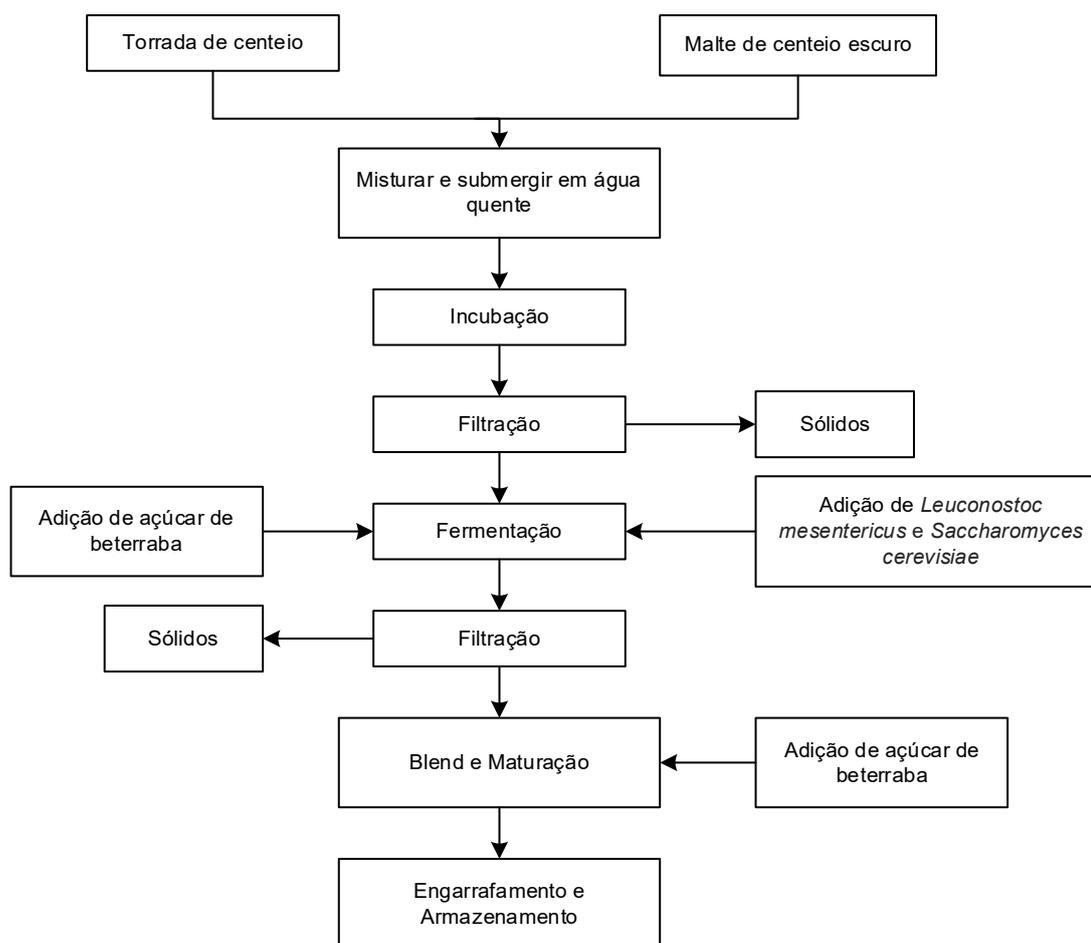
O processo de produção de *kvass* artesanal não é absoluto, tem-se apenas que manter a base de cereais e a utilização de microrganismos. Como mencionam Dziugan (2006), Lidums e Karklina (2016), pode-se fazer o uso de aditivos como, limões, cranberries, óleos essenciais, morangos, ou ervas como a hortelã, todos para flavorização da bebida.

Normalmente, a adição de frutas, vegetais e ervas ocorre antes da fermentação, fervendo-se o aditivo desejado e o adicionando ao mosto. Inclusive na Rússia, o *kvass* de beterraba é um sabor popular.

Por não ser um produto absoluto, considera-se que na Rússia e nos países bálticos que cada família possui a sua receita e técnica, com variantes quanto a ingredientes, temperaturas, tempo de incubação e fermentação. Dessa forma, dificilmente se terá dois *kvasses* produzidos da mesma forma.

Haja vista a possibilidade de diferentes formulações e técnicas, no estudo de Lidums e Karklina (2014) a bebida foi produzida a partir de torrada de pão de centeio e malte de centeio, com a adição da bactéria ácido-láctica *Leuconostoc mesentericus*, levedura e açúcar de beterraba, conforme indicado na Figura 2. Cabe destacar, que no caso da utilização da torrada o processo de secagem é dispensável.

Figura 2 – Fluxograma da produção do kvass com adição de BAL



Fonte: Adaptado de Lidums, Karklina e Kirse (2014)

Pode-se observar na Figura 2, que o processo elaborado por Lidums e Karklina (2014) utiliza o método artesanal de produção, a partir de produtos naturais, não modificados, enquanto faz uso de métodos biotecnológicos modernos, como a adição da bactéria ácido-láctica. Provindo um produto que atende aos requisitos dos novos consumidores conscientes sobre alimentos saudáveis e funcionais.

Ressalta-se, que a levedura e as bactérias ácido-láticas são os principais microrganismos no processo de fermentação de kvass, e “ambos são responsáveis pelas substâncias que dão a bebida seu sabor e aroma específicos” (LIDUMS; KARKLINA, 2014, p.139, tradução nossa)¹.

Na comparação das Figuras 1 e 2, pode-se observar que após a fermentação, o kvass não passa por processo de pasteurização, o que leva, de acordo com

¹ “[...] both of which form substances that give kvass its specific taste and aroma” (LIDUMS; KARKLINA, 2014, p.139)

Dlusskaya et al. (2007), a contagens celulares elevadas de levedura e bactérias ácido-lácticas no produto final, tendo-se a possibilidade de classificá-lo como probiótico.

Os autores, Dlusskaya et al. (2007) e Dziugan (2008) acrescentaram que o *kvass* contém carboidratos, proteínas e aminoácidos, açúcares, minerais, álcool etílico, ácidos láctico e acético, oriundos das matérias-primas ou como resultado da atividade microbiana, que desempenham um papel importante do ponto de vista nutricional e fisiológico.

Nesse sentido, Dziugan (2008, p.58, tradução nossa) diz que “o principal metabólito das bactérias ácido-lácticas, o ácido láctico, não só aumenta a biodisponibilidade do cálcio e de outros minerais, mas também possui propriedades antioxidantes”². Destaca-se que a presença das moléculas citadas se refere a produção artesanal.

Nas formas de produção descritas nas Figuras 1 e 2, consta-se a etapa de filtração, posterior a fermentação, que tem como função melhorar visualmente a bebida após o engarrafamento. Entretanto, Dziugan (2006) comenta que não há a necessidade de filtração, uma vez que ao agitar o líquido, o precipitado é incorporado.

Como o *kvass* não passa por pasteurização, e não está incluído no Regulamento Europeu nº 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos gêneros alimentícios, os autores Lidums e Karklina (2014, p.137, tradução nossa) justificaram que a “segurança microbiológica do *kvass* depende das matérias-primas, higiene pessoal, mistura dos itens e filtração”³.

Durante o processo de fermentação do *kvass*, como já citado, são produzidos álcool etílico e ácido láctico, sendo ambos, segundo Lidums e Karlina (2014), considerados conservantes naturais que protegem a bebida parcialmente do desenvolvimento de microrganismos indesejados.

Infelizmente, a tradição de produzir o *kvass* de forma caseira diminuiu, à medida que surgiram bebidas industrializadas erroneamente chamadas de *kvass* (GAMBUŠ et al., 2015). A utilização do método tradicional de produção resume-se a

² “Podstawowy metabolit bakterii fermentacji mlekowej, jakim jest kwas mlekowy oprócz zwiększania przyswajalności wapnia i innych składników mineralnych, wykazuje cechy antyoksydanta” (DZIUGAN, 2007, p.58)

³ “Microbiological safety of kvass depends on raw materials, personal hygiene, environment, kvass blending and filtration” (LIDUMS; KARKLINA, 2014, p.137).

indivíduos que se preocupam com a alimentação, pessoas que fazem por *hobby* e pequenas empresas locais.

Como descreve Dziugan (2008, p.60, tradução nossa), o *kvass* industrial, também chamado de *drinks* de *kvass*, “é baseado em concentrado de malte e numerosos aditivos. O agente acidificante é um ácido cítrico, totalmente estranho a produção da bebida original. Além disso, são excepcionalmente ricos em conservantes”⁴. Entre os aditivos encontram-se corantes, conservantes, aromatizantes e edulcorantes artificiais (LIDUMS; KARKLINA; KIRSE, 2014), os quais conferem o sabor da bebida.

Para Dziugan (2006), ao se utilizar deste modo de produção, tem-se um sabor residual do corante caramelo, além de um amargor perceptível. Vale-se lembrar que o sabor do *kvass* artesanal, em grande parte, vem do processo de fermentação, que neste caso foi eliminado.

O principal ingrediente dos *drinks* de *kvass* são os concentrados, que de acordo com Dziugan (2008), são obtidos pela concentração até 70% do mosto, feito a partir de malte de centeio, malte de cevada e farinha.

Normalmente, a produção ocorre sem o uso de levedura, com a adição de dióxido de carbono de maneira artificial (LIDUMS et al., 2015). Ao se abster do uso da levedura, não se terá a produção de álcool etílico, tornando-se segura para o consumo de pessoas de qualquer idade e das que estejam se abstendo de álcool. Todavia, perde-se o processo de fermentação que faria a carbonatação natural da bebida e os benefícios que se aproveitam deste procedimento.

Quando se produz industrialmente é oportuno que se aumente a vida de prateleira do produto. Para esta finalidade, se faz necessária a adição de conservantes e concentrados, com posterior pasteurização. No entanto, estes processos afetam as propriedades sensoriais, como gosto e cheiro, bem como os compostos biologicamente ativos (LIDUMS; KARKLINA; KIRSE, 2014).

Ao empregar um concentrado para produção de *kvass*, facilita-se o processo. Para Lidums e Karklina (2014), o grau de dificuldade para produzir *kvass* fermentado com uma boa qualidade, é tecnologicamente mais difícil do que com a utilização de

⁴ “Opierają się one na koncentracje słodowym oraz licznych dodatkach. Środkiem zakwaszającym jest obcy dla tego środowiska kwas cytrynowy. Ponadto są one wyjątkowo „bogate” w substancje konserwujące” (DZIUGAN, 2008, p.60)

extratos concentrados. Outra vantagem, é a capacidade de repetição e uniformidade, mas a bebida não terá as mesmas características que o *kvass* fermentado.

Lidums e Karklina (2014) afirmaram que muitos consumidores escolhem o *kvass* fermentado ao invés dos *drinks* de *kvass*. Observando-se que mesmo com a produção caseira diminuta, ainda é tradicional a preferência pelo consumo do *kvass* fermentado, principalmente pelo apelo ao orgulho nacionalista com que esse produto tem sido comercializado, para combater os refrigerantes ocidentais (KATZ, 2012).

3.2 MICROBIOTA DO KVASS

O *kvass* possui leveduras e bactérias ácido-lácticas em sua microbiota. As bactérias ácido-lácticas estão presentes no fermento natural, por causa da contaminação da farinha, e no ambiente (DE VUYST; NEYSENS, 2005), tendo potencial de se desenvolverem durante as etapas de produção do *kvass*. As leveduras são incorporadas para que ocorra a fermentação da bebida, mas também são encontradas no *levain*.

Estudos microbiológicos revelaram que mais de 50 espécies de bactérias ácido-lácticas, principalmente do gênero *Lactobacillus* e mais de 20 espécies de leveduras, especialmente espécies dos gêneros *Saccharomyces* e *Candida*, ocorrem em fermentos naturais (DE VUYST; NEYSENS, 2005).

Referente as bactérias ácido-lácticas no *kvass* não foi encontrado estudo que fizesse tal análise. Ainda assim, salienta-se que Ivo Lidums e colaboradores da *Latvia University of Life Sciences and Technologies* citam em diferentes pesquisas que a microflora do *kvass* é composta por BAL e leveduras, em principal do gênero *Saccharomyces cerevisiae*, caracterizando-a como probiótica.

3.2.1 Leveduras

As leveduras são reconhecidas especialmente pela atividade em processos fermentativos. A maioria das línguas possuem cognatos para esta terminologia, geralmente se referindo a formação de espuma ou propriedades espumantes,

evidenciando a longa interação destes microrganismos com o homem (MORTIMER, 2000).

São pertencentes ao grupo dos fungos, se apresentam predominantemente sob forma unicelular, preferem temperaturas de 20°C a 30°C. Apesar disso, muitas espécies se desenvolvem em temperaturas de refrigeração, mas são raras as que conseguem esse feito em temperaturas acima de 45°C (GAIVA; SILVA; FRIAS, 2008). Em geral, iniciam o crescimento com pH entre 2 a 9, porém os meios ácidos favorecem o crescimento (SCHULLER, 1998). Na taxonomia, é definida como microrganismo eucariótico unicelular que geralmente se divide por brotamento (MORTIMER, 2000).

Devido a diferença metabólica, são classificadas em: anaeróbias facultativas e obrigatoriamente aeróbias. Na ausência de oxigênio, as leveduras convertem os açúcares em etanol e dióxido de carbono. Na presença deste, os produtos da fermentação são dióxido de carbono e água (GAIVA; SILVA; FRIAS, 2008; SHETTY, 2009).

Em razão da versatilidade nutricional, fisiológica e sua capacidade em tolerar condições adversas ao crescimento, são encontradas em *habitats* variados. Cepas de leveduras selvagens estão presentes em frutos maduros, no trato gastrointestinal e superfícies corporais de insetos, e animais de sangue quente, até mesmo em solos e ambientes aquáticos (MARTINI, 1993; WIESIOLEK, 2007).

As leveduras anaeróbias facultativas são úteis em processos industriais, em especial na área de alimentos. O cultivo é fácil e econômico, com baixas necessidades nutricionais (JUNIOR, 2013). Representes do gênero *Saccharomyces* são amplamente utilizados para a produção de álcool etílico. Estas leveduras são as que mais apresentam características favoráveis para transformar açúcares em etanol. Entre o gênero *Saccharomyces*, tem-se a *Saccharomyces cerevisiae*, utilizada na obtenção de bebidas destiladas, fermentados e produção de fermento biológico para pão.

3.2.1.1 *Saccharomyces cerevisiae*

Há milhares de anos, a *Saccharomyces cerevisiae* é vastamente utilizada por humanos. A estreita relação com essa levedura, na produção de alimentos e bebidas, mostra que não existem perigos em se trabalhar com ela, como confirmado por sua

designação de Geralmente Reconhecida como Segura (*Generally Recognised as Safe/GRAS*) pelo *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos (CHAMBERS; PRETORIUS, 2010).

A *Saccharomyces cerevisiae* é reconhecida por sua capacidade de produzir álcool e dióxido de carbono, a partir do açúcar. Apesar de ser útil para a produção de pão e combustível, foi a demanda por bebidas alcoólicas que motivou o estudo científico sobre levedura de Pasteur, em 1897 (GODDARD; GREIG, 2015). Hoje em dia, está sendo associada como alimento nutricional, vendida para suplementação na forma de comprimidos ou em pó, contendo microrganismos (FARID et al., 2019).

Duarte, Palsson e Fu (2004) citam que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* é importante, tanto para a indústria quanto para a pesquisa. Fato este que, de acordo com Piskur et al. (2006), é pautado na característica fisiológica de degradar carboidratos. Estes microrganismos preferem produzir álcool a partir de açúcar por meio de fermentação anaeróbia, mesmo quando o oxigênio está disponível. Essa repressão é denominada efeito de *Crabtree*, acredita-se que isto seja uma adaptação a ambientes com alto teor de açúcar. Todavia, a fermentação libera energia rapidamente, logo o crescimento é mais rápido que por respiração aeróbia, e ao mesmo tempo, ocorre a produção de etanol, que degrada o ambiente. Diminuindo as chances de se ter microrganismos competindo com a *Saccharomyces cerevisiae* (PISKUR et al., 2006; GODDARD; GREIG, 2015).

São os organismos mais tolerantes ao etanol dentre os conhecidos, proliferando em meios com 14% a 16% de etanol, em volume. Foi proposto que como conseguem tanto produzir quanto serem resistentes ao etanol, inibem o crescimento de organismos competitivos nos ambientes ricos em açúcar, onde normalmente são encontrados (FIQUEIREDO, 2008).

Apresentam um crescimento rápido, tolerância a baixos níveis de oxigênio, osmotolerantes, tolerância a grandes variações de temperatura, são acidófilos, e crescem melhor sob condições ácidas (VERSTREPEN et al., 2003; PISKUR et al., 2006; WIESIOLEK, 2007).

3.2.2 Bactérias Ácido-Láticas

As bactérias ácido-láticas (BAL) constituem um importante grupo de microrganismos para o homem, e há muito tempo a interação destas com os alimentos tem despertado o interesse de cientistas. O que resultou em 1857, na contribuição significativa por Pasteur, no processo de fermentação láctica, seguida pelo isolamento da primeira cultura bacteriana pura, por Lister em 1873. Ocorreu simultaneamente, a introdução de culturas *starters* para a produção de queijo e leite acidificado, por Weigmann em *Kiel* e Storch em *Copenhagen*, abrindo em 1890 o caminho para a industrialização de comida fermentadas (STILES; HOLZAPFEL, 1997).

Até a virada do século 20, o termo bactérias láctica era utilizado para se referir a organismos que acidificavam o leite ("*milk-souring*"). Em 1919, Orla-Jensen definiu este grupo, contemplando critérios de morfologia celular, modo de fermentação, faixas de temperatura de crescimento e padrões de utilização do açúcar (LAHTINEN et al., 2006).

São retratadas como microrganismos Gram-positivos, com morfologia de cocos ou bastonetes e desprovidos de citocromos. Preferem condições anaeróbias, mas são aerotolerantes, asporogênicos, catalase negativa, ácidos tolerantes e estritamente fermentativos, produzindo 2-hidroxiopropanóico (ácido láctico) no meio, como produto principal da fermentação dos carboidratos (LAHTINEN et al., 2006; STILES; HOLZAPFEL, 1997).

As BAL são importantes na indústria de alimentos devido a sua capacidade de transformar açúcares fermentáveis em ácido láctico, etanol e outros metabólitos, que alteram as características do produto. Agem diminuindo o pH, tornando desfavorável o crescimento de microrganismos potencialmente patogênicos, tanto em produtos alimentícios, como na microflora intestinal humana (RIVERA-ESPINOZA; GALLARDO-NAVARRO, 2010).

Bioquimicamente, a fermentação láctica pode ser de dois modos. Na rota homofermentativa o produto principal da fermentação é o ácido láctico, enquanto na via heterofermentativa se produz a mesma quantidade molar de ácido láctico, etanol, dióxido de carbono e ácido acético (JAY, 2005; LAHTINEN et al., 2006). A principal contribuição da BAL é a rápida acidificação de produtos alimentícios. Por outro lado,

também, contribuem para o sabor, textura e nutrição (KLEEREBEZEM; HUGENHOLTZ, 2003).

Para a taxonomia atual, leva-se em consideração a classificação realizada por Orla-Jensen, com a adição da análise da configuração do ácido láctico produzido, capacidade de crescer a concentrações elevadas de sal, tolerância ácido ou alcalina. Marcadores quimiotaxonômicos e a análise de sequências de rRNA, também, são usadas na classificação (MOTTA; GOMES, 2015).

Disso, decorre-se os 12 gêneros de BAL: *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Tetrateonococcus*, *Vagococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Lactococcus* e *Streptococcus* (LAHTINEN et al., 2006). Os *Lactobacillus* formam o maior grupo de bactérias BAL e devido aos potenciais atributos terapêuticos e profiláticos, foram propostos como probióticos (GIRAFFA; CHANISHVILI; WIDYASTUTI, 2010). Dessa acepção, define-se probióticos com “microrganismos vivos que, quando administradas em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION/FAO; WHO, p. 46, 2006, tradução nossa)⁵.

As bactérias do gênero *Lactobacillus* (lactobacilos) possuem forma de bastonete, sozinhos ou organizados em cadeia. São estritamente fermentativos e aerotolerantes, mas o crescimento ótimo ocorre sob condições anaeróbias. Este microrganismos preferem temperaturas de 37°C a 45°C para se multiplicarem, e como o catabólito principal é o ácido láctico, preferem condições relativamente ácidas (GIRAFFA; CHANISHVILI; WIDYASTUTI, 2010; GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

Este grupo ocupa uma variedade de nichos ecológicos. São naturalmente presentes nas plantas, animais, solo e leite cru. Em humanos formam uma parte da microbiota natural, e colonizam o trato gastrointestinal, trato urogenital, a cavidade oral e pele (LAHTINEN et al., 2006; GIRAFFA; CHANISHVILI; WIDYASTUTI, 2010).

Quanto à sua relevância, os lactobacilos estão presentes em alimentos e dispõem de um excelente histórico de segurança. As culturas são utilizadas como *starters* na fermentação de alimentos e como probióticos. Produzem compostos aromáticos, bacteriocinas e exopolissacarídeos que são relevantes para a qualidade

⁵ “Live microorganisms which when administered in adequate amounts confer a health benefit on the host” (FAO; WHO, p. 46, 2006).

e valor nutricional do produto final (LAHTINEN et al., 2006; GIRAFFA; CHANISHVILI; WIDYASTUTI, 2010).

3.3 MATÉRIAS-PRIMAS PARA FORMULAÇÃO DA PRÉ-MISTURA

Esta seção, designa-se a base teórica acerca das matérias-primas básicas para a produção do *kvass*, com enfoque nos subitens que serão utilizados para a elaboração da pré-mistura, os quais são: pão de centeio e uvas-passas.

3.3.1 *Secale cereale L*

Secale cereale L é a denominação científica para o centeio. Originária do sudoeste da Ásia, pode ser cultivada sob condições ambientais bem diversificadas. Encontrada em regiões de clima seco ou frio, e em solos arenosos e poucos férteis. A produção está concentrada no norte e leste europeu. No Brasil, a lavoura de centeio foi introduzida em solos ácidos e degradados, por imigrantes alemães e poloneses, durante os séculos XIX e XX. Possui ampla resistência ao inverno e menor necessidade de umidade no solo, quando comparada com o trigo. No âmbito das culturas de cereais, o grão de centeio é o que contém maiores níveis de fibras (MORI; JUNIOR; MIRANDA, 2013; POUTANEN, 2014; BUSHUK; SAPIRSTEIN, 2016).

O centeio mantém vantagens sobre outros grãos de cereais, quando se refere a propriedades de nutrição e saúde humana. O seu maior teor de fibra dietética em produtos integrais é benéfica para a laxação, e tem sido demonstrado como efetivo na melhoria da saúde intestinal (JONSSON et al., 2018).

O grão é usado em alimentos, rações e produção de etanol. A palha não processada é empregue como forragem para o gado e na proteção do solo contra erosão. Dentre os produtos alimentícios, têm-se: grãos integrais, grãos maltados, farinha, farinha integral, mistura para pão, macarrão, biscoitos, cereais matinais e bebidas destiladas claras. Usa-se também em produtos não alimentícios, como na fabricação de misturas adesivas e colas, fármacos e cosméticos (MORI; JUNIOR; MIRANDA, 2013).

Os produtos alimentícios oriundos do centeio possuem sabor forte e textura pegajosa. Devido a isso, grande parte dos alimentos de centeio possuem *blends* com outras farinhas. O pão de centeio é um representante destas especificidades.

3.3.1.1 Pão de centeio

Os ingredientes essenciais para a produção de pão de centeio são farinha, água e uma cultura *starter*. Preferencialmente, não se faz a adição de gordura, leite ou açúcar, e geralmente utiliza-se a farinha integral, para que o conteúdo de fibra dietética seja alto. O seu consumo é tradicional, especialmente na Finlândia, Dinamarca, Rússia e países bálticos (POUTANEN, 2014).

A fermentação também pode ocorrer por via natural, utilizando a microbiota local. Katz (2012) define fermentação como o termo descritivo do metabolismo anaeróbio. Essa etapa constitui o processo básico da panificação, responsável pelo crescimento da massa, textura e aroma do pão (GUARIENT, 2004).

Quando se faz uso de fermento comercial, este pode ser fresco e prensado, ou biológico e seco, ambos são oriundos, principalmente, da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Em contrapartida, a fermentação natural usa o *levain* ou da técnica de *backslopping*. O *levain* consiste na mistura de água e farinha, neste caso de centeio, que ao ser exposta é contaminada pelos microrganismos presentes no ambiente. O uso de fermento comercial garante que a microbiota é conhecida, à medida que a composição microbiológica do *levain* é incerta.

A maneira típica de se fazer pão de centeio, descrita por Poutanen (2014), é por meio do *levain*. Os ingredientes essenciais são misturados e fermentados de 8 a 18 horas, durante esse período as bactérias ácido-lácticas e o fermento se desenvolvem.

As massas de farinha de centeio são inelásticas, tendem a ser pegajosas e não podem ser esticadas como as massas de farinha de trigo, são incapazes de reter grandes quantidades de gás carbônico, resultando em um pão de baixo volume com miolo denso. A adição de farinha de trigo diminui a dificuldade encontrada no processamento, por isso é normal fazer uso de ambos ingredientes. Porém, a coloração, sabor e textura do pão irão variar conforme a proporção (SAPIRSTEIN; BUSHUK, 2016).

Ainda sobre a coloração, Poutanen (2014) alega que o pães de fermentação natural alcançam tons mais escuros. Nessa acepção, ressalta-se que o sabor e o aroma distintos dos pães de centeio, especialmente dos mais escuros e pesados, derivam da fermentação da massa de farinha de centeio por *Lactobacillus*. Um pão de coloração forte produzirá *kvass* escuro.

3.3.2 Frutas

As frutas são alimentos que possuem propriedades benéficas à saúde e estimulam a disposição. São fontes de nutrientes, vitaminas, sais minerais, fibras e água. A média de água nas frutas é de 85% em peso, e a de carboidratos de aproximadamente 13%. Em virtude das suas estruturas frágeis e a alta presença de água, são altamente perecíveis (JAY, 2005; BAUER; WALLY; PETER, 2014; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). Os principais deterioradores, são as leveduras e bolores. Como as leveduras possuem crescimento mais acelerado, em algumas circunstâncias, são as primeiras a atuarem (JAY, 2005). A desidratação das frutas é uma das maneiras de aumentar a vida de prateleira destes produtos.

O Ministério da Saúde (2016) resalta que os nutrientes presentes nas frutas são essenciais ao organismo humano, auxiliando no tratamento e prevenção de doenças. O consumo diário se faz necessário, mesmo que em pequenas quantidades.

Este projeto visou utilizar a uva-passa como flavorizante e antioxidante graças a grande quantidade de compostos fenólicos. Salienta-se também que durante a fermentação do *kvass* é possível utilizar suco de diferentes frutas para a adição de sabores.

3.3.2.1 Uvas-passas

As uvas-passas são produzidas a partir do processo de desidratação das frutas frescas. As uvas são uma das culturas mais amplamente cultivadas em todo o mundo, tendo sua composição e propriedades extensivamente investigadas, com vários estudos identificando grandes quantidades de compostos fenólicos, sendo que a maioria destes atuam como antioxidantes (ROCKENBACH et al., 2011), também são fontes de carboidratos, contendo elevada concentração de ferro, vitaminas e

minerais (JAIRAJ et al., 2009). Assim, durante o processo de desidratação é necessário monitoramento desses compostos para garantir a qualidade nutricional do produto (MELO et al., 2018).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

As análises foram realizadas no Laboratório de Química Analítica Qualitativa e Quantitativa, do Departamento de Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) – Campus Ponta Grossa/PR.

4.1 DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO PARA KVAASS

Para o preparo da formulação foram utilizados inicialmente pão de centeio, abacaxi, açúcar e levedura seca instantânea (*Saccharomyces cerevisiae*) para panificação da marca Fleischmann. Iria-se utilizar o abacaxi para flavorização, tornando a bebida final mais próxima de sabores conhecidos pelo mercado brasileiro, porém frente a situação da pandemia do COVID-19 foi necessário descartar o uso dessa fruta, já que não seria possível utilizar os equipamentos necessários para realizar sua secagem. Assim, seguindo receitas mais tradicionais, decidiu-se pela adição da uva-passa e de flavorizantes como mel e limão tahiti.

A formulação foi preparada com três pães de centeio diferentes para escolha de qual seria utilizado, sendo dois de fermentação natural e um com fermentação através da levedura seca instantânea (*Saccharomyces cerevisiae*) da marca Fleischmann. Primeiramente utilizou-se o pão de centeio integral de fermentação natural da marca Roggenvollkornbrot, importado da Alemanha e adquirido em comércio local em Ponta Grossa/PR.

Para o segundo teste na formulação, foi utilizada a mistura para pão de centeio da marca Orquídea, adquirida em comércio local em Curitiba/PR. Na mistura pronta, foram adicionados água e fermento biológico seco, então sovou-se até obter uma massa macia e lisa. A massa pronta foi modelada e coberta com filme plástico para a primeira fermentação por 15 minutos. Após a primeira fermentação, a massa foi dividida em quatro porções, as quais foram modeladas e colocadas em assadeiras. Seguiu-se para a segunda fermentação até dobrarem de volume. Terminado esse processo, a massa foi assada em forno doméstico a 180°C por 35 minutos.

Para a produção do terceiro pão, utilizou-se farinha de centeio Foricher Francesa T130 adquirida em loja especializada em Curitiba/PR e fermento natural (*levain*). Para o preparo do fermento natural, foram pesadas partes iguais de farinha

de centeio e água, sendo a mistura submetida a fermentação durante 6 dias, a temperatura ambiente e em recipiente de vidro esterilizado por 5 minutos a 77°C (GAVA, 1998). A cada 24 horas alimentou-se a mistura com farinha de centeio e água. Durante a etapa de mistura, foram adicionados os ingredientes secos (sal fino, açúcar, farinha de centeio e de trigo) e depois os ingredientes líquidos (água morna e fermento natural). A massa foi sovada até apresentar homogeneidade, em seguida modelada e coberta por filme plástico para a fermentação durante 6 horas. Após a fermentação, a massa foi dividida em duas porções, modelada e assada em forno doméstico por 40 minutos a 200°C, juntamente com uma forma de água para geração de vapor de água.

Os ingredientes fundamentais (pão de centeio torrado, uvas-passas, açúcar e a levedura seca instantânea) foram mantidos em quantidades fixas nas diferentes formulações testadas com os pães. Alterou-se entre as pré-misturas a adição de flavorizantes e os modos de preparo. No Quadro 1 está disponível a quantificação dos ingredientes base.

Quadro 1 – Quantificação dos ingredientes base das pré-misturas

Pão de centeio torrado	4 fatias
Uvas-passas	1/3 de xícara
Açúcar	100 gramas
Levedura seca instantânea	5 gramas

Fonte: Autoria própria (2020)

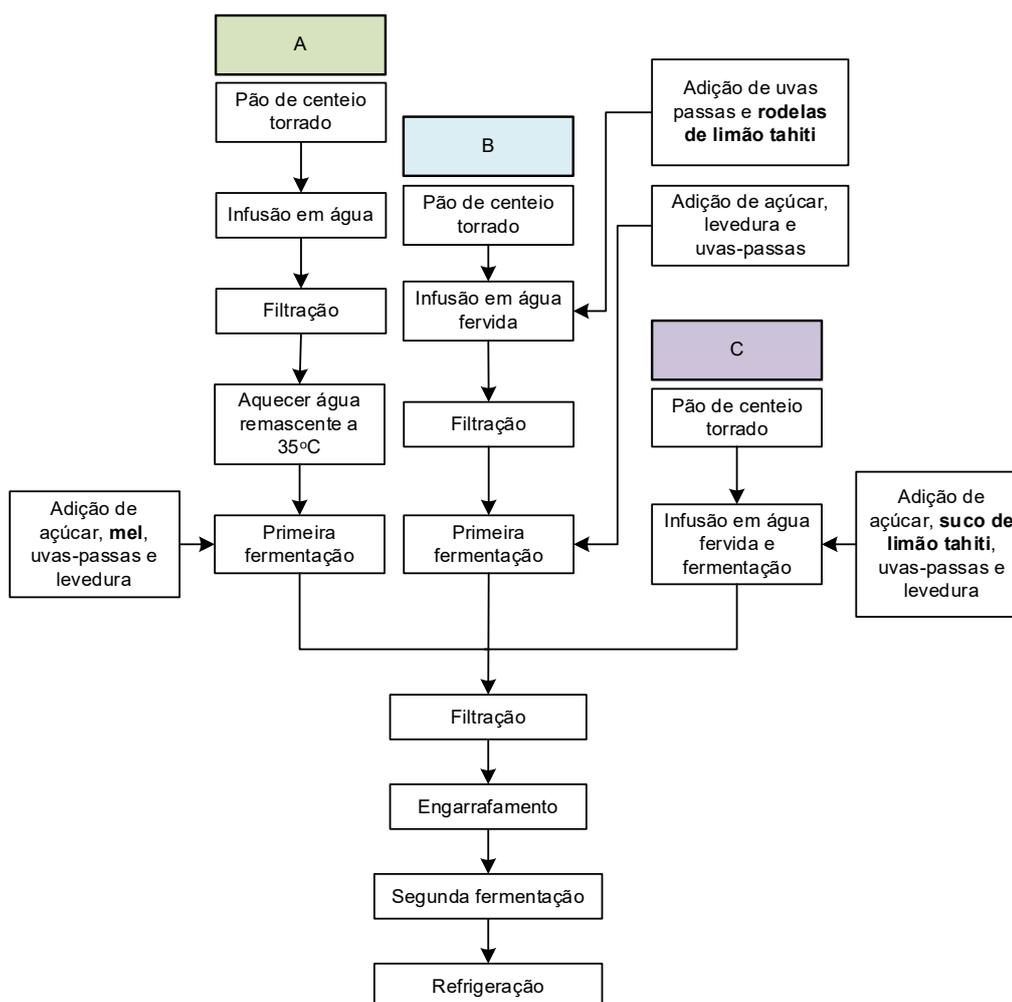
As uvas-passas e levedura seca instantânea para panificação da marca Fleischman, foram adquiridos em comércio local em Curitiba/PR. O mel foi adquirido em comércio familiar em Contenda/PR e o limão tahiti em produção familiar e orgânica em Araucária/PR.

4.2 PREPARO DO KVASS

A preparação do *kvass* deu-se por três pré-misturas. A água utilizada para o preparo foi adquirida em comércio local em Curitiba/PR. Cada pré-mistura possui uma técnica diferente para produção. Os pães foram cortados em fatias de aproximadamente 1 cm e torradas em frigideira até o surgimento de crostas escuras, esse processo levou cerca de 3 minutos em fogo médio para cada lado da fatia.

Para o preparo da primeira amostra deixou-se o pão de centeio torrado submerso em 1,2 litros de água durante 8 horas. Após filtrada, a água remanescente foi aquecida a aproximadamente 35°C, e então foram adicionados açúcar, mel, uvas-passas e *Saccharomyces cerevisiae*. A segunda amostra foi preparada a partir 1,2 litros de água fervida, a aproximadamente 100°C, na qual foram incorporados pão torrado, uvas-passas e rodela de limão tahiti. Após 8 horas de infusão, filtrou-se e adicionou-se açúcar, levedura *Saccharomyces cerevisiae* e pequena quantidade de uvas-passas. Para a terceira amostra, após fervido 1,2 litros de água foram inseridos pão torrado, uvas-passas, açúcar, suco de limão tahiti e *Saccharomyces cerevisiae*, sendo infundido e fermentado paralelamente por 24 horas. Na Figura 3 encontra-se o modelo simplificado das técnicas utilizadas.

Figura 3 – Modo de preparo das pré-misturas A, B e C



Nota: A é a primeira formulação e modo de preparo, B é a segunda formulação e modo de preparo e C é a terceira formulação e modo de preparo.

Fonte: Autoria própria (2020)

No que se refere a quantificação dos flavorizantes, na pré-mistura A utilizou-se duas colheres de sopa de mel, enquanto na pré-mistura B foram adicionadas três fatias de limão tahiti finas, para a pré-mistura C se fez o uso do suco de meio limão tahiti grande.

O processo de preparo foi realizado em recipiente de vidro de boca larga com capacidade de 5L. O vidro foi vedado com pano semidescartável preso com elástico, de maneira que permita a entrada de oxigênio. Os utensílios utilizados passaram por uma operação de pré-lavagem a 40°C e sanitização com água quente a 77°C durante 5 minutos, a fim de eliminar os microrganismos presentes (GAVA, 1998).

As amostras foram fermentadas por 24 horas neste sistema e então engarrafadas em recipientes plásticos. As garrafas permaneceram em temperatura ambiente por 4 horas para que ocorresse a segunda fermentação. Por fim, mantiveram-se as garradas refrigeradas a 5°C em geladeira doméstica. Durante a infusão e fermentações, os recipientes foram mantidos distantes da incidência de luz direta e indireta, e de fontes de calor.

4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As metodologias utilizadas foram adaptadas do livro Métodos Físico-Químicos para Análises de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz, IAL, (2008). As análises foram realizadas em triplicata, posteriormente os dados estatísticos foram tratados.

4.3.1 Preparação das Amostras

As amostras foram retiradas da refrigeração e ambientadas, em seguida transferidas para béqueres de 600 ml. Após a transferência foi realizado a agitação manual com bastão de vidro por 5 minutos para eliminação do CO₂. Nomeou-se como amostra A, B e C.

4.3.2 pH

Para determinação do pH das amostras foram transferidos 70 ml das bebidas descarbonatadas em um béquer de 250 ml. O pH resultante foi determinado utilizando fita indicadora universal da marca Macherey-Nagel com escala de 0 a 14, sendo esta composta por quatro faixas coloridas almofadadas que alteram em contato com o meio. A fita permaneceu imersa nas amostras até que não houvesse mudança na coloração, seguindo a indicação da empresa. Posteriormente, comparou-se as cores da fita indicadora com a escala de cores contida na caixa, conforme a Figura 4.

Figura 4 – Escala de cores da fita indicadora de pH da marca Macherey-Nagel



Fonte: Chemi teknik⁶ (2020)

4.3.3 Acidez Titulável

O método da acidez titulável para vinhos claros e outras bebidas alcoólicas fermentadas utiliza como titulante o hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1 M ou 0,05 M. Em razão da não disponibilidade deste reagente se fez uso do hidróxido de potássio.

Para a titulação foi preparada uma solução titulante de hidróxido de potássio (KOH) a 0,1 mol.L⁻¹. A solução de KOH foi padronizada com biftalato de potássio (hidrogenoftalato de potássio, KHC₈H₄O₄). Pesou-se em balança analítica (Chyo JK-180) 0,514 g de biftalato de potássio, previamente seco em estufa de secagem e esterilização Mod. 320-SE da Fanfem e resfriado em dessecador, e dissolveu-se em

⁶ Disponível em: <www.chemi-technik.no>. Acesso em: 12 out. 2020.

100 ml de água destilada. Nesta solução adicionaram-se 4 gotas de fenolftaleína e titulou-se com o hidróxido de potássio até o aparecimento de coloração rósea persistente. Padronizando-se o hidróxido de potássio a 0,0897 M.

A solução de KOH padronizada foi depositada em uma bureta de 25 ml, previamente ambientada. Pipetou-se 10 ml da amostra descarbonatada em um béquer de 250 ml contendo 100 ml de água destilada, e então adicionou-se 0,5 ml de fenolftaleína. A titulação foi realizada até a viragem para a coloração rósea persistente.

4.3.4 Teor alcoólico

A metodologia do Instituto Adolfo Lutz para a análise do teor alcoólico de vinhos e outras bebidas fermentadas requer destilação. Porém, no momento do estudo não tinha-se acesso a um destilador, completando-se a análise com a metodologia do picnômetro para o cálculo da densidade e posterior quantificação do teor alcoólico por meio comparativo.

4.3.4.1 Densímetro de leitura direta a 20°C

Realizou-se a leitura direta do teor alcóolico por meio do alcoômetro de Gay-Lussac da marca HG Brasil. A amostra descarbonatada foi transferida para uma proveta de 100 ml a 20°C e depois inserido o densímetro, aguardou-se a estabilização para leitura. Os graus Gay-Lussac (°GL) referem-se à porcentagem em volume de álcool em água (% v/v) (IAL, 2008).

4.3.4.2 Densidade e densidade relativa a 20°C/20°C com picnômetro

O método com picnômetro consiste na medida da massa de um volume conhecido de líquido em um recipiente específico denominado picnômetro (Figura 5). O picnômetro foi calibrado em relação à massa da água pura a 20°C. Da relação destas massas e volumes resulta a densidade relativa à água (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

Figura 5 – Picnômetro de 50 ml



Fonte: Qualividros⁷ (2020)

O picnômetro foi lavado, enxaguado com álcool e secado naturalmente. Posteriormente, o picnômetro foi enchido com água a 20° e pesado. O mesmo processo foi realizado com 50 ml da amostra. O valor da densidade relativa foi calculado pela Equação 1.

$$\text{Densidade relativa } 20^{\circ}\text{C}/20^{\circ}\text{C} = \frac{m_{\text{am}} - m_{\text{p}}}{m_{\text{h}_2\text{o}} - m_{\text{p}}} \quad (1)$$

Onde:

m_{am} = massa do picnômetro com a amostra em gramas;

m_{p} = massa do picnômetro vazio em gramas;

$m_{\text{h}_2\text{o}}$ = massa do picnômetro com água em gramas.

O valor da densidade foi calculado pela Equação 2.

$$\rho = \frac{m}{v} \quad (2)$$

Na qual:

m = massa da amostra em gramas;

v = volume do picnômetro em ml.

A graduação alcoólica a 20°C foi determinada utilizando a tabela do Instituto Adolfo Lutz (2008), Anexo A, referente à conversão da densidade em porcentagem de álcool em volume e o resultado expresso em % v/v.

⁷ Disponível em: < www.qualividros.com.br>. Acesso em: 12 out. 2020.

Realizou-se também o cálculo do teor alcoólico por meio comparativo, com os valores de densidade obtidos na literatura (WEAST, 1971, apud DAZZANI et al., 2003) para diferentes misturas de água-etanol (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores da densidade da solução etanol-água em função do teor de etanol

Teor alcoólico (% v/v)	0.789	3.945	7.89	11.83	14.78	23.67	31.56	39.45	47.34
Densidade (g/ml)	0.996	0.989	0.982	0.975	0.969	0.954	0.935	0.914	0.891

Fonte: Adaptado de Weast (1971) apud Dazzani et al. (2003)

Os dados da Tabela 1 foram plotados no Gráfico 1.

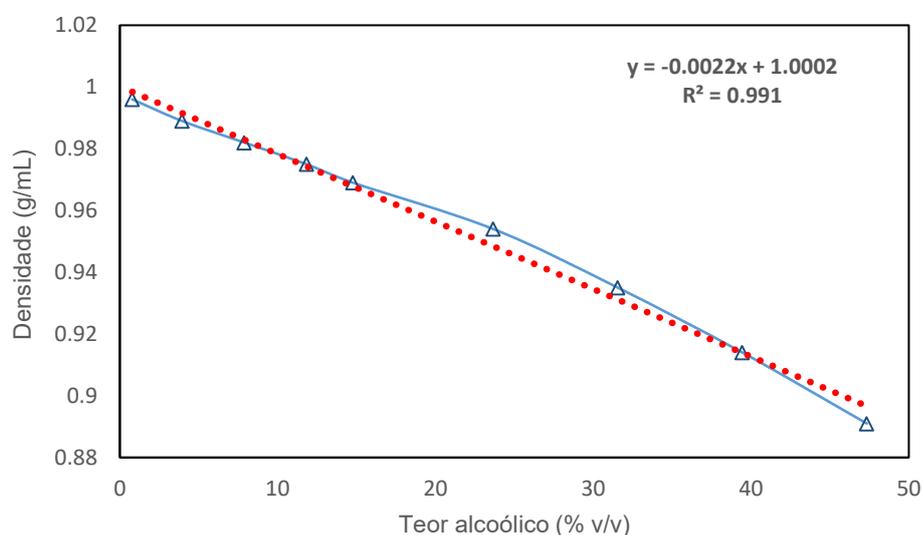


Gráfico 1 – Densidade da solução etanol-água em função do teor de etanol

Fonte: Autoria própria (2020)

O qual forneceu a Equação 3.

$$y = -0,0022x + 1,002 \quad (3)$$

Em que:

y= densidade em g/ml;

x= teor alcóolico em % v/v.

Por consequência, com o valor da densidade encontrado pelo método do picnômetro é possível utilizar a Equação 3 para definir a graduação alcoólica das amostras em % v/v.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os resultados e discussões relativos ao desenvolvimento da formulação, preparo do *kvass*, análises de pH, acidez titulável e teor alcoólico das amostras.

5.1 DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO E PREPARO DO KVASS

Para elaboração da formulação, optou-se por manter uma base fixa de quantidade de pão de centeio, uvas-passas, açúcar e levedura seca instantânea (*Saccharomyces cerevisiae*), variando-se o uso de flavorizantes, como mel e limão tahiti, bem como o modo de preparo. Entretanto, devido à grande influência do pão de centeio na bebida final, foram necessários testes para a escolha do pão utilizado na formulação, já que a coloração do *kvass* é predominantemente marrom dourada e pode variar com a matéria-prima utilizada (Adadi et al.,2019). Além disso, a coloração dos alimentos exerce um fator marcante dado a sua atratividade ou não, determinando aceitação, indiferença ou rejeição (BEZERRA, 2010). Logo, avaliar a coloração desejada para a bebida foi o processo inicial, para isso testou-se três tipos de pães de centeio previamente torrados.

Inicialmente, no preparo da formulação, utilizou-se o pão de centeio integral da marca Roggenvollkornbrot, importado da Alemanha. Este pão não possui preservativos e entre seus ingredientes estão a farinha de centeio integral, água, sal e fermento natural, os quais fornecem ao pão uma coloração escura. Contudo, as características sensoriais e visuais da bebida final não foram satisfatórias. Na Figura 6 é possível observar a produção do *kvass* com o uso do pão Roggenvollkornbrot.

Figura 6 – Formulação utilizando pão de centeio integral de fermentação natural



Nota: Na primeira foto, da esquerda para a direita, é o kvass na etapa de fermentação.

Fonte: Autoria própria (2019)

Para o segundo teste visando a coloração, utilizou-se a mistura para pão de centeio da marca Orquídea. O pão preparado não possui cor intensa (Figura 7), mas ao ser torrado forneceu a bebida final coloração dourada.

Figura 7 – Preparo do kvass utilizando pão de centeio produzido a partir de mistura para pão



Nota: Na primeira foto, da esquerda para a direita, é o kvass na etapa de infusão

Fonte: Autoria própria (2020)

Devido a farinha de trigo enriquecida com ferro e ácido fólico ser o principal ingrediente e ao uso de aditivos e melhoradores na mistura para pão de centeio Orquídea, escolheu-se por realizar um terceiro teste utilizando pão de fermentação natural. Outro fator de rejeição, é que a coloração deste pão se dá em parte pelo uso de farinha integral de trigo em sua composição e não da farinha de centeio. Ainda sobre a coloração os pães de fermentação natural alcançam tons mais escuros (POUTANEN, 2014), fazendo sentido o uso do mesmo para uma bebida visualmente atrativa.

O pão de centeio de fermentação natural foi produzido de forma artesanal e doméstica. Como ingredientes se utilizaram farinha de centeio Foricher Francesa T130, sal fino, açúcar, farinha de trigo e água morna. Este pão possui uma coloração

mais escura, devido a maior proporção de farinha de centeio, bem como a fermentação natural (Figura 8), fornecendo a bebida final coloração marrom-dourada intensa e odor agradável.

Figura 8 – Preparo do kvass utilizando pão de centeio de fermentação natural



Nota: Na primeira imagem, de cima para baixo, estão as pré-misturas B e C, respectivamente.

Fonte: Autoria própria (2020)

Em razão da coloração e odor agradável foi decidido pelo uso do pão de fermentação natural. No Quadro 2 está apresentada a formulação e seus respectivos ingredientes, em ordem de grandeza, o flavorizante e o modo de preparo em relação a fermentação e infusão para cada pré-mistura elaborada. O conjunto dos três itens foi nomeado de pré-mistura.

Para as análises físico-químicas as pré-misturas foram preparadas e o kvass produzido aproximadamente 40 horas antes do uso em laboratório. Durante a primeira fermentação, infusão e segunda fermentação a temperatura ambiente variou de 32°C a 23°C.

Quadro 2 – Composição das pré-misturas para kvass

Pré-mistura	Formulação	Flavorizante	Modo de preparo
A	Pão de centeio de fermentação natural torrado, açúcar, uvas-passas e levedura	Mel	Infusão do pão e posterior fermentação
B		Fatias de limão tahiti	Infusão do pão em água fervente, juntamente com as uvas-passas e as fatias de limão tahiti, com posterior fermentação
C		Suco de limão tahiti	Infusão e fermentação em paralelo em água quente

Fonte: Autoria própria (2020)

A pré-mistura A produziu kvass marrom dourado intenso, com sabor característico de mel. Com a pré-mistura B obteve-se uma bebida com coloração marrom dourada, levemente turva e com odor de limão. Em relação a pré-mistura C, esta apresentou tonalidade também marrom dourada, mas com elevada turbidez, tendo o sabor e odor de limão fortemente presentes. Percebe-se então que o tempo de fermentação, infusão e a temperatura da água influenciam na coloração final do kvass e na turbidez.

5.2 pH

Os resultados experimentais, Tabela 2, demonstram que as receitas de kvass produzidas apresentam um caráter muito ácido, pH inferior a 4, impossibilitando a proliferação bacteriana. Nesse meio a deterioração fica restrita, quase que exclusivamente, ao desenvolvimento de leveduras e bolores (FRANCO E LANDGRAF, 2008, p. 16-19).

Tabela 2 – Resultados do pH

Amostra	pH
A	3
B	3
C	3

Nota: Pré-mistura A, B e C respectivamente.

Fonte: Autoria própria (2020)

Apesar de serem realizadas triplicata para cada amostra, não foi possível determinar o pH exato e como a adição de mel, fatias de limão tahiti ou suco de limão tahiti influenciaram neste valor. Optou-se pelo uso da fita indicadora de pH pela facilidade de replicação do ensaio em ambiente doméstico.

A fita indicadora possui escala de 0-14 com subdivisão de 1, assim o pH das amostras estão entre o intervalo ≥ 3 e < 4 , convergindo com os valores encontrados em literatura especializada. Lidums, Karlina e Kirse (2016) determinaram o pH do *kvass* produzido com *Saccharomyces cerevisiae* em $3,88 \pm 0,02$. O mesmo grupo de pesquisa, determinou em 2014, que o pH do *kvass* após a fermentação natural e estabilizado encontrava-se em 3,77.

Lidums, Karlina e Kirse (2014) citam o regulamento N° 926/2010 do Gabinete de Ministros da República da Letônia como a legislação técnica que delimita os valores das análises físico-químicas do *kvass* e afirmam que os valores de pH descritos anteriormente estão de acordo com a escala regulatória. Em função da barreira linguística e indisponibilidade de acesso não foi possível acessar e anexar o conteúdo do regulamento, no entanto, dentre os parâmetros apresentados considera-se que as pré-misturas produziram *kvass* de acordo com a legislação regulatória da Letônia, país com os principais trabalhos desenvolvidos no assunto.

5.3 ACIDEZ TITULÁVEL

Na Tabela 3 estão representados os resultados da caracterização da acidez total das amostras em mEq/L, unidade padronizada para atender a legislação brasileira (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

Tabela 3 – Resultados da acidez titulável em mEq/L

Amostra	Acidez (mEq/L) \pm DP
A	$81,5337 \pm 0,7586$
B	$95,3462 \pm 0,3285$
C	$86,8978 \pm 0,6570$

Nota: Resultados expressos como média \pm desvio padrão.

Fonte: Autoria própria (2020)

Comparando os resultados observa-se que as amostras B e C possuem maior acidez, 86,8978 mEq/L e 95,3462 mEq/L respectivamente. Essa diferença para com a amostra A se deve, provavelmente, pela adição das rodela de limão tahiti e suco de limão tahiti. O limão tahiti possui ácido cítrico ($C_6H_8O_7$), apresentando pH de 2,69 na fruta e de 2,38 no suco puro (MARMITTI, BETTI E OLIVEIRA, 2016). Não foi possível identificar legislação internacional que regulamente os níveis de acidez em mEq/L para o *kvass*.

A Lei N° 3D-13 do ministério de Agricultura da República da Lituânia que regulamenta as técnicas para descrição, produção e venda de bebidas não alcóolicas e *kvass*, Anexo B, determina a acidez da bebida em ml de 1M de NaOH/100 ml de *kvass*, tendo como referência os valores de 1,5 a 6,0. Na titulação deste estudo utilizou-se o KOH, mas como trata-se de concentração molar e ambos, NaOH e KOH, são monobases altamente solúveis, foi possível calcular a acidez do *kvass* produzido em Eq/100 ml (Tabela 4).

Tabela 4 – Resultados da acidez titulável em Eq/100 ml de *kvass*

Amostra	Acidez (Eq/100 ml de <i>kvass</i>*) ± DP
A	0.9090 ± 0.0085
B	1.0629 ± 0.0037
C	0.9688 ± 0.0073

Nota: Resultados expressos como média ± desvio padrão.

* Eq/100 ml de *kvass* ≈ ml de 1M de OH-/100 ml de *kvass* ≈ ml de 1M de KOH ou 1M de NaOH/100 ml de *kvass*

Fonte: Aatoria própria (2020)

As três amostras não estão concordantes com a legislação da Lituânia no que se diz respeito ao pH, estando abaixo do mínimo de acidez de 1,5 1M de NaOH/100 ml de *kvass*. Ao comparar as Tabelas 3 e 4 nota-se que ambas estão condizentes com o fato de que as amostras B e C possuem acidez superior a amostra A única na qual não se adicionou limão.

A acidez do *kvass*, em geral, se dá pela formação de ácidos orgânicos durante a fermentação, em destaque o ácido láctico. As bactérias ácido-lácticas estão presentes no pão de fermentação natural e no mosto pela contaminação dos microrganismos presentes no ambiente, já que mesmo com devidos cuidados, a produção não foi realizada em local esterilizado. Dessa maneira, há o crescimento

ativo de bactérias ácido-lácticas paralelamente ao desenvolvimento da levedura durante a fermentação do mosto, e entre os produtos e subprodutos produzidos tem-se o ácido láctico (LIDUMS, KARLINA E KIRSE, 2014).

5.4 TEOR ALCOÓLICO

Para a graduação alcóolica realizou-se a medição com o densímetro de Gay-Lussac da HG Brasil. Em razão da escala inicial com divisões de 2 % v/v e o baixo conteúdo de álcool das amostras não foi possível realizar leitura adequada. O densímetro utilizado estava calibrado, possuindo um erro consistente de 2 % v/v a mais do real teor alcóolico.

À vista disso optou-se pelo método da picnometria. O cálculo da densidade relativa das amostras analisadas possibilitou a determinação do teor alcóolico utilizando a tabela de porcentagem de álcool em volume a 20°C (% v/v) do Instituto Adolfo Lutz, 2008 (Anexo A). Na Tabela 5 estão apresentados os resultados obtidos.

Tabela 5 – Resultados da graduação alcóolico utilizando o Anexo A

Amostra	Teor Alcoólico a 20°C (% v/v) ± DP
1	0.0000 ± 0.0000
2	0.1806 ± 0.1416
3	0.1067 ± 0.0009

Nota: Resultados expressos como média ± desvio padrão.

Fonte: Autoria própria (2020)

Os valores do teor de etanol obtidos de 0.18 % v/v e 0.10 % v/v para as amostras B e C, respectivamente, estão de acordo com a Lei N° 3D-13 do ministério de Agricultura da República da Lituânia, Anexo B, já que o conteúdo de álcool não deve ultrapassar 1.2 % v/v. A amostra A não apresentou teor alcóolico, possivelmente quando se aqueceu a água remanescente da filtração passou-se dos 35°C indicados, inibindo ou afetando o desenvolvimento de parte da *Saccharomyces cerevisiae* utilizada. No que se refere a legislação brasileira, conforme o Decreto nº 6.871/2009 as amostras A, B e C não são consideradas bebidas alcóolicas em virtude de a graduação alcóolica ser abaixo de 0.5 % v/v.

A Tabela 6 apresenta o teor alcoólico calculado para as amostras através da Equação 3.

Tabela 6 – Resultados do teor alcoólico utilizando o método da comparação

Amostra	Teor Alcoólico a 20°C (% v/v) ± DP
A	0.0000 ± 0.0000
B	2.1273 ± 0.0968
C	2.0776 ± 0.0359

Nota: Resultados expressos como média ± desvio padrão.

Fonte: Autoria própria (2020)

As graduações alcoólicas das amostras B e C ultrapassaram 1,2 % v/v, para o método da comparação, não estando de acordo com a legislação da Lituânia. Apesar disso, Lidums (2015) esclarece que até valores de 2,5% v/v o *kvass* é considerado aceito, não sendo descartado. A amostra A não apresentou teor alcoólico, estando de acordo com o resultado encontrado no método da picnometria. Quando classificadas em vista da regulamentação brasileira (Decreto nº 6.871/2009), as amostras B e C são consideradas bebidas alcoólicas, enquanto a amostra A é considerada bebida não alcoólica.

Diante dos valores obtidos pelos dois métodos, nota-se que há uma discrepância. Isso se deve a não destilação do fermentado e a utilização da tabela de conversão da densidade relativa do Instituto Adolfo Lutz (2008), a qual foi desenvolvida para vinhos e fermentados destilados.

6 CONCLUSÃO

Entre as pré-misturas desenvolvidas pode-se considerar que a mais adequada a produzir *kvass* em concordância com a Lei N° 3D-13 do ministério de Agricultura da República da Lituânia, que regulamenta as técnicas para descrição, produção e venda de bebidas não alcólicas e *kvass*, e com o regulamento N° 926/2010 do Gabinete de Ministros da República da Letônia é a pré-mistura A. A pré-mistura A possui pH e teor alcoólico dentro dos parâmetros esperados, entretanto a acidez está abaixo do mínimo de 1,5 ml de NaOH por 100 ml de *kvass*.

Segundo o estudo, as pré-misturas B e C produzem bebida com o pH de acordo com o esperado, mas em virtude da incerteza no teor alcoólico de ambas não é possível classificá-las com a Lei N° 3D-13. Em relação a adição de flavorizantes, notou-se diferenciação na acidez das amostras, mas não houve alterações perceptíveis na coloração. Sobre a acidez, as pré-misturas B e C não se enquadraram na faixa determinada pela Lituânia. Recomenda-se que se faça nova medição do teor alcoólico com a bebida previamente destilada e titulação com hidróxido de sódio.

As três pré-misturas produziram bebidas visualmente agradáveis e com sabores característicos. Fatores como temperatura, tempo de fermentação e quantidade de açúcar disponível afetam a qualidade final do *kvass*, mas como não existe produção da bebida no Brasil de maneira industrial, a não ser de forma artesanal por grupos específicos para consumo próprio, não há um protocolo padrão, dessa forma são necessários estudos posteriores para encontrar as condições ótimas de produção para desenvolvimento de uma bebida adequada e com qualidade tecnológica.

Salienta-se que o *kvass* é uma bebida com apelo de saudabilidade, estando de acordo com o que se espera do mercado de bebidas (ITAL, 2016). Como a bebida não passa por pasteurização, acredita-se que a contagens celulares elevadas de levedura e bactérias ácido-lácticas no produto final, que fornecem naturalmente sabor, textura e nutrição. A sua produção a partir das pré-misturas é rápida e sem dificuldades, proporcionando uma bebida fermentada levemente azeda, naturalmente carbonatada, refrescante e diferenciada.

Assim, com as análises realizadas, conclui-se que as pré-misturas produziram *kvass*, sendo que a mistura A foi a única dentro das faixas de pH e teor alcoólico dos

padrões da Lituânia e Letônia. Por causa da falta de legislação brasileira vigente e a dificuldade de acesso a legislação internacional não foi possível outras análises para caracterização e comparação da bebida produzida.

Trabalhos futuros poderão realizar a fermentação substituindo o uso de *Saccharomyces cerevisiae* seca instantânea pelo *levain* utilizado na produção do pão de centeio. Um tópico interessante para ser desenvolvido é a cinética da fermentação do *kvass* produzido, bem como a influência dos flavorizantes na graduação alcoólica. Pode-se também efetuar a contagem das bactérias ácido-lácticas para verificar a possibilidade de classificar oficialmente a bebida como probiótica. Outra sugestão é conduzir testes de aceitabilidade do *kvass* preparado.

REFERÊNCIAS

BAUER, V. R. P.; WALLY, A. PUALA; PETER, M. Z. **Tecnologia de Frutas e Hortaliças**. Pelotas, RG: e-TEC/MEC, 2014.

BRASIL. Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Brasília, DF. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm>. Acesso em: 5 de jun. 2019.

BRASIL. Estatuto da criança e do adolescente: lei n. 8.069, de 13 de julho de 1990, e legislação correlata. Brasília: Câmara dos Deputados, Edições Câmara, 9.ed. p. 207. 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, B. **Na cozinha com a frutas, legumes e verduras**. Brasília, DF, 2016.116 p.

CHAMBERS, P. J.; PRETORIUS, I. S. Winemaking, Science and Yeast Research. **Embo reports**, v. 11, n. 12, p. 914–920, 2010.

Colaborativa entre cervejarias e padaria resulta na primeira kvass. Disponível em: <<http://cwbeerfood.com.br/colaborativa-entre-cervejarias-e-padaria-resulta-na-primeira-kvass/>>. Acesso em: 5 de jun. 2019.

DAZZANI, Melissa; CORREIA, Paulo R.M.; OLIVERA, Pedro V.; MARCONDES, Maria Eunice R. Explorando a Química na Determinação do Teor de Álcool na Gasolina. **Revista Química Nova Escola**, n. 17, 2003.

DE VUYST L; NEYSENS, Patricia. **The sourdough microflora and metabolic interactions**. Trends in Food Science & Technology. Vol 16, Issues 1–3, January– 31 March 2005, pages 43–56.

DLUSSKAYA, E. et al. Microbial and chemical analysis of a kvass fermentation. **European Food Research and Technology**, v. 227, n. 1, p. 261–266, 2007.

DUARTE, N. C.; PALSSON, B. Ø.; FU, P. Cerevisiae. **BMC Genomics**, v. 11, 2004.

DZIUGAN, P. Kwas chlebowy – napój na nowo odkrywany (1). n. 1, p. 21–22, 2006.

DZIUGAN, P. Kwas chlebowy zdrowy i orzeźwiający. 2008.

FARID, F. et al. **Chapter 5.1 - Saccharomyces cerevisiae**. [s.l.] Elsevier Inc., 2019.

FIQUEIREDO, C. M. **Análise molecular da floculação e formação de espuma por leveduras utilizadas na produção industrial de álcool combustível no Brasil**. Dissertação (Pós-graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2008.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

GAMBUŚ, H. et al. Health benefits of kvass manufactured from rye wholemeal bread.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações. São Paulo: Nobel, 2008.

Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, v. 4, n. Special issue 3, p. 34–39, 2015.

GIRAFFA, G.; CHANISHVILI, N.; WIDYASTUTI, Y. Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology. **Research in Microbiology**, v. 161, n. 6, p. 480–487, 2010.

GODDARD, M. R.; GREIG, D. Saccharomyces cerevisiae: A nomadic yeast with no niche?. **FEMS Yeast Research**, v. 15, n. 3, p. 1–6, 2015.

GUARIENT, E. M. **Fazendo pães caseiros**. Passo Fundo, RS: Embrapa Trigo, 2004.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ – IAL. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 1020 p.

INSTITUTO DE TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS. **Brasil Beverage Trends 2020**. 1ed. Campinas: ITAL, 2016. 302 p.

JARGIN, S. V. Kvass: A possible contributor to chronic alcoholism in the former soviet union-alcohol content should be indicated on labels and in advertising. **Alcohol and Alcoholism**, v. 44, n. 5, p. 529–529, 2009.

JAY, J.M. *Microbiologia de Alimentos*. 6ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JONSSON, K. et al. Rye and health - Where do we stand and where do we go? **Trends in Food Science and Technology**, v. 79, n. May, p. 78–87, 2018.

JUNIOR, E. F. DE S. **Alterações fisiológicas em *Saccharomyces cerevisiae* submetida a campo eletromagnético estático**. Dissertação (Pós-graduação em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.

KATZ, S. E. **The Art of Fermentation**. Chelsea Green Publishing Company: 2012.

KLEEREBEZEM, M.; HUGENHOLTZ, J. Metabolic pathway engineering in lactic acid bacteria. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 14, n. 2, p. 232–237, 2003.

LAHTINEN, SAMPO; SALMINEN, SEPPO; OUWEHAND, ARTHUR; WRIGHT, A. VON. **Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects**. [s.l.] CRC Press, 2006. v. 42.

LIDUMS, I. et al. Evaluation of aroma volatiles in naturally fermented kvass and kvass extract. **Research for Rural Development**, v. 1, n. May, p. 143–149, 2015.

LIDUMS, I. et al. **Nutritional value, vitamins, sugars and aroma volatiles in naturally fermented and dry kvass**. 11th Baltic Conference on Food Science and Technology. **Anais...**2017.

LIDUMS, I.; KARKLINA, D. Microbiological composition assessment of bread kvass. **Research for Rural Development**, v. 1, p. 138–141, 2014.

LIDUMS, I.; KARKLINA, D. **Possibilities of dry kvass for food flavour enrichment**. 11th International Scientific Conference - Students on their way to science. **Anais...**Jelgava, Letônia: 2016.

LIDUMS, I.; KARKLINA, D.; KIRSE, A. Quality Changes of Naturally Fermented Kvass During Production Stages. **9th Baltic Conference on Food Science and Technology - Food for Consumer Well-Being: Foodbalt 2014**, p. 188–191, 2014.

LIDUMS, I.; KARKLINA, D.; KIRSE, A. Comparison of Bread Kvass Fermented with Different Yeasts. **Ad. Alta: Journal of Interdisciplinary Research**, [s. l.], v.6, n.2, p.124-127, 2016.

MARTINI, A. Origin and domestication of the wine yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Wine Research**. v. 1264, n. Vol.4, n.3, p. 165–176, 1993.

MORI, C. DE; JUNIOR, A. DO N.; MIRANDA, M. Z. DE. **Aspectos econômicos e conjunturais da cultura do centeio no mundo e no Brasil**. Passo Fundo, RS: Embrapa Trigo, 2013.

MORTIMER, R. K. Evolution and Variation of the Yeast (*Saccharomyces*) Genome. **Cold Spring Harbor Laboratory Press: Genome Research**, n. 510, p. 403–409, 2000.

MOTTA, A. D. S.; GOMES, M. D. S. M. Technological and Functional Properties of Lactic Acid Bacteria: The Importance of These Microorganisms for Food. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 70, n. 3, p. 172, 2015.

PISKUR, J. et al. How did *Saccharomyces* evolve to become a good brewer? **Trends in Genetics**, v. 22, n. 4, p. 2–5, abr. 2006.

POUTANEN, K. **Front matter**. St. Paul, Minnesota, U.S.A: AACC International, Inc., 2014.

REG (CE) 2073/2005, C. E. Regulamento (CE) 2073/2005 relativo aos critérios microbiológicos aplicáveis a produtos alimentícios. **Jornal Oficial da União Europeia**, p. 1–26, 2005.

RIVERA-ESPINOZA, Y.; GALLARDO-NAVARRO, Y. Non-dairy probiotic products. **Food Microbiology**, v. 27, n. 1, p. 1–11, 2010.

ROCKENBACH II, GONZAGA LV, RIZELIO VM, GONÇALVES AESS, GENOVESE MI, FETT R. **Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and skin**

extracts of red grape (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) pomace from Brazilian winemaking. *Food Res Inter* 2011; 44: 897–901

SAPIRSTEIN, H. D.; BUSHUK, W. Rye Grain: Its Genetics, Production, and Utilization. **Encyclopedia of Food Grains: Second Edition**, v. 1–4, n. 3, p. 159–167, 2016.

SCHULLER, D. E. **Desenvolvimento de um meio de cultura seletivo/diferencial para a levedura de contaminação alimentar *zygosaccharomyces bailii*.** Dissertação (Mestrado em Ciência do Ambiente) – Universidade do Minho, 1998.

SHETTY, K. et al. **Food biotechnology.** CRC Press, 2006.

STILES, M. E.; HOLZAPFEL, W. H. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. **International Journal of Food Microbiology**, v. 36, n. 1, p. 1–29, 1997.

VERSTREPEN, K. J. et al. Yeast flocculation: What brewers should know. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 61, n. 3, p. 197–205, 2003.

WIESIOLEK, C. C. **Alterações fisiológicas em *Saccharomyces cerevisiae* submetida a campo eletromagnético estático** **Alterações fisiológicas em *Saccharomyces cerevisiae* submetida a campo eletromagnético estático.** Dissertação (Mestrado em Biológicas-Fisiologia)–Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.

FAO/WHO. **Probiotics in food health and nutritional properties and guidelines for evaluation.** 2006. 56p.

ANEXO A - Porcentagem de álcool em volume a 20°C (% v/v) correspondente à densidade relativa

Tabela 6 - Porcentagem de álcool em volume a 20°C (% v/v) correspondente à densidade relativa

D 20°C/20°C	% v/v						
1,00000	0,0	0,99632	2,5	0,99281	5,0	0,98956	7,5
0,99985	0,1	0,99618	2,6	0,99268	5,1	0,98944	7,6
0,99970	0,2	0,99603	2,7	0,99255	5,2	0,98931	7,7
0,99955	0,3	0,99589	2,8	0,99241	5,3	0,98919	7,8
0,99939	0,4	0,99574	2,9	0,99228	5,4	0,98906	7,9
0,99924	0,5	0,99560	3,0	0,99215	5,5	0,98893	8,0
0,99910	0,6	0,99546	3,1	0,99201	5,6	0,98881	8,1
0,99895	0,7	0,99531	3,2	0,99188	5,7	0,98869	8,2
0,99880	0,8	0,99517	3,3	0,99174	5,8	0,98857	8,3
0,99866	0,9	0,99503	3,4	0,99161	5,9	0,98845	8,4
0,99851	1,0	0,99489	3,5	0,99148	6,0	0,98833	8,5
0,99836	1,1	0,99475	3,6	0,99135	6,1	0,98820	8,6
0,99821	1,2	0,99461	3,7	0,99122	6,2	0,98807	8,7
0,99807	1,3	0,99447	3,8	0,99109	6,3	0,98794	8,8
0,99792	1,4	0,99433	3,9	0,99096	6,4	0,98782	8,9
0,99777	1,5	0,99419	4,0	0,99083	6,5	0,98770	9,0
0,99763	1,6	0,99405	4,1	0,99070	6,6	0,98758	9,1
0,99748	1,7	0,99391	4,2	0,99057	6,7	0,98746	9,2
0,99733	1,8	0,99377	4,3	0,99045	6,8	0,98734	9,3
0,99719	1,9	0,99363	4,4	0,99032	6,9	0,98722	9,4
0,99704	2,0	0,99349	4,5	0,99020	7,0	0,98710	9,5
0,99689	2,1	0,99336	4,6	0,99007	7,1	0,98698	9,6
0,99675	2,2	0,99322	4,7	0,98994	7,2	0,98686	9,7
0,99661	2,3	0,99308	4,8	0,98981	7,3	0,98674	9,8
0,99646	2,4	0,99295	4,9	0,98969	7,4	0,98662	9,9

Fonte: Métodos Físico-Químicos para Análises de Alimentos (IAL, p. 414, 2008)

ANEXO B - *Adopting the technical regulation for description, production and placing for sale of non-alcoholic beverages and kvass – Lei N° 3D-13 da Ordem de ministros para agricultura da República da Lituânia item V*

1. -----IND- 2018 0172 LT- EN- ----- 20180502 --- --- PROJET

Consolidated version as of 10 December 2016

ORDER OF THE MINISTER FOR AGRICULTURE OF THE REPUBLIC OF
LITHUANIA

**ADOPTING THE TECHNICAL REGULATION FOR DESCRIPTION, PRODUCTION
AND PLACING FOR SALE OF NON-ALCOHOLIC BEVERAGES AND KVAAS**

No 3D-13 of 12 January 2009⁸

Vilnius

**TECHNICAL REGULATION FOR THE DESCRIPTION, PRODUCTION AND
PLACING FOR SALE OF NON-ALCOHOLIC BEVERAGES AND KVAAS**

V. QUALITY AND SAFETY PARAMETERS

1. Each beverage title shall have a recipe drafted and approved by the chief executive of the enterprise. Beverage recipes shall detail the following:

37.1. organoleptic, physical, and chemical parameters of the drink;

37.2. quantity of raw ingredients;

37.3. shelf life.

2. Organoleptic parameters of drinks:

Parameter name	Description and target
Appearance:	
Clear drinks	Clear liquid with no sediments or admixtures.
Turbid drinks	Uniformly turbid liquid with no foreign admixtures. Insignificant sediments of natural origin allowed.
Taste, odor	Pure, with no organoleptic deviations, typical of the specified raw ingredients.

⁸Disponível em: <ec.europa.eu>index.cfm>search>. Acesso em 20 fev. 2020.

Colour	Typical of the beverage, as specified in the recipe.
--------	--

3. Physical and chemical parameters of beverages:

Parameter name	Target
Carbon dioxide content, per cent by weight:	
Strongly carbonated	Over 0.50, not exceeding 0.80
Carbonated	Over 0.30, not exceeding 0.50
Lightly carbonated	Not exceeding 0.30
Alcohol content, per cent by volume:	
Soft drinks	Not exceeding 0.5
Kvass	Not exceeding 1.2
Content of soluble dry substances, per cent by weight:	
Soft drinks	According to the recipe
Kvass	Over 3.0
Titratable acidity of soft drinks, recalculated as citric acid, in g/l	According to the recipe
Titratable acidity of kvass, in ml of 1 M NaOH solution per 100 ml of kvass	From 1.5 to 6.0

NOTE. Carbon dioxide is measured only in beverages filled into bottles and metal cans.

4. Permitted maximum deviations of physical and chemical parameters of beverages shall be as follows:

40.1. soluble dry substances – ± 0.5 per cent by weight;

40.2. titratable acidity – ± 0.2 g of citric acid per litre of drink or ± 0.3 ml of 1 M NaOH solution per 100 ml of kvass. [...]