

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

BRUNA DARTORA

EM BUSCA DA KOMBUCHA PERFEITA: KOMBUCHAS DE CHÁ VERDE, PRETO E
ERVA-MATE, MAPA SENSORIAL PERCEBIDO, EMOÇÕES E O EFEITO DO TEMPO
DE FERMENTAÇÃO NOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS, ATRIBUTOS
SENSORIAIS E COMPOSTOS VOLÁTEIS

Dissertação de Mestrado

ENCANTADO
2023



uergs

Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

PPGCTA

Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos



BRUNA DARTORA

**EM BUSCA DA KOMBUCHA PERFEITA: KOMBUCHAS DE CHÁ VERDE, PRETO E
ERVA-MATE, MAPA SENSORIAL PERCEBIDO, EMOÇÕES E O EFEITO DO TEMPO
DE FERMENTAÇÃO NOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS, ATRIBUTOS
SENSORIAIS E COMPOSTOS VOLÁTEIS**

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Unidade em Encantado, como requisito para obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Dr. Karla Perez

Coorientador: Dr. Voltaire Sant'Anna

Encantado

2023

Catalogação de publicação na fonte (CIP)

D226e	<p>Dartora, Bruna</p> <p>Em busca da Kombucha perfeita: Kombuchas de chá verde, preto e erva-mate, mapa sensorial percebido, emoções e o efeito do tempo de fermentação nos parâmetros físico-químicos, atributos sensoriais e compostos voláteis/ Bruna Dartora. – Encantado: Uergs, 2023.</p> <p>143 f.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Unidade em Encantado, 2023.</p> <p>Orientadora: Prof.^a. Dra. Karla Perez</p> <p>Coorientador: Prof. Dr. Voltaire Sant’Anna</p> <p>1. Kombucha. 2. Compostos aromáticos. 3. Planejamento fatorial. 4. Dissertação. I. Perez, Karla. II. Sant’Anna, Voltaire. III. Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Unidade em Encantado, 2023. IV. Título.</p>
-------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

BRUNA DARTORA

EM BUSCA DA KOMBUCHA PERFEITA

Dissertação de Mestrado

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL

MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Data da aprovação: ____ / ____ / ____

Banca Examinadora

Dra. Lilian Raquel Hickert

Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

Dra. Rosiele Lappe Padilha

Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

Dr. Stela Maris Meister Meira

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia

“A ciência nunca resolve um problema sem criar pelo menos outros dez”.

George Bernard Shaw

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo equilíbrio durante esse período pois conciliar maternidade, trabalho e mestrado não é uma tarefa fácil;

Ao meu marido e parceiro Roberto pela cumplicidade, incentivo e paciência;

Agradeço meu filho Ezequiel que entendeu todas as vezes em que a mãe precisou se ausentar, sempre compreensivo e amoroso;

Aos meus pais pelo apoio incondicional e principalmente a Dona Dirce, minha mãe, parceira de viagens, testes no laboratório, análises sensoriais, produções de kombucha e ainda quando necessário cuidando do neto;

Agradeço imensamente ao professor Voltaire Sant'Anna, meu maior incentivador, mestre que me desafiou a pensar fora da caixa tornando possível vários testes, análises e um conhecimento imenso na área de análise sensorial.

Agradeço a minha orientadora Karla por suas contribuições com a minha pesquisa.

Agradeço as demais pessoas, não citadas, pelo incentivo e apoio na realização desse trabalho.

RESUMO

Kombucha é uma que carece de estudos para padronização de parâmetros de processo. Assim, no artigo I avaliou-se o efeito do teor de sacarose, da massa inicial do SCOBY e da composição do chá em diversas características da bebida final. Para tanto, foi realizado um planejamento fatorial e o efeito das três variáveis foi avaliado estatisticamente. O rendimento de kombucha variou de 87,3% a 96,4%; crescimento do SCOBY, de 41,11% para 62,08%; turbidez, de 108,0 a 421,5 NTU; ácido acético, de 3,78 e 5,33 mg/mL; glicerol, de 0,25 a 0,52 mg/mL; e teor de etanol, de 1,90 a 3,21 mg/mL. Os resultados mostraram que o rendimento de kombucha, pH e crescimento de SCOBY foram significativamente influenciados pela massa de SCOBY; a acidez foi muito afetada pela composição do chá; a turbidez do kombucha foi significativamente afetada pelo teor de sacarose e pela interação do teor de açúcar e composição do chá; glicerol, álcool e ácido acético não foram afetados pelos parâmetros avaliados. Na fase II foram comparadas kombuchas de chá verde e preto e erva-mate. Foram avaliadas as propriedades físico-químicas, polifenóis totais, teor de taninos condensados, atividade antioxidante e anti-hipertensiva. *Check-all-that-apply* foi utilizado para caracterização sensorial das amostras e das emoções evocadas. Kombucha de chá verde apresentou maiores valores de ácido acético e atividade anti-hipertensiva e menores valores de etanol. Kombucha de chá preto apresentou maior teor de polifenóis. Por outro lado, kombucha de erva-mate apresentou menores valores de atividade anti-hipertensiva. Kombucha de chá verde apresentou aroma e sabores ácidos; bebida de chá preto, cor amarela; erva-mate e sabor intenso; a erva-mate kombucha apresentou coloração brilhante. A kombucha ideal deve apresentar cheiro e sabores suaves e ser doce. A consciência de que uma das preparações de kombucha era feita de erva-mate evocou as emoções de paz, amor e tranquilidade; os consumidores evocaram emoções agressivas, preocupadas e boas para a bebida de chá preto e para chá verde as emoções evocadas forma de satisfeitos. Assim, as diferentes folhas de chá tiveram desempenho diferente para características físico-químicas, atributos sensoriais percebidos e emoções evocadas. Na fase III foram avaliadas as características da kombucha de chá verde durante a fermentação, monitorando as alterações de pH, acidez, turbidez, polifenóis, etanol, ácido acético, compostos voláteis, além do perfil sensorial e aceitação até 14 dias de fermentação. O pH e a acidez das kombuchas diminuíram com o tempo conforme o esperado, mas após 4 dias de fermentação, a bebida ultrapassou os limites legais brasileiros de acidez (130 mEq/L) e produziu mais de 0,5% de AVB, que rotula a bebida como alcoólica. O teor de polifenóis totais e taninos condensados aumentou até o sétimo dia de fermentação e permaneceu constante. A fermentação impactou fortemente o aroma da infusão com alta formação de ácidos voláteis, como álcoois, ésteres e cetonas. Os aldeídos foram degradados durante o bioprocessamento. A caracterização sensorial de kombucha mostrou que a fermentação de 4 dias aumentou a turbidez percebida; aroma de vinagre, frutas cítricas, ácido e aroma alcoólico; e produziu a bebida com sabor azedo, amargo e de vinagre. Assim, o tempo de fermentação de kombuchas deve ser controlado, pois eles mudam rapidamente e impactam nos parâmetros físico-químicos e no perfil sensorial da bebida que podem ser negativos. Os resultados trazem informações com base científica sobre essa bebida que é tendência mundial, buscando alta qualidade e padronização.

Palavras-chave: chá verde, chá preto, planejamento fatorial, *Ilex paraguariensis*; anti-hipertensivo; bebida fermentada; compostos aromáticos; metagenômica; análise sensorial.

ABSTRACT

Kombucha is a functional drink that requires studies to standardize process parameters; Thus, in experiment I, the effect of sucrose content, initial SCOBY mass and tea composition on several characteristics of the final drink was evaluated. To this end, a factorial design was carried out, and the effect of the three variables was statistically evaluated. Kombucha yield ranged from 87.3% to 96.4%; SCOBY growth, from 41.11% to 62.08%; turbidity, from 108.0 to 421.5 NTU; acetic acid, 3.78 and 5.33 mg/ mL ; glycerol, 0.25 to 0.52 mg/ mL ; and ethanol content, from 1.90 to 3.21 mg/ mL . The results showed that kombucha yield, pH and SCOBY growth were significantly influenced by SCOBY mass; acidity was greatly affected by the composition of the tea; kombucha turbidity was significantly affected by sucrose content and the interaction of sugar content and tea composition; glycerol, alcohol and acetic acid were not affected by the parameters evaluated. In phase II, green and black tea kombuchas and yerba mate were compared. The physicochemical properties, total polyphenols, condensed tannin content, antioxidant and antihypertensive activity were evaluated . Check-all-that-apply was used for sensory characterization of the samples and the emotions evoked. Kombucha green tea showed higher values of acetic acid and antihypertensive activity and lower values of ethanol. Kombucha black tea had a higher polyphenol content. Yerba mate kombucha showed lower antihypertensive activity values. The green tea kombucha had a tart, tart aroma and flavors; black tea drink, yellow color; yerba mate and intense flavor; yerba mate kombucha had a bright color. The ideal kombucha should have a mild smell and flavor and be sweet. The awareness that kombucha was made from yerba mate evoked the emotions of peace, love and tranquility; consumers evoked aggressive, worried and good emotions towards the black tea drink and; green tea consumers evoked to be satisfied . Different tea leaves performed differently for physicochemical characteristics, perceived sensory attributes, and evoked emotions. In phase III , the characteristics of green tea kombucha were evaluated during fermentation, monitoring changes in pH, acidity, turbidity, polyphenols, ethanol, acetic acid, volatile compounds, in addition to the sensorial profile and acceptance up to 14 days of fermentation. The pH and acidity of the kombuchas decreased over time as expected, but after 4 days of fermentation, the drink exceeded Brazilian legal acidity limits (130 mEq/L) and produced more than 0.5% AVB, which labels the drink as alcoholic. The content of total polyphenols and condensed tannins increased until the seventh day of fermentation and remained constant. Fermentation strongly impacted the aroma of the infusion with high formation of volatile acids, such as alcohols, esters and ketones. Aldehydes were degraded during the bioprocess. Sensory characterization of kombucha showed that 4-day fermentation increased perceived turbidity; vinegar, citrus fruits, acid and alcoholic aroma; and produced the drink with a sour, bitter and vinegar taste. Therefore, the fermentation time of kombuchas must be controlled, as they change quickly and their impact on the physical-chemical parameters and sensory profile of the drink can be negative. The results provide scientifically based information about this drink that is a global trend, seeking high quality and standardization.

Keywords: green tea, black tea, factorial design, *Ilex paraguariensis*; antihypertensive; fermented drink; aromatic compounds; metagenomics; sensory analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – SCOBY: <i>Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast</i>	21
Figura 2 - Análise CA de kombuchas feitas de diferentes infusões (azul) e sua relação com atributos sensoriais (vermelho).	68
Figura 3 – Análise CA dos escores de gosto e atributos dos kombuchas avaliados que diferem estatisticamente entre as amostras ($p < 0,05$, pelo teste Q de Cochran.).	70
Figura 4 - Impactos médios que impulsionam a aceitação (A) e rejeição (B) dos kombuchas.	71
Figura 5 - A análise CA emoções evocadas para o chá preto, chá verde e infusão de erva-mate que diferiram estatisticamente entre as amostras ($p < 0,05$, pelo teste Q de Cochran.).	72
Figura 6 - Frequência de preferência de sabor dos consumidores por kombuchas com sabor.	74
Figura 7 - Abundância relativa de espécies de fungos (barras cinzas) e bactérias (barras pretas) identificadas na associação de microrganismos do kombucha utilizada no presente trabalho.	95
Figura 8. Análise PCA de compostos voláteis e kombuchas aos 0 (T0), 4 (T4), 7(T7), 10 (T10) e 14 dias (T14) de fermentação a 25°C.	110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – pH e acidez de kombuchas no tempo zero de fermentação para experimentos de planejamento fatorial	36
Tabela 2 – Planejamento fatorial e respostas para a produção de kombuchas	40
Tabela 3 – Coeficientes de regressão do planejamento fatorial e efeito das variáveis independentes nas características dos kombuchas.	42
Tabela 4 - Parâmetros físico-químicos e propriedades bioativas de kombuchas.	61
Tabela 5 - Tabela de contingência de atributos e kombuchas avaliada pelo método CATA.	66
Tabela 6 - Evolução de pH, acidez titulável, turbidez, ácido acético, etanol, glicerol, polifenóis totais e taninos condensados durante a kombucha durante 14 dias de fermentação a 25°C.	97
Tabela 7. Mudanças na quantidade de compostos voláteis no chá verde kombucha durante a fermentação.	100
Tabela 8. Tabela de contingência de atributos da kombucha não fermentada (T0) e fermentada por 4 dias (T4) avaliada pelo método CATA.	112

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3 REVISÃO BIBLIOGRAFICA	17
3.1 INGREDIENTES DA PRODUÇÃO	17
3.1.1 <i>Camellia sinensis</i>	17
3.1.2 Açúcares.....	18
3.1.3 SCOBY: Comunidade simbiótica de bactérias e leveduras	20
3.2 TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO.....	22
3.2.1 Fermentação	23
3.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA KOMBUCHA.....	24
3.4 BENEFÍCIOS A SAÚDE	26
3.5 LEGISLAÇÃO.....	28
3.6 ANÁLISE SENSORIAL.....	29
4 ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO	31
5 FATORES QUE INFLUENCIAM A PRODUÇÃO DE KOMBUCHA: EFEITO DA COMPOSIÇÃO DO CHÁ, AÇÚCAR E SCOBY	32
5.1 RESUMO.....	32
5.2 INTRODUÇÃO	33
5.3 MATERIAIS E MÉTODOS	34
5.3.1 Produtos químicos e ingredientes	34
5.3.2 Produção e tratamentos de kombucha.....	35
5.3.3 Rendimento, pH, acidez total, turbidez e crescimento de SCOBY	37
5.3.4 Álcool, ácido acético e glicerol por HPLC	37
5.3.5 Análise estatística.....	37
5.4 Resultados e discussão	38

5.5. CONCLUSÕES	43
Referencias.....	44
6 KOMBUCHAS DE INFUSÕES DE CHÁ PRETO, CHÁ VERDE E ERVA-MATE: MAPA SENSORIAL PERCEBIDO, EMOÇÕES E PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	47
6.1 RESUMO.....	48
6.2. INTRODUÇÃO	49
6.3. MATERIAIS E MÉTODOS	52
6.3.1 Produtos químicos e ingredientes	52
6.3.2 Produção de kombuchas.....	53
6.3.3 Análises físico-químicas e propriedades bioativas	53
6.3.3.1 pH e acidez total.....	53
6.3.3.2 Cor e turbidez.....	54
6.3.3.3 Álcool e ácidos orgânicos por HPLC.....	54
6.3.3.4 Polifenólicos.....	54
6.3.4 Atividade antioxidante e anti-hipertensiva	55
6.3.5 Análise sensorial	56
6.3.6 Análise de dados	58
6.3.6.1 Dados físico-químicos.....	58
6.3.6.2 Dados sensoriais.....	58
6.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
6.4.1 Parâmetros físico-químicos.....	59
6.4.2 Análise sensorial	64
6.4.3 Emoções.....	71
6.4.4 Kombucha com sabor.....	72
6.5 CONCLUSÕES	73
Referências.....	75
7 COMPREENDENDO O EFEITO DO TEMPO DE FERMENTAÇÃO NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, ATRIBUTOS SENSORIAIS E COMPOSTOS VOLÁTEIS DO CHÁ VERDE KOMBUCHÁ	82

7.1 RESUMO	83
7.2 INTRODUÇÃO	84
7.3 MATERIAIS E MÉTODOS	87
7.3.1 Produção de kombucha	87
7.3.2 Análise de bactérias e fungos no SCOBY por análise metagenômica.....	88
7.3.3 pH, acidez total e turbidez.....	89
7.3.4 Álcool, ácido acético e glicerol.....	89
7.3.5 Polifenólicos totais e taninos condensados	90
7.3.6 Compostos voláteis	90
7.3.7 Análise sensorial	92
7.3.8 Análise de dados	92
7.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	93
7.4.1 Perfil de bactérias e fungos no SCOBY	93
7.4.2 Parâmetros físico-químicos.....	95
7.4.3 Compostos voláteis	99
7.4.4 Análise sensorial	111
7.5 CONCLUSÕES	115
Referências.....	117
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	124
REFERÊNCIAS.....	126
APÊNDICE I.....	137
APÊNDICE II	140

1 INTRODUÇÃO

A kombucha é uma bebida ancestral de origem chinesa que surgiu através do processo de fermentação usado durante viagens para conservar o chá. Desde seu descobrimento é conhecida como uma alternativa energética, com baixo nível de açúcar e com benefícios a saúde e bem-estar ao longo dos anos.

Atualmente observa-se uma preocupação da sociedade em relação à alimentação, não somente aos aspectos nutricionais como também sua origem e efeitos a saúde, aumentando a procura por alimentos e bebidas funcionais, de baixo valor calórico e que mantenham um hábito de vida saudável. Por esse motivo, o consumo de kombucha vem crescendo e, já existem algumas fábricas industrializando a bebida no Brasil, porém sua venda ainda é restrita estando presente apenas em lojas especializadas.

A kombucha é refrescante e agridoce obtida a partir da fermentação de micro-organismos. É, portanto, uma bebida obtida através da fermentação do SCOBY (sigla para *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* ou, traduzindo, Comunidade Simbiótica de Bactérias e Leveduras) em chá (*Camellia sinensis*), espécie que produz os chás branco, verde e preto, adicionada de açúcar.

No entanto, apesar de toda a atenção que a kombucha tem recebido devido às suas propriedades benéficas para a saúde humana, não há provas científicas conclusivas em relação a este aspecto. Dada a importância dos probióticos para a saúde, já existem alguns trabalhos realizados com o tema, porém, os compostos ativos presentes na kombucha ou ainda, precisam ser melhor caracterizados. Além disso, produtores afirmam que a bebida pode melhorar a imunidade e equilibrar a microbiota intestinal, porém Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Ministério da Agricultura (MAPA) não permitem que essas informações constem nos rótulos, devido à falta de estudos científicos sobre os reais benefícios da bebida.

Produzir uma bebida com micro-organismos vivos em escala industrial impõe alguns desafios, um deles é evitar a contaminação. Outra preocupação é evitar que a garrafa exploda, o que pode

acontecer se a temperatura do líquido estiver elevada, se restar muito açúcar da fermentação ou ainda se a embalagem for muito agitada no transporte.

O presente trabalho visa selecionar as melhores condições do processo fermentativo da kombucha obtida com a fermentação de chá de *Camellia sinensis* buscando entender como essas condições influenciam nas propriedades físico-químicas, sensoriais e microbiológicas. Este estudo possibilitará a divulgação de informações fundamentadas para o público.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar kombuchas produzidas com diferentes parâmetros de fermentação e sua influência nas alterações físico-químicas, sensoriais e microbiológicas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para atingir o objetivo do presente trabalho, seguem seus objetivos específicos:

- a) Avaliar o efeito do teor de sacarose, da massa inicial do SCOBY e da composição do chá da bebida final;
- b) Determinar a concentração de glicerol, álcool e ácido acético nas variáveis estudadas;
- c) Comparar kombuchas de chás verde e preto e erva-mate;
- d) Avaliar as propriedades físico-químicas, polifenóis totais, teor de taninos condensados, atividade antioxidante e anti-hipertensiva;
- e) Realizar a caracterização sensorial das amostras e das emoções evocadas;
- f) Avaliar as características da kombucha de chá verde durante a fermentação;
- g) Avaliar e monitorar o efeito do tempo no pH, acidez, polifenóis, etanol, ácido acético, compostos voláteis da kombucha de chá verde;
- h) Identificar as espécies de fungos e bactérias na associação de microrganismos da kombucha utilizada;
- i) Analisar o perfil sensorial e a aceitação dos consumidores.

3 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

3.1 INGREDIENTES DA PRODUÇÃO

De acordo com o Padrão de Qualidade e Identidade (PIQ) da kombucha, publicado em 17 de setembro de 2019, através da Instrução Normativa Nº 41, para a composição da kombucha são obrigatórios os seguintes ingredientes: água potável, açúcar, infusão ou extrato aquoso de *Camellia sinensis*, cultura simbiótica de bactérias e leveduras adequadas a fermentação alcoólica e acética, desde que garantida a inocuidade a saúde humana. Além dos ingredientes obrigatórios a Instrução Normativa 41 estabelece os ingredientes opcionais que são permitidos na utilização e produção de kombucha, tais como: infusão de espécies vegetais em água, ou seus extratos, frutas, vegetais, especiarias, mel, melado e outros açúcares de origem vegetal, além de gás carbônico industrialmente puro. Fibras, vitaminas, sais minerais e outros nutrientes, aditivos aromatizantes e corantes naturais só poderão ser adicionados em kombucha não alcoólica (BRASIL, 2019).

3.1.1 *Camellia sinensis*

Camellia sinensis é uma planta de origem chinesa que é popularmente conhecida principalmente pela obtenção do chá verde e do chá preto, sendo a denominação uma referência ao beneficiamento das folhas. Essas são obtidas da planta e utilizadas no preparo de infusões que compõe a kombucha (BORATO, 2014). O chá preto é produzido a partir das folhas envelhecidas pela oxidação aeróbica das catequinas e possui um sabor bem acentuado. O chá verde é feito a partir das folhas frescas e botões da planta e passa por um processo de secagem natural o que proporciona a preservação dos polifenóis naturais, possuindo um sabor mais amargo devido ao alto teor de catequinas (PIMENTEL; FRANCKI; GOLLÜCKE, 2005; PEREIRA et al., 2010).

O chá produzido a partir das folhas da planta *Camellia sinensis* (*C. sinensis*) é uma das bebidas não alcoólicas mais consumidas no mundo principalmente pelo conhecimento e divulgação de suas

propriedades funcionais (CABRERA; ARTACHO; GIMÉNEZ, 2006; CHENG, 2006; TANAKA; KOUNO, 2003). Além das catequinas o chá verde também possui cafeína, pigmentos, carboidratos, aminoácidos e micronutrientes como vitaminas B, E e C, e minerais como cálcio, magnésio, zinco, potássio e ferro (YANAGIMOTO et al., 2003). Os componentes do grupo das purinas presentes no chá, a cafeína e teofilina, são necessárias para os micro-organismos para a produção de ácidos nucleicos e são utilizadas como fonte de nitrogênio (HOFFMANN, 1998).

Borato (2014) avaliou especificamente a atividade gastroprotetora e cicatrizante gástrica de extratos de chá verde e chá preto em ratas a nível de laboratório e concluiu que a ação benéfica dos chás da *Camellia sinensis* na úlcera possivelmente está relacionada com a conservação de muco gástrico, redução do estresse oxidativo e diminuição do processo inflamatório, embora mais estudos sejam necessários para confirmar esses mecanismos e elucidar outros compostos químicos possivelmente envolvidos nestes processos. Jayabalan et al. (2008) relataram a potencial habilidade de eliminação de radicais livres pela kombucha preparada a partir de chá verde e chá preto. Segundo os autores, os compostos fenólicos, a atividade de reação com radical DPPH e o radical superóxido foram aumentados ao longo do tempo de fermentação.

3.1.2 Açúcares

Conforme descrito na RDC nº 271 de 22 de setembro de 2005, o açúcar é definido como a sacarose obtida do caldo de cana de açúcar ou de beterraba (BRASIL, 2005) e é um dos ingredientes obrigatórios para a produção de kombucha, pois é substrato das bactérias e leveduras. O açúcar branco é considerado o melhor substrato na fermentação da kombucha (REISS, 1994) e a sacarose é a fonte de carbono mais utilizada para a fermentação da kombucha.

As bactérias e leveduras presentes no SCOBY utilizam a sacarose nas atividades metabólicas. Durante a fermentação da kombucha as leveduras são responsáveis por hidrolisar a sacarose por invertase mais simples: frutose e glicose. Estes açúcares mais simples são transformados em etanol

via glicólise e produzem gás carbônico. A glicose é consumida pelas bactérias acéticas para produzir ácido glucônico, glicose e frutose para produzir celulose, e etanol para produzir ácido acético (JAYABALAN et al., 2014; MAY et al., 2019).

Segundo Jayabalan (2014), as bactérias acéticas utilizam a sacarose como fonte de carbono para produzirem uma rede de celulose como metabólito secundário da fermentação, dando origem a um novo SCOBY, principalmente as bactérias da espécie *Acetobacter xylinum*.

A fonte de carbono é necessária para a biossíntese de diversos constituintes celulares dos micro-organismos, como carboidratos, lipídeos e ácidos nucleicos. As macromoléculas das fontes de carbono são convertidas a unidades menores por enzimas despolimerizantes. Caminhos metabólicos dos micro-organismos são utilizados para transformar estes compostos em metabólitos capazes de ser catabolizados por vias metabólicas centrais (PEREIRA JUNIOR; BON; FERRARA, 2008).

Um estudo de Reiss (1994), avaliou a atividade metabólica durante a produção de kombucha com diversos tipos de açúcares utilizados como fontes de carbono, tais como sacarose, lactose, glicose e frutose. Esse estudo demonstrou que independente do substrato utilizado e sua concentração inicial, o conteúdo de etanol e de ácido láctico atingiram seu grau máximo ao 6º dia de fermentação e posteriormente demonstrou um declínio. Foi constatado que a concentração de sacarose (50 g/L) que produz as maiores quantidades de etanol e ácido láctico é também a concentração mais utilizada em receitas tradicionais para a produção de kombucha, segundo o autor. Dentre os quatro açúcares utilizados a sacarose e a frutose obtiveram as maiores concentrações de etanol, sendo 6,3 g/L aos 10 dias de incubação com sacarose a 50g/L, e 8,11 g/L de etanol aos 10 dias utilizando a frutose a 150 g/L.

3.1.3 SCOBY: Comunidade simbiótica de bactérias e leveduras

O termo SCOBY foi dado por Len Porzio, na década de 1990, como uma maneira de distinguir a nova cultura formada no chá da cultura mãe (CRUM; LAGORY, 2016). Além de SCOBY, outras nomenclaturas são utilizadas popularmente como elixir da vida, cogumelo milagroso, bactérias do chá vermelho, kombucha de esponja do chá, cogumelo medicinal, tesouro do mar, cogumelo japonês, algas do rio Nilo, gota de água-viva, esponja da Manchúria, fungo de vinho indiano, cogumelo do herói entre outros (SANTOS, 2016).

A microbiota central mais prevalente na fermentação do kombucha são as bactérias ácido acéticas (contagens altas), que incluem os gêneros *Komagataeibacter*, *Gluconobacter*; enquanto o gênero *Acetobacter* é menos abundantes. (JAYABALAN et al.; 2014). *Komagataeibacter xylinus* é responsável pela formação da celulose. Embora a composição da comunidade microbiana da kombucha dependa das condições de crescimento como fontes de energia disponíveis, temperatura e tensão de oxigênio, as bactérias ácido acéticas fazem parte da comunidade bacteriana relativamente estável e são responsáveis pela produção de ácido acético (a partir do etanol), ácido glucônico (da glicose), ácido glucurônico (da glicose; propriedades desintoxicantes) e ácido D-sacárico-1,4-lactona (ROSS & VUYST, 2017).

SCOBY é a película gelatinosa que se forma na superfície do líquido e, a cada fermentação, são formadas novas camadas de película na parte superior que está em contato com o ar, sendo sempre essa a mais recente (JARRELL; CAL; BENNETT, 2000). É importante ressaltar que os micro-organismos presentes na kombucha não se encontram somente no SCOBY, eles também estão presentes no líquido (PALUDO, 2017). A microbiota da kombucha pode ser dividida em duas partes, uma sendo a presente no biofilme celulósico e a outra, os micro-organismos presentes na porção líquida da kombucha (CHAKRAVORTY et al., 2016).



Figura 1. SCOBY
Fonte: Autora

A composição microbiana da cultura de kombucha varia de uma cultura para outra, dependendo de fatores como a localização geográfica, o clima, as espécies locais de bactérias e leveduras e a origem do inóculo (WATAWANA et al., 2015). Os substratos e condições de produção também influenciam na variação dos micro-organismos presentes (JAYABALAN et al., 2014).

Estudos reportam que o espectro microbiano da bebida é dominado por bactérias ácido-acéticas e leveduras (CHAKRAVORTYA et al., 2016). As principais bactérias acéticas são *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Acetobacter acetie* e *Acetobacter pasteurianus*. *Acetobacter xylinum* é a espécie mais recorrente e tem a capacidade de sintetizar uma rede de celulose flutuante (SCOBY) que melhora a associação formada entre bactérias e fungos (BALENTINE; WISEMAN; BOUWENS, 1997 apud PALUDO, 2017). Por sua vez o SCOBY, é composto por bactérias ácido acéticas (*Gluconobacter*, espécies *Acetobacter*), bactérias lácticas (*Lactobacillus*, espécies *Lactococcus*) e leveduras (*Saccharomyces ludwiga*, *Zygosaccharomyces bailii* etc.) (VILLARREAL-SOTO et al., 2018).

Em seu estudo, Santos (2016) cita a presença de leveduras dos gêneros *Saccharomyces*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Brettanomyces/Dekkera*, *Candida*,

Torulospora, *Kloeckera/Hanseniaspora*, *Pichia*, *Torula*, *Torulopsis*, *Mycotorula* e *Mycoderma*. Leveduras dos gêneros *Zygosaccharomyces* e *Saccharomyces* produzem compostos aromáticos frutados, apresentando grande importância no desenvolvimento do aroma da kombucha. Já as leveduras apiculadas (*Kloeckera* e *Hanseniaspora*) sintetizam ésteres voláteis e ácidos que conferem ao substrato um aroma semelhante à sidra (BATTIKH; BAKHROUF; AMMAR, 2012; MAYSER et al., 1995).

Conforme Crum & Lagory (2016), mesmo sendo comum haver variações na microbiota da kombucha, algumas características físicas são indicadoras de uma cultura de qualidade:

- “(a) a película deve estar entre 6 e 12 mm de espessura, visto que se for muito fina pode indicar uma cultura contaminada e se muito grossa, pode impedir a oxigenação necessária para a bebida;
- (b) SCOBYs saudáveis sempre produzirão novas culturas e serem resistentes ao rasgo quando pressionadas entre o polegar e o dedo indicador;
- (c) e, a coloração do chá deve variar entre branca e marrom claro e apresentar fios de leveduras. “

3.2 TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO

Segundo Jayabalan et al. (2014), a kombucha é preparada colocando-se o SCOBY em um caldo de chá açucarado para fermentar. As quantidades de chá, de açúcar e do SCOBY variam, porém, tendo como referência o volume de água utiliza-se (m/V): 0,5% de folhas de chá para a infusão, 5% (m/V) de sacarose; 24% (m/V) do SCOBY e 20% (V/V) de caldo de kombucha já fermentada, denominado de *starter*.

A infusão resfriada é adicionada ao SCOBY numa temperatura ambiente (20 °C a 22 °C) e adicionando a kombucha já fermentada ocorre a diminuição do pH da mistura a aproximadamente 5, o que favorece a inibição do crescimento de micro-organismos indesejáveis. Esse recipiente deve ser coberto por um pano, TNT, guardanapo ou voal que permita a troca de gases, porém elimine a

possibilidade de entrada de insetos. Ainda segundo o autor, a temperatura ótima para a fermentação está entre 18 °C e 26 °C. Jayabalan et al. (2014)

3.2.1 Fermentação

A fermentação é um processo de obtenção de energia que ocorre sem a presença de gás oxigênio, portanto, trata-se de uma via de produção de energia anaeróbia. O conceito de fermentação, segundo Gay-Lussac, a fermentação correspondia a cisão do açúcar em álcool e gás carbônico e Pasteur a associou com micro-organismos e enzimas. Um conceito mais recente, define fermentação como qualquer processo em que ocorra trocas químicas entre um substrato, pela ação de micro-organismos (BORZANI et al., 2001).

Segundo Neves (2003), fermentação é um processo biológico que tem como base a ação de micro-organismos para a modificação de matérias orgânicas, sendo estas modificações catalisadas por enzimas. Nesse processo, ocorre o consumo de açúcares que dará origem às novas substâncias. Existem 3 tipos de fermentação, a fermentação alcoólica, a láctica e a acética.

Com relação ao kombucha, a fermentação é realizada pela ação do SCOBY sobre uma infusão de compostos vegetais e açúcares, sendo caracterizada como “fermentação alcoólica e acética” (BRASIL, 2019). A fermentação alcoólica transforma açúcares solúveis em etanol, para isso a sacarose é convertida em glucose e frutose pela ação das leveduras, que serão transformadas em etanol e gás carbônico. (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008). A fermentação acética é realizada por bactérias acéticas que transformam o álcool etílico em ácido acético. Outras bactérias como as lácticas também participam da fermentação. A bactéria *Acetobacter xilinum* forma uma massa mucilaginosa que pode inibir a produção de ácido acético (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

O pH, o potencial redox, o conteúdo de nutrientes, a microbiota e a temperatura são fundamentais para que os micro-organismos se multipliquem e ocorra o processo de fermentação (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008). O pH é um dos parâmetros mais importantes para a fermentação, segundo Goh et al.

(2012a), em função dos ácidos gerados na fermentação. O valor de pH da bebida da kombucha diminui devido à produção de ácidos orgânicos durante a fermentação (DUFRESNE; FARNWORT, 2000). A cor do líquido vai ficando mais clara, em relação à cor original do chá, devido às alterações que ocorrem na conformação dos complexos fenólicos resultantes da ação de enzimas microbianas sobre os polifenóis (LIU et al., 1996).

A acidez do chá kombucha é um atrativo que permite-o ser aplicado como conservante natural. À medida que o pH diminui, a atividade antimicrobiana pode inibir o desenvolvimento microbiano de duas maneiras: acidificação citoplasmática e acúmulo de ânion ácido dissociado em níveis tóxicos (AYED et al., 2017). De acordo com Nguyen et al. (2015), a escolha certa das condições de fermentação e a seleção da cultura inicial kombucha permite a produção de bebidas com o maior teor de ácidos orgânicos saudáveis. A escolha adequada dos parâmetros de fermentação permite obter um produto de alta qualidade reprodutível, permanecendo em um nível estável e rico em componentes saudáveis (Battikh; Bakhrouf; Ammar, 2012).

3.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA KOMBUCHA

A composição química da kombucha é muito variável, pois depende de diversos fatores como a duração da fermentação, o tipo de micro-organismos presentes no SCOBY selecionado e das características do chá escolhido como substrato (água usada, concentração de chá e de açúcar) (SANTOS, 2016). As variações de condições da fermentação e substratos resultam em concentrações diferentes e até influenciam na presença ou não de compostos. Porém, alguns componentes, como ácidos orgânicos, vitaminas, polifenóis e aminoácidos, estão comprovadamente presentes na maioria (JAYABALAN et al., 2014; MARSH et al., 2014).

Segundo Santos, (2016), alguns ensaios químicos da kombucha indicaram uma variedade de ácidos orgânicos presentes na bebida, incluindo ácido acético, glucônico, glucurônico, láctico, málico, cítrico, tartárico, fólico, malônico, oxálico e pirúvico. Preparações com base em chá verde apresentam

um maior teor de ácido láctico quando comparadas a preparações com base em chá preto, por exemplo (SANTOS, 2016).

O ácido glucurônico é um dos mais importantes ácidos para a saúde presente na kombucha e é o resultado de um processo microbiológico de oxidação da glicose. No corpo humano, este ácido é produzido pelo fígado e apresenta efeitos desintoxicantes, pois tem a capacidade de se ligar a xenobióticos, incluindo também fenóis presentes no fígado, permitindo que essas substâncias sejam excretadas pelos rins de forma mais eficiente. Além disso, também é um precursor na biossíntese de vitamina C (JAYABALAN et al., 2014; NGUYEN et al., 2015; PALUDO, 2017).

De acordo com Chen e Liu (2000), a concentração de etanol no kombucha aumenta com o tempo de fermentação, atingindo valor máximo aproximado de 5,5 g/L no vigésimo dia de fermentação, seguida de uma redução lenta. Sua produção ocorre através da fermentação da glicose e posteriormente sofre uma segunda oxidação para produzir ácido acético. O teor de etanol presente na kombucha não a classifica como bebida alcoólica (MURPHY; WALIA; FARBER, 2018).

Entre os ácidos orgânicos presentes, os mais importantes produzidos durante a fermentação são glucorônico, glucônico, láctico, málico, cítrico, tartárico, fólico, malônico, oxálico, pirúvico e úsnico. O ácido láctico se mostra mais presente em preparações com base de chá verde se comparado a outros chás, como chá preto. O ácido glucorônico é um dos mais valiosos ácidos para a saúde presente na kombucha e é o resultado de um processo microbiológico de oxidação da glicose. Por ser produzido pelo fígado no corpo humano, exibe efeitos desintoxicantes, pois tem a capacidade de se ligar a xenobióticos, incluindo também fenóis presentes no fígado, permitindo que essas substâncias sejam excretadas pelos rins de forma mais eficiente. Além de também ser precursor na biossíntese de vitamina C (JAYABALAN et al., 2014; NGUYEN et al., 2015).

O principal substrato utilizado pelos micro-organismos é a sacarose. Provou-se que a simbiose de bactérias e leveduras é responsável pela hidrólise enzimática extracelular de sacarose em glicose e frutose, e transformação de glicose e frutose em etanol e CO₂ pelas leveduras, enquanto as bactérias

convertem a glicose em ácido glucônico e frutose em ácido acético como consequência das reações da cadeia metabólica (REISS, 1994). No entanto, o açúcar, fonte de carbono tradicionalmente utilizada na produção de kombucha, pode não ser totalmente utilizado pelos micro-organismos. Malbaša, Lončar e Kolarov (2000) demonstraram em seu trabalho que 34% da sacarose não é metabolizada após 7 dias de fermentação. Esta sacarose também é um constituinte majoritário na kombucha, bem como os produtos de sua hidrólise por leveduras: glicose e frutose (JAYABALAN et al., 2014).

Estudos realizados por Jayabalan, Marimuthu e Swaminathan (2007) e Sreeramulu, Zhu e Knol (2000), referente as proteínas mostraram um aumento em seus níveis, sem ter qualquer outra fonte de nitrogênio adicionada antes de iniciar a fermentação. Vitaminas B2, B2, B6 e C, caroteno, enzimas (polifenoloxidasas), purinas, pigmentos, polifenóis e minerais são provenientes do chá (CHAKRAVORTY et al., 2019).

3.4 BENEFÍCIOS A SAÚDE

Conhecida por suas propriedades terapêuticas a kombucha veem sendo consumida cada vez com mais frequência por todo o mundo, sendo muitas vezes chamada de bebida probiótica. Porém, muitas dessas propriedades ainda não foram comprovadas cientificamente necessitando de mais pesquisas, uma vez que a maioria das discussões sobre esse assunto se baseiam em depoimentos pessoais na maioria das vezes não comprovados cientificamente.

O emagrecimento é um dos benefícios mais citados pelos consumidores, mas ainda há poucos estudos científicos disponíveis referentes a perda de peso. Um estudo de Yang et al. (2009), mostrou que houve perda de peso causada pelo consumo de kombucha quando analisado o efeito hipolipidêmico, o qual foi conectado à interação da bebida com a inibição da lipase e, como resultado, uma restrição na ingestão de calorias e conforme Danielian (2005), a bebida possui capacidade de harmonizar e equilibrar o metabolismo em geral e limita a acumulação de gordura.

Estudos recentes, demonstram que compostos liberados durante a fermentação da kombucha têm propriedades antioxidantes (WATAWANA et al. 2015b; AHMED et al., 2020; CARDOSO et al., 2020). Compostos do chá preto, como flavonoides, aminoácidos e ácidos fenólicos são transformados pela ação de leveduras e bactérias em metabólitos que têm sido associados à prevenção de doenças neurodegenerativas, redução da pressão arterial, atividade antioxidante, efeito hipoglicêmico e propriedades anticâncer. (VILLARREAL-SOTO et al., 2018).

O “remédio caseiro secreto russo”, como era o nome da kombucha em relatórios provenientes da primeira guerra mundial, citam que a bebida auxiliava em dores de cabeça, doenças gástricas e, especialmente, na regulação do trânsito intestinal muitas vezes desequilibrado pelo estilo de vida no exército (VINA et al., 2014).

Outros pesquisadores identificaram a presença de bactérias lácticas na composição do kombucha, fato que promoveu a divulgação do seu possível caráter probiótico. Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 241 de 26/07/2018 "No Brasil, o uso de probióticos em alimentos requer prévia avaliação da Anvisa (BRASIL, 2018). A dose necessária nos alimentos pode variar para cada cepa, embora muitos produtos forneçam entre 1 e 10 bilhões de UFC/dose. Apesar de muitos estudos comprovarem que a concentração ótima para utilização em alimentos deve ser igual ou maior que 6 log UFC.g-1 ou mL-1 (COSTA et al., 2019; PAPADOPOULOU et al., 2018), não é possível estabelecer uma dose geral necessária de probióticos. A dose deve ser baseada em estudos humanos, demonstrando os benefícios para a saúde (GUARNER et al., 2017). "

Watatawana et al. (2015) concluíram que a atividade antimicrobiana e antifúngica da kombucha é atribuída ao pH ácido da bebida, devido à presença, por exemplo, de ácidos orgânicos e principalmente do ácido acético e das catequinas, que inibem o crescimento de uma série de micro-organismos Gram-positivos e Gram-negativos, como *Helicobacter pylori*, causador de úlceras pépticas e *Escherichia coli*, causador da diarreia comum.

A presença do ácido glucurônico na kombucha proporciona benefícios à saúde e auxilia na eliminação de impurezas e toxinas prejudiciais à saúde. A conjugação do ácido glucurônico com compostos indesejáveis aumenta a sua solubilidade e facilita seu transporte e eliminação do corpo (AYED; ABID; HAMDI, 2017).

Diversos benefícios a saúde estão associados ao consumo da kombucha, como: promover a melhoria do cabelo, pele e unhas, diminuir os distúrbios nervosos, reduzir a insônia, aliviar dores de cabeça, reduzir o desejo por álcool de uma pessoa alcoólatra, prevenir a formação de infecções da bexiga, reduzir a calcificação renal, diminuir os distúrbios menstruais e as ondas de calor na menopausa, melhorar a visão, promover a regeneração celular, estimular os sistemas glandulares no corpo, aliviar a bronquite e a asma, aumentar o metabolismo geral (WATAWANA et al., 2015).

3.5 LEGISLAÇÃO

A Instrução Normativa 41 de 17 de setembro de 2019, traz a seguinte definição: “kombucha é a bebida fermentada obtida através da respiração aeróbia e fermentação anaeróbia do mosto obtido pela infusão ou extrato de *Camellia sinensis* e açúcares por cultura simbiótica de bactérias e leveduras micro biologicamente ativas (SCOBY)”.

Dentre os parâmetros físico-químicos, a Instrução Normativa estabelece que o pH seja no mínimo 2,5 e no máximo 4,2. Além disso ela pode ser classificada como kombucha sem álcool onde a graduação alcoólica máxima de 0,5% v/v e kombucha alcoólica com a graduação mínima de 0,6% v/v e máxima de 8% v/v (BRASIL, 2019).

A kombucha deve ser classificada por kombucha de (seguido do nome da espécie vegetal, se houver, utilizada antes da fermentação associada a *Camellia sinensis*), COM (seguido do nome do ingrediente opcional, se houver e adicionado), COM AROMA DE (nome do aditivo aromatizante natural), gaseificada (se adicionada de gás carbônico), com álcool/alcoólica (se contiver álcool acima de 0,5% v/v), obrigatoriamente nesta ordem. Já a kombucha não alcoólica deve ser elaborada somente

com os ingredientes obrigatórios, ou seja, ser isenta de quaisquer ingredientes opcionais e poderá ser designada como KOMBUCHA ORIGINAL (BRASIL, 2019).

Além disso, ainda segundo a Instrução Normativa é vedada o uso de alegações funcionais e de saúde não autorizadas pela legislação específica da ANVISA e as kombuchas submetidas ao processo de pasteurização devem obrigatoriamente ter em sua rotulagem a expressão "pasteurizada", no painel principal com o dobro das dimensões da denominação. É proibido no rótulo o uso de expressões tais como: artesanal, caseira, familiar, bebida viva, bebida probiótica, bebida milenar, elixir, elixir da vida, energizante, revigorante, especial, premium, dentre outras que atribuam características de qualidades superlativas e propriedades funcionais não aprovadas em legislação específica (BRASIL, 2019).

3.6 ANÁLISE SENSORIAL

De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1993), a análise sensorial é definida como a disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição. As provas ou testagens de análise sensorial têm uma grande importância em pesquisas de aceitação do consumidor e no controle de qualidade de produtos alimentares.

Para realizar estudos de análise sensorial, torna-se necessária a presença de potenciais consumidores, com vistas a utilizar os sentidos humanos em testes específicos, que visam estudar atributos percebidos com os órgãos dos sentidos. Assim, pode-se conhecer a opinião de consumidores em potencial acerca do produto oferecido (FERREIRA, 2000).

O perfil descritivo quantitativo descreve as propriedades sensoriais do produto e mede a intensidade com que essas propriedades são percebidas pelos provadores, o que permite uma descrição das características sensoriais com precisão em termos matemáticos (ARAÚJO; SILVA; MINIM, 2003). As vantagens da ADQ (Análise Descritiva Quantitativa) sobre os outros métodos de

avaliações são: a confiança no julgamento de uma equipe composta por provadores treinados, o desenvolvimento de uma linguagem descritiva objetiva, mais próxima à linguagem do consumidor, o desenvolvimento consensual da terminologia descritiva a ser utilizada, o que implica maior concordância de julgamentos entre os provadores e na ADQ os produtos são analisados com repetições por todos os julgadores em testes cegos e os resultados estatisticamente analisados (BEHRENS; SILVA, 2000).

Os objetivos do treinamento são familiarizar o indivíduo com os procedimentos do teste, melhorar suas habilidades em identificar e reconhecer os atributos sensoriais em alimentos e melhorar a sensibilidade e memória de modo a oferecer medidas sensoriais precisas, consistentes e padronizadas (FERREIRA, 2000). Os julgadores devem ser capazes de detectar e descrever as características sensoriais de cada amostra. Os julgadores também devem saber indicar a intensidade com que cada atributo é percebido nas amostras, permitindo a discriminação e caracterização das diferenças entre as amostras (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002).

Um ponto de partida para o desenvolvimento da terminologia é a adaptação do método de rede. Para tanto, os julgadores devem receber pares de amostras diferentes do produto, sendo solicitados a descrever as similaridades e diferenças sensoriais observadas nas amostras. Ao final dessas avaliações haverá uma lista de atributos disponível para discussão em mesa redonda entre os membros da equipe (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002). Outro método segue a ISO 4120, é o método triangular, que detecta pequenas diferenças entre três amostras sendo que, duas amostras são iguais e apenas uma é diferente, cabendo ao julgador identificar a amostra diferente e descrever em uma ficha quais foram as diferenças observadas. O método duo-trio segue a ISO 10399 e também consiste em três amostras, sendo uma padrão e duas codificadas, neste caso cabendo ao julgador identificar qual das amostras é igual à padrão.

4 ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Esta dissertação divide-se em três partes, sendo três artigos elaborados apresentados como produto do trabalho. Em cada um são apresentados uma introdução ao assunto abordado, materiais e métodos, resultados e discussão e referências bibliográficas. Os artigos foram traduzidos para o português.

O primeiro artigo, intitulado: “*Factor influencing, kombucha production: effects of tea composition, sugar, and SCOBY*” (“Fatores que influenciam a produção de kombucha: efeito da composição do chá, açúcar e SCOBY”), foi publicado na revista **Food Science and Technology** em junho de 2023 (DOI: 10.5327/fst.8123), e tem como objetivo avaliar o efeito do teor de sacarose, da massa inicial do SCOBY e da composição do chá em diversas características da bebida final.

O segundo artigo, intitulado “*Kombuchas from black tea, green tea, and yerba-mate decocts: Perceived sensory map, emoticons and physicochemical parameters*” (“Kombuchas de infusões de chá preto, chá verde e erva-mate: mapa sensorial percebido, emoções e parâmetros físico-químicos”), foi publicado na revista **International Journal of Gastronomy and Food Science** em agosto de 2023 (DOI: 10.1016/j.ijgfs.2023.100789); e tem como objetivo comparar as kombuchas de chás verde e preto e erva-mate.

O terceiro artigo, intitulado “*Understanding the effect of fermentation time on physicochemical characteristics, sensory attributes, and volatile compounds in green tea kombucha*” (“Compreendendo o efeito do tempo de fermentação nas características físico-químicas, atributos sensoriais e compostos voláteis em kombucha de chá verde”) foi publicado na revista **Food Research International** em outubro de 2023 (DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113569>); e tem como objetivo avaliar as características do chá verde kombucha durante a fermentação, monitorando as alterações de pH, acidez, turbidez, polifenóis, etanol, ácido acético, compostos voláteis, além do perfil sensorial e aceitação até 14 dias de fermentação.

5 FATORES QUE INFLUENCIAM A PRODUÇÃO DE KOMBUCHA: EFEITO DA COMPOSIÇÃO DO CHÁ, AÇÚCAR E SCOBY

Factors influencing kombucha production: effect of tea composition, sugar, and SCOBY

5.1 RESUMO

Kombucha é uma bebida funcional que carece de estudos para padronização de parâmetros de processo; assim, o presente trabalho visa avaliar o efeito do teor de sacarose, da massa inicial do SCOBY e da composição do chá em diversas características da bebida final. Para tanto, foi realizado um planejamento fatorial e o efeito das três variáveis foi avaliado estatisticamente. Todas as kombuchas estavam dentro dos padrões da regulamentação brasileira (maior que 2,5 e menor que 130 mgEq/L) e podem ser classificadas como bebidas não alcoólicas. O rendimento da kombucha variou de 87,3% a 96,4%; crescimento do SCOBY, de 41,11% para 62,08%; turbidez, de 108,0 a 421,5 NTU; ácido acético, de 3,78 e 5,33 mg/mL; glicerol, de 0,25 a 0,52 mg/mL; e teor de etanol, de 1,90 a 3,21 mg/mL. Os resultados mostraram que o rendimento de kombucha, pH e crescimento de SCOBY foram significativamente influenciados pela massa de SCOBY; a acidez foi muito afetada pela composição do chá; a turbidez da kombucha foi significativamente afetada pelo teor de sacarose e pela interação do teor de açúcar e composição do chá; glicerol, álcool e ácido acético não foram afetados pelos parâmetros avaliados. Os resultados trazem informações com base científica sobre essa bebida que é tendência mundial, buscando alta qualidade e padronização.

Palavras-chave: chá verde, chá preto, planejamento fatorial, bebida não alcoólica.

Aplicação prática: Os resultados mostram que os parâmetros do processo influenciam significativamente as características importantes das kombuchas.

5.2 INTRODUÇÃO

Kombucha é uma bebida funcional obtida pela fermentação de *Camellia sinensis* e açúcares por meio de uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras ativas, também conhecida como SCOBY (Vargas et al., 2021; Miranda et al., 2022). Suas propriedades funcionais são creditadas à presença de polifenóis, minerais e compostos com atividades antioxidantes, antimicrobianas, anticancerígenas e anti-inflamatórias, entre outros importantes compostos promotores da saúde (Villarreal-Soto et al., 2019; Cardoso et al., 2020; Vargas et al., 2021; Miranda et al., 2022; Bortolini et al., 2022).

O mercado global de bebidas funcionais foi avaliado em mais de U\$ 110 milhões em 2020, e espera-se que cresça 5,9% ao ano até 2030 (Allied Market Research, 2022). Kombucha é uma bebida milenar, mas tem sido produzida em larga escala na última década para fins comerciais. É a produção caseira/artesanal que ajuda a popularizar as bebidas fermentadas (Vargas et al., 2021; Miranda et al., 2022). Devido à falta de produção padronizada, esforços têm sido feitos para avaliar os parâmetros de processo das características da kombucha nesses contextos. Por exemplo, Lobo et al. (2017) estudaram uma kombucha de chá preto produzida com infusão de 7,5g/L adicionado de 50g/L de açúcar e fermentado por 7 dias a 25 °C; Ivanišová et al. (2019) também utilizaram infusão de chá preto (5g/L) adicionado de 30g/L de açúcar a 22 °C por 7 dias. Jakubczyk et al. (2020), por outro lado, preparou chás na proporção de 8 g/L, adicionados de 100 g/L de açúcar e fermentação por 14 dias a 28 °C. No entanto, esses autores não informaram dentro da metodologia a quantidade de SCOBY inoculada. Cardoso e cols. (2020) fermentaram por 10 dias a 25 °C kombuchas de chá preto e verde (12 g/L) adicionadas de 50 g/L de açúcar e 30 g de SCOBY por litro de infusão. Outras condições são relatadas por Miranda et al. (2022), mostrando uma grande variedade de parâmetros de bioprocessos usados na literatura para produzir kombuchas. No entanto, muitos esforços devem ser feitos para entender profundamente como essas variáveis independentes impactam os perfis de bebidas, principalmente visando processos padrão em larga escala.

A maioria dos trabalhos realiza a fermentação em uma faixa de temperatura de 20-30 °C, próxima à temperatura ambiente (Miranda et al., 2022). Já o efeito do tempo é mais adequado para

ser avaliado pela análise cinética. Chá verde e preto são os mais utilizados nas infusões e a combinação de ambos também é estudada (Neffe-Skocińska et al., 2017). Além disso, a adição de açúcar é outro parâmetro importante do processo, pois é a fonte de carboidratos para realizar o processo de fermentação. Entre as características da bebida, a regulamentação brasileira estabelece que a kombucha não alcoólica apresente no máximo 50 mL de etanol por litro (0,5% v/v), acidez volátil na faixa de 30-130 mg de equivalente ácido acético por litro (mgEq/ L) e pH na faixa de 2,5-4,2 (Brasil, 2019). No entanto, outros parâmetros, como rendimento e turbidez, não foram relatados.

A avaliação do impacto de diferentes parâmetros nas características de matrizes alimentares complexas pela abordagem convencional “um de cada vez” pode levar a uma análise crítica e ignorar a importância da interação das variáveis independentes. Por outro lado, os planejamentos fatoriais são ferramentas estatísticas poderosas, pois são particularmente adequados para resolver e avaliar interações complexas entre os produtos de parâmetros envolvidos e têm sido usados em vários campos da ciência e tecnologia de alimentos (Polat et al., 2020; Yeddes et al., 2020; Kotta et al., 2021; Girelli et al., 2023), incluindo técnicas de bioprocessos (Viliyan et al., 2021; Mir et al., 2021). Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da massa de SCOBY, proporção de infusão de chá preto e verde e concentração de açúcar em diversas características de kombuchas.

5.3 MATERIAIS E MÉTODOS

5.3.1 Produtos químicos e ingredientes

Os chás verde e preto (Chá Mais, Xanxerê, SC, Brasil), açúcar (Alto Alegre, SP, Brasil) e água mineral (Água da Pedra, Lajeado, Brasil) foram adquiridos no mercado local (Lajeado, RS, Brasil). Os produtos químicos para HPLC foram obtidos da Sigma-Aldrich (>99,9% de pureza, Saint Louis, Missouri, EUA) e outros da Êxodo Científica (Sumaré, SP, Brasil).

5.3.2 Produção e tratamentos de kombucha

Os chás verde e preto foram preparados separadamente, a 95 °C por 5 min, onde foram misturados 7 g de chá para cada 1 L de água mineral e a combinação das diferentes quantidades de chá verde e chá preto foi avaliada conforme planejamento fatorial da Tabela 1. Após resfriamento à temperatura ambiente, as infusões foram transferidas para frascos de vidro de 500 mL, onde foram adicionadas a concentração de açúcar e a massa de SCOBY. Para avaliar a influência da massa do SCOBY, 340 g de SCOBY foram cortados em cubos e homogeneizados manualmente antes de pesar e transferir para as infusões. Um planejamento fatorial completo com três níveis codificados e 3 variáveis independentes foi usado para avaliar o efeito combinado da razão SCOBY (X_1), concentração de açúcar (X_2) e razão verde: chá preto (X_3). Os níveis e variáveis codificados e reais são mostrados na Tabela 1, que foram escolhidos com base na literatura anterior (Miranda et al., 2020), bem como os valores iniciais de pH e acidez das infusões que são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. pH e acidez de kombuchas no tempo zero de fermentação para experimentos de planejamento fatorial

Julgamento	Peso do SCOBY g (x_1)	Sacarose % (x_2)	Verde: proporção de chá preto % (x_3)	Acidez (mgEq/L)	pH
1	15,03 (-1)	6,81 (-1)	20,2 (-1)	6.5	3.42
2	22,47 (+1)	6,81 (-1)	20,2 (-1)	7.5	3.16
3	15,03 (-1)	9,19 (+1)	20,2 (-1)	8	3.33
4	22,47 (+1)	9,19 (+1)	20,2 (-1)	8.6	3.12
5	15,03(-1)	6,81 (-1)	79,8 (+1)	6.6	3.25
6	22,47 (+1)	6,81 (-1)	79,8 (+1)	7.2	3.20
7	15,03 (-1)	9,19 (+1)	79,8 (+1)	4.8	3,50
8	22,47 (+1)	9,19 (+1)	79,8 (+1)	7.2	3.07
9	18,75 (0)	8,00 (0)	50 (0)	5.3	3.11
10	18,75 (0)	8,00 (0)	50 (0)	6.1	3.15
11	18,75 (0)	8,00 (0)	50 (0)	6.2	3.18
12	18,75(0)	8,00 (0)	50 (0)	4.8	3.13

Fonte: autores

A tampa dos frascos foi fechada com gaze e elástico e mantida a 25 °C (Solab S-101, Piracicaba, SP, Brasil) por 10 dias. A temperatura e o tempo foram mantidos constantes na estufa microbiológica (Solab S-101) e os valores utilizados foram a média relatada (Miranda et al., 2020). Após a fermentação, a bebida foi filtrada em tecido TNT e amostras de kombucha foram coletadas, transferidas para microtubos e armazenadas a – 18 °C até análise posterior.

5.3.3 Rendimento, pH, acidez total, turbidez e crescimento de SCOBY

Em um franco de 500 mL foram medidos os volumes de kombucha e comparados com o volume de infusão inicial. A análise do pH foi realizada em pHmetro digital de bancada (PHOX P1000, Colombo, PR, Brasil). A acidez total foi determinada por titulação com hidróxido de sódio 0,01N padronizado e o resultado foi expresso em mg de ácido acético equivalente por litro (mgEq/L). A turbidez foi medida em um turbidímetro digital (DLT-WV, Dellab, Araraquara, SP, Brasil) e expressa em unidades nefelométricas de turbidez (NTU). O crescimento do SCOBY foi medido secando-o a 105 °C (S-100, Solab, Piracicaba, SP, Brasil) e o peso foi medido em balança analítica (Shimadzu, AUX220, Japão) e expresso em porcentagem comparando a massa seca inicial com a massa final.

5.3.4 Álcool, ácido acético e glicerol por HPLC

As concentrações de etanol, ácido acético e glicerol foram determinadas por HPLC (Shimadzu, Japão) equipado com um detector de índice de refração e coluna Bio-Rad HPX-87H (300 × 7,8 mm, tamanho de partícula de 9 µm e 8% de reticulação µ) usando Ácido sulfúrico 5 mM como eluente a 45 °C, a taxa de fluxo de 0,6 mL/min. Amostras de kombucha foram centrifugadas a 10.000g e filtradas (filtro de 0,45 µm) antes de injetar alíquotas de 20 µL. Padrões dos compostos analisados foram utilizados para identificação (tempo de retenção) e quantificação (padrão externo). Os resultados foram expressos em mg/L.

5.3.5 Análise estatística

Os resultados foram analisados pela análise de Design Padrão do software *Statistica* 10.0 (Statsoft, Tulsa, OK, EUA), onde os dados foram ajustados à Equação 1 por análises de regressão. Além disso, foram avaliados coeficientes de determinação (R^2) e análise de variância (ANOVA) para avaliar o efeito da variável independente nas respostas, bem como a significância do modelo.

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3(1)$$

Onde Y foram as variáveis dependentes (rendimento, crescimento SCOBY, acidez, pH, glicérol, turbidez, álcool ou ácido acético); b_0 , interceptação; b_1 , b_2 e b_3 , coeficientes lineares; e b_{12} , b_{13} e b_{23} coeficientes de interação.

5.4 Resultados e discussão

A Tabela 2 apresenta os resultados do planejamento fatorial. O rendimento de kombucha variou de 89,1% a 96,4% do volume inicial. A redução do volume do chá após a fermentação deve-se à absorção do SCOBY, que, o crescimento em massa seca, variou entre 41,11% à 62,08%. Do ponto de vista de larga escala, esses resultados são essenciais, pois o rendimento impacta na produtividade da bebida e a massa do SCOBY impacta no planejamento da gestão de resíduos pela indústria, levando ao correto dimensionamento de equipamentos e estações de tratamento de efluentes.

Os valores de acidez total e pH estavam de acordo com os padrões legais brasileiros de 30-130 mgEq/L e 2,5-4,2 (Brasil, 2019), mostrando a adequação do procedimento de produção da bebida fermentada. O pH variou de 2,7 a 2,9, o que está dentro da faixa aceitável como Değirmencioğlu et al. (2020). Na comparação dos valores de pH das bebidas não fermentadas (Tabela 1) e do produto final (Tabela 2), houve redução na faixa de 0,24 (ensaio 9) e 0,64 (ensaio 7). Os valores de pH abaixo de 2,5 apresentam alta concentração de ácido acético, e valores de pH superiores a 4,2 podem comprometer a segurança microbiológica da bebida (Cardoso et al., 2020). Neste trabalho, a acidez volátil variou de 49,9 mgEq/mL (ensaio 7) a 91,2 mgEq/mL (ensaio 1), o que está de acordo com Ivanišová et al. (2019) e Cardoso et al. (2020). Entre os ácidos orgânicos para aumentar a acidez e diminuir o pH, os ácidos mais importantes produzidos durante a fermentação são os, glucônico, láctico, málico, cítrico, tartárico, fólico, malônico, oxálico, pirúvico, ácido glucurônico, que é um dos mais valiosos ácidos saudáveis na kombucha (Jayabalan et al., 2014). As diferenças entre as condições de

acidez iniciais dos ensaios (Tabela 1) e no final da fermentação (Tabela 2) mostram um aumento do parâmetro na faixa de 46,3 mgEq/L (ensaio 7) e 84,4 mgEq/L (ensaio 12). A redução do pH e o aumento da acidez estão relacionados à produção de ácidos D-glucurônico, lático, tartárico, acético e cítrico através da fermentação. As condições do processo afetam a produção desses compostos pelo consórcio microbiano (Neffe-Slocinska et al., 2017).

Os valores de turbidez variaram consideravelmente: de 107 a 423 NTU. A clareza nas kombuchas está relacionada com as quantidades de celulose produzidas pelas bactérias do ácido acético na biomassa. O aumento da turbidez pode estar relacionado a mais celulose e outras matérias fibrosas sendo liberadas no caldo e crescimento microbiano na infusão fermentada (Goh et al., 2012; Amarasinghe et al., 2018; Zofia et al., 2020).

Os valores de teor alcoólico variaram de 5,02 a 1,47 mg/L, que se transformaram em % (v/v) (considerando a densidade do etanol de 789 g/L a 20 °C) conforme exigido pela regulamentação brasileira; os resultados variaram de 0,40% a 0,19%, o que indica que a kombucha produzida é adequada para ser chamada de bebida não alcoólica (Brasil, 2019). A concentração observada de ácido acético foi entre 3,78 a 5,33 mg/L e a concentração de glicerol foi de 0,25 a 0,84 mg/L. O ácido acético tem sido relatado como o principal ácido produzido em kombuchas (Ivanišová et al., 2019; Cardoso et al., 2020; Jakubczyk et al., 2020). Cardoso e cols. (2020) observaram concentrações de ácido acético próximas a 3 g/L para kombuchas de chá verde e preto. Enquanto isso, Ivanišová et al. (2019) observaram 1,55 g/L para chá preto kombucha.

1 **Tabela 2.** Planejamento fatorial e respostas para a produção de kombuchas.

Julgamento	Peso do Scoby (x ₁)	Sacarose (x ₂)	Verde: proporção de chá preto (x ₃)	Colheita (%)	Crescimento do SCOBY (%)	Acidez (mgEq/ L)	pH	Glicerol (mg/mL)	Turbidez z (NTU)	Álcool (mg/mL)	Ácido acético (mg/mL)
1	15.03 (-1)	6,81 (-1)	20,2 (-1)	96,4%	55,172%	91.2	2,85	0,476	298,5	2.849	4.955
2	22,47 (+1)	6,81 (-1)	20,2 (-1)	96,4%	62,076%	78.1	2.79	0,339	282,5	2.328	4.961
3	15.03 (-1)	9.19 (+1)	20,2 (-1)	96,0%	48,083%	80,0	2.89	0,423	240,5	2.587	5.039
4	22,47 (+1)	9.19 (+1)	20,2 (-1)	87,3%	62,027%	83,4	2.72	0,300	300,0	1.468	4.780
5	15.03(-1)	6,81 (-1)	79,8 (+1)	96,0%	41,111%	62.1	2.88	0,395	378,5	2.557	4.824
6	22,47 (+1)	6,81 (-1)	79,8 (+1)	92,7%	58,053%	70,8	2.81	0,406	421,5	2.827	5.328
7	15.03 (-1)	9.19 (+1)	79,8 (+1)	96,4%	42,126%	49,9	2.86	0,411	108,0	2.952	4.341
8	22,47 (+1)	9.19 (+1)	79,8 (+1)	92,4%	60,272%	65,0	2.77	0,391	215,5	2.671	4.609
9	18,75 (0)	8,00 (0)	50 (0)	94,5%	57,204%	81,9	2.87	0,400	211,5	2.268	4.307
10	18,75 (0)	8,00 (0)	50 (0)	89,1%	61,193%	77,6	2.86	0,517	268,0	3.209	4.843
11	18,75 (0)	8,00 (0)	50 (0)	94,5%	62,003%	63,0	2.82	0,250	322,5	1.896	3.783
12	18,75(0)	8,00 (0)	50 (0)	94,5%	57,125%	89.2	2,80	0,267	399,5	2.205	4.378

2 **Fonte:** autores

O substrato utilizado pelos micro-organismos foi a sacarose comercial, sendo que a simbiose de bactérias e leveduras em SCOBY é responsável pela hidrólise enzimática extracelular da sacarose em glicose e frutose; e a transformação de glicose e frutose em etanol e dióxido de carbono pelas leveduras, enquanto as bactérias convertem glicose em ácido glucônico e frutose em ácido acético como resultado de reações metabólicas em cadeia (Spedding, 2015). O glicerol é o principal subproduto da produção de etanol pelas leveduras e sua concentração em bebidas fermentadas por leveduras contribui para o corpo e plenitude, influenciando também na intensidade do sabor. Assim, aumentar o rendimento de glicerol beneficia tanto o sabor quanto a redução de etanol para bebidas fermentadas não alcoólicas (Zhao et al., 2015)

Os resultados da análise estatística do planejamento fatorial indicaram que modelos lineares de variáveis independentes (X_1 , X_2 e X_3 – SCOBY massa, sacarose e proporção de chá) não foram adequados para modelar o comportamento de nenhuma das respostas. Além disso, valores de R^2 inferiores a 0,70 e valores F calculados abaixo dos valores F críticos a 5% de significância mostram pouca adequação dos dados à Equação 1. Assim, a análise do efeito de cada variável independente e sua interação nos parâmetros de desempenho do processo foi avaliado (Calado & Montgomery, 2003).

A Tabela 3 mostra que o rendimento da kombucha foi afetado pela massa de SCOBY utilizada no início da fermentação ($p < 0,10$). No entanto, o aumento da biomassa seca foi afetado positivamente pelo peso seco inicial do SCOBY usado na kombucha e na composição do chá. Quanto mais pesado o SCOBY inicial, mais massa seca foi produzida ao final do processo de fermentação ($p < 0,05$); enquanto isso, a proporção de chá afetou negativamente o aumento da massa seca SCOBY: menos chá verde na composição do chá fermentado, levou a um maior crescimento de biomassa ($p \leq 0,10$). Adicionalmente, Villarreal-Soto et al. (2019) observaram que maior área de contato em recipientes de

kombuchas acelera a cinética de fermentação, levando a maior produção de etanol e quantidades de compostos bioativos.

Tabela 3. Coeficientes de regressão do planejamento fatorial e efeito das variáveis independentes nas características dos kombuchas.

	Colheita	SCOBY	Acidez	pH	Turbidez	glicerol	Álcool	Acético
X 1	-0,020 ‡	0,13984*	3.525	-0,0975*	47,75	-0,06725	-0,41275	0,12975
X 2	-0,011				-129,75			
		-0,00976	-5.975	-0,0225	‡	-0,02275	-0,22075	-0,32475
X 3	0,0018	-0,06449*	-21.225*	0,0175	2,75	0,01625	0,44375	-0,15825
x 1 x	-0,0018							
x 2		0,02061	5.725	-0,0325	35,25	-0,00425	-0,28725	-0,12525
x 1 x	0,0018							
x 3		0,0356	8.375	0,0175	27,75	0,06275	0,40725	0,25625
x 2 x	0,0120				-110,75			
x 3		0,02593	-3.025	-0,0075	‡	0,02325	0,34025	-0,27625

X 1, massa SCOBY inicial; X 2, concentração de sacarose; X 3, proporção de chá verde: preto. X ix X j, efeito de interação

* estatisticamente significativo a 5%

‡ estatisticamente significativo a 10%

A composição do chá e o peso inicial do SCOBY afetaram negativamente a acidez e o pH ($p < 0,05$). Os resultados indicam que o SCOBY mais pesado no início da fermentação leva a um pH mais baixo. Enquanto isso, maior concentração de chá verde leva a menor acidez. Cardoso e cols. (2020) não observaram diferenças significativas na

acidez comparando chá preto e verde. No entanto, Cotton et al. (2017) verificaram uma alta predominância de diferentes espécies de bactérias acéticas e lácticas entre a kombucha de chá verde e preto e conseqüente variação na produção de ácidos orgânicos. Além disso, no presente trabalho, maior biomassa no início da fermentação leva a valores de pH mais baixos, possivelmente devido a uma maior população de bactérias acéticas e lácticas produtoras de ácidos orgânicos, cujas concentrações foram captadas pelo pHmetro. Além disso, é importante destacar que cada ensaio apresentou diferentes condições de pH e acidez (Tabela 1) e as diferenças entre os valores iniciais e finais da kombucha também podem influenciar outros resultados.

A turbidez foi afetada pela concentração de sacarose e pela interação da concentração de sacarose e proporção de chá ($p < 0,10$). Assim, mantendo os mesmos valores de massa do SCOBY e composição do chá, uma maior concentração de sacarose leva a uma baixa turbidez. Goh et al. (2012) observaram que a quantidade de sacarose adicionada no caldo de chá preto afeta a produção de celulose microbiana pelo SCOBY da kombucha. Porém, ao alterar os valores da composição do chá, há um efeito significativo da interação com o teor de sacarose na turbidez da bebida. Estes são resultados importantes da interação das variáveis independentes.

Os teores de glicerol, álcool e ácido acético não foram afetados pelas variáveis de processo estudadas, o que significa que dentro da faixa de massa do SCOBY avaliado, a faixa de sacarose e a faixa do chá de glicerol, álcool e ácido acético não variaram estatisticamente ($p > 0,05$). Porém, considerando que a produção desses compostos ocorre por meio de uma rede de reações, incluindo a hidrólise da sacarose a pequenos carboidratos, como a glicose e sua utilização para a produção de etanol pelas leveduras, sendo esse álcool utilizado como substrato por bactérias acéticas para produzir ácido acético, esta cadeia de reação pode ser muito complexa para ser detectada pelo

procedimento de modelagem proposto no presente trabalho para alcançar efeitos significativos nas condições estudadas.

Artigos de revisão sobre kombucha mostram que os pesquisadores usam diferentes composições de chá, concentrações de açúcar, peso de SOCBY, temperaturas e tempo de fermentação (Miranda et al. 2022; Bortomedi et al. 2022), trazendo outro obstáculo para a comparação internacional de resultados. Assim, os resultados do presente trabalho também contribuem para esse cenário, no qual muito esforço deve ser feito para melhor padronizar a produção de kombucha em escala laboratorial e industrial.

5.5. CONCLUSÕES

Assim, este trabalho apresentou que as kombuchas produzidas estavam dentro dos parâmetros legais brasileiros e podem ser chamadas de bebida não alcoólica. As análises estatísticas mostraram que o rendimento de kombucha, o pH e o crescimento de SCOBY são influenciados pela massa de SCOBY utilizada no início da fermentação. Esses resultados mostram que o peso do inóculo inicial é um parâmetro crítico para a produção de kombucha, embora muita atenção não tenha sido dada a essa variável. A acidez é afetada pela composição do chá; enquanto isso, a turbidez do kombucha é afetada pela concentração de sacarose e pela interação do teor de açúcar e composição do chá. Uma interação significativa entre variáveis de processo apresentada no presente trabalho demonstra grande relevância. Isso mostra a importância da análise de planejamento fatorial na avaliação da produção de kombuchas, uma vez que o procedimento experimental *on-by-one* dificilmente indica esse comportamento. Glicerol, álcool e ácido acético não foram afetados pelos parâmetros avaliados nas faixas estudadas. Apesar de ser uma bebida ancestral, a produção de kombucha em escala industrial nos países ocidentais é recente. Mais estudos sobre a complexa interação entre micro-organismos

para a fermentação do produto, os diferentes chás que o compõem e outros parâmetros do processo são necessários para permitir sua adequada aplicação em nível industrial, visando um produto de maior qualidade e padronizado.

Mais SCOBY → menos rendimento, menor pH

Mais açúcar → menos turvo

Mais Chá verde → menos ácido

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS, RS, Brasil) pelo apoio financeiro e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil) pela bolsa de estudos concedida ao primeiro autor (Grant número 21/2551-0000531-9).

Referencias

Allied Market Research. (2022). Functional beverages market. <https://www.alliedmarketresearch.com/functional-beverages-market-A13087> Accessed in October 2022.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2019). Instrução Normativa Nº 41, de 17 de setembro de 2019. <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-41-de-17-de-setembro-de-2019-216803534> acessado em dezembro de 2022.

Amarasinghe, H., Weerakkody, NS, & Waisundara, VY (2018). Avaliação das propriedades físico-químicas e atividades antioxidantes da kombucha “Tea Fungus” durante longos períodos de fermentação. *Food Science and Nutrition*, 6, 659–665. doi: 10.1002/fsn3.605

Bortolamedi, BM, Pagliarini, CS, & Brod, FCA (2022). Compostos bioativos em kombucha: uma revisão sobre o efeito do substrato e as condições de fermentação. *Food Chemistry*, 385, 132719. Doi: 10.1016/j.foodchem.2022.132719

Cardoso, R.R., Oliveira Neto, R., Thomaz dos Santos D’Almeida, C., Pimenta do Nascimento, T., Giroto Pressete, C., Azevedo, L., Martino, H.S.D., Cameron, L.C., Ferreira, M.S.L., & Barros, F.A.R. (2020). Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*, 128, e108782. doi: 10.1016/j.foodres.2019.108782

Calado, V., & Montgomery, D.C. (2003). Planejamento de Experimentos usando Statistica. Editora Epapers, Rio de Janeiro. Coton, M., Pawtowski, A., Taminiau, B., Burgaud, G., Deniel, F., Coulloume-Labarthe, L., Fall, A., Daube, G., & Coton, E. (2017). Desvendando a ecologia microbiana de fermentações de kombucha em escala industrial por metabarcoding e métodos baseados em cultura. *FEMS Microbiology Ecology*, 93 (5), 1 – 16. doi: 10.1093/femsec/fix048.

Değirmenciöglü, N., Yıldız, E., Sahan, Y., Güldas, M., & Gürbüz, O. (2020). Impacto dos tipos de folhas de chá nas propriedades antioxidantes e bioacessibilidade do kombucha. *Journal of Food Science and Technology*, 58 (6), 2304-2312. doi:10.1007/s13197-020-04741-7

Girelli, A., Sant'Anna, V., & Klein, MP (2023). Secagem da polpa de butiá pelo método da camada de espuma e caracterização do pó. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 58, e03050. doi: 10.1590/S1678-3921.pab2023.v58.03050

Goh, WN, Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim, AA & Bhat, R. (2012). Fermentação do caldo de chá preto (kombucha): I. efeito da concentração de sacarose e do tempo de fermentação no rendimento de celulose microbiana. *International Food Research Journal*, 19(1), 109-117. [http://www.ifrj.upm.edu.my/19%20\(01\)%202011/\(15\)IFRJ-2011-105%20Rajeev.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/19%20(01)%202011/(15)IFRJ-2011-105%20Rajeev.pdf) Acessado em 31 de março de 2023.

Ivanišová, E., Meňhartová, K., Terentjeva, M., Harangozo, L., Kántor, A., & Kačániová, M. (2019). A avaliação das propriedades químicas, antioxidantes, antimicrobianas e sensoriais da bebida de chá kombucha. *Journal of Food Science and Technology*, 57 (5), 1840–1846. doi:10.1007/s13197-019-04217-3

Jakubczyk, K., Kałduńska, J., Kochman, J., & Janda, K. (2020). Perfil químico e atividade antioxidante da bebida kombucha derivada dos chás branco, verde, preto e vermelho. *Antioxidantes*, 9 (5), 447. doi: 10.3390/antiox9050447

Jayabalan, R., Malbaša, RV, Lončar, ES, Vitas, JS, & Sathishkumar, M. (2014). Uma revisão sobre microbiologia, composição, fermentação, efeitos benéficos, toxicidade e fungos do chá de kombucha. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13 (4), 538–550. doi: 10.1111/1541-4337.12073

Kotta, S., Mubarak Aldawsari, H., Badr-Eldin, SM, Alhakamy, NA, & Md, S. (2021). Nanoemulsão de resveratrol à base de óleo de coco: otimização usando metodologia de superfície de resposta, avaliação de estabilidade e avaliação farmacocinética. *Food Chemistry*, 357, 129721. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.129721

Lobo, RO, Dias, FO, & Shenoy, CK (2017). Kombucha para uma vida saudável: avaliação do potencial antioxidante e compostos bioativos. *International Food Research Journal*, 24 (2), 541-546. [http://www.ifrj.upm.edu.my/24%20\(02\)%202017/\(10\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/24%20(02)%202017/(10).pdf) Acessado em outubro de 2022.

Miranda, JF, Ruiz, LF, Silva, CB, Uekane, TM, Silva, KA, González, AGM, Fernandes, FD, & Lima, AR (2022). Kombucha: Uma revisão de substratos, regulamentos, composição e propriedades biológicas. *Jornal de Ciência Alimentar*, 87, 503-527. doi: 10.1111/1750-3841.16029

Mir, MB, Rastogi, S., & Haripriya, S. (2021). Otimização de variáveis de processo para a preparação de iogurte integral com goma de amêndoa usando o modelo de superfície de resposta Box-Behnken. *Applied Food Research*, 1 (2), e100016. doi: 10.1016/j.afres.2021.100016

Neffe-Skocińska, K., Sionek, B., Ścibisz, I., & Kołożyn-Krajewska, D. (2017). Teor de ácidos e o efeito da condição de fermentação de bebidas à base de chá kombucha nas propriedades físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. *CyTA Journal of Food*, 15, 601–607. doi: 10.1080/19476337.2017.1321588

Polat, H., Capar, TD, Inanir, C., Ekici, L., & Yalcin, H. (2020). Formulação de biscoitos funcionais enriquecidos com extrato de lentilha germinada: Uma Metodologia de Superfície de Resposta Box-Behnken Design. *LWT*, 123, e109065. doi:10.1016/j.lwt.2020.109065

Spedding, G. (2015). Então, o que é kombucha? Uma bebida alcoólica ou não alcoólica? Uma breve revisão de literatura selecionada e reflexão pessoal. BDAS, LLC http://alcbvtesting.com/wpcontent/uploads/2015/06/WhatIs_kombucha_BDASLLC_WPSPNo2_Out-4-2015.pdf Acessado em novembro de 2022.

Valiyan, F., Koohsari, H., & Fadavi, A. (2021). Uso da metodologia de superfície de resposta para investigar o efeito de várias condições de fermentação na atividade antibacteriana de várias bebidas de kombucha. *Journal of Food Science and Technology*, 58, 1877-1891. doi: 10.1007/s13197-020-04699-6

Vargas, BK, Fabricio, MF, & Záchia Ayub, MA (2021). Efeitos na saúde e potencial probiótico e prebiótico do kombucha: uma revisão bibliométrica e sistemática. *Food Bioscience*, 44, e101332. doi: 10.1016/j.fbio.2021.101332

Villarreal-Soto, SA, Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J.-P., Renard, T., Rollan, S., & Taillandier, P. (2019). Impacto das condições de fermentação na produção de compostos bioativos com propriedades anticancerígenas, anti-inflamatórias e antioxidantes em extratos de chá de kombucha. *Process Biochemistry*, 83, 44–54. doi: 10.1016/j.procbio.2019.05.004

Yeddes, W., Djebali, K., Wannas, WA, Horchani-Naifer, K., Hammami, M., Younes, I., & Tounsi, MS (2020). Filmes de gelatina-quitosana-pectina incorporados com óleo essencial de alecrim: formulação otimizada usando design de mistura e metodologia de superfície de resposta. *Jornal Internacional de Macromoléculas Biológicas*, 154, 92-103. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.03.092

Zhao, X., Procópio, S., & Becker, T. (2015). Impactos do sabor do glicerol no processamento de bebidas fermentadas com levedura: uma revisão. *Journal of Food Science and Technology*, 52 (12), 7588-7598. doi: 10.1007/s13197-015-1977-y

Zofia, NL, Aleksandra, Z., Tomasz, B., Martyna, ZD, Magdalena, Z., Zofia, HB, & Tomasz, W. (2020). Efeito do tempo de fermentação nas propriedades antioxidantes e antienvelhecimento de fermentos de kombucha de café verde. *Molecules*, 25 (22), 5394. doi: 10.3390/molecules2522539

6 KOMBUCHAS DE INFUSÕES DE CHÁ PRETO, CHÁ VERDE E ERVA-MATE: MAPA SENSORIAL PERCEBIDO, EMOÇÕES E PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Kombuchas from black tea, green tea, and yerba-mate infusions: perceived sensory map, emotions, and physicochemical parameters

Bruna Dartora ¹, Ludmylla Tamara Crepalde ², Lilian Raquel Hickert ¹, Mariana Fensterseifer Fabricio ³, Marco Antônio Zachia Ayub ³, Flávio Fonseca Veras ³, Adriano Brandelli ³, Karla Joseane Perez ¹, Voltaire Sant'Anna ^{1*}

¹Life and Environmental Area, State University of Rio Grande do Sul, Encantado, Rio Grande do Sul, Brazil

² Food Technology Department, Federal University of Viçosa (UFV), Viçosa, Minas Gerais, Brazil

³ Insitute of Food Science and Technology, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

* **Autor para Correspondência:** Voltaire Sant'Anna , Universidade do Estado do Rio Grande do Sul, Rua Alegrete , 821, CEP: 95960-000, Encantado , RS, Brasil. Telefone: +55 (51) 3751 3376. E-mail: voltaire-santanna@uergs.edu.br .

Artigo original

Título curto: Análise sensorial de kombuchas

6.1 RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi comparar kombuchas de chás verde e preto e erva-mate. Foram avaliadas as propriedades físico-químicas, polifenóis totais, teor de taninos condensados, atividade antioxidante e anti-hipertensiva. *Check-all-that-apply* foi utilizado para caracterização sensorial das amostras e das emoções evocadas. A kombucha de chá verde apresentou maiores valores de ácido acético e atividade anti-hipertensiva e menores valores de etanol. A kombucha de chá preto apresentou maior teor de polifenóis. A kombucha de erva-mate apresentou menores valores de atividade anti-hipertensiva. A kombucha de chá verde apresentou aroma e sabores ácidos; a bebida de chá preto, cor amarela; e sabor intenso; a erva-mate apresentou coloração brilhante. A kombucha ideal deve apresentar cheiro e sabores suaves e ser doce. A consciência de que o kombucha era feito de erva-mate evocou as emoções de paz, amor e tranquilidade; os consumidores evocaram emoções agressivas, preocupadas e boas para a bebida de chá preto e para chá verde as emoções evocadas foram satisfeitos. Diferentes folhas de chá tiveram desempenho diferente para características físico-químicas, atributos sensoriais percebidos e emoções evocadas.

Palavras-chave: *Ilex paraguariensis*; anti-hipertensivo; emoções.

Implicações para a gastronomia

Kombucha é uma grande tendência nos países ocidentais e o estudo de diferentes plantas para produzir a bebida fermentada é uma forma de diferenciação de mercado. A forma como os consumidores percebem os sabores das kombuchas são dados importantes para estudar com mais precisão a harmonização de alimentos com diferentes pratos e

preparações ou mesmo como fonte de novos sabores para receitas. Também, no presente trabalho foi estudada a erva-mate, uma planta tradicional e cultural da América do Sul, que hoje se limita ao consumo à base de chá. O estudo da erva-mate, no presente trabalho, também aumenta as possibilidades de chefs e cozinheiros testarem novos sabores valorizando plantas nativas, tradicionais e da biodiversidade cultural. Por fim, comer é uma experiência complexa que envolve diversos fatores além dos aspectos sensoriais, sendo as emoções parte essencial de todo o processo; e o presente trabalho traz novas informações para a área que podem contribuir com essa complexa rede que envolve a gastronomia.

6.2. INTRODUÇÃO

As bebidas funcionais são uma grande tendência mundial e estima-se que o mercado global alcance cerca de U\$ 200 milhões até 2030, com uma taxa de crescimento anual de 5,9% (Allied Market Research, 2022). Kombucha é uma bebida de chá fermentada obtida da infusão de *Camellia sinensis* e açúcares por uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras ativas, também conhecida como SCOBY (Kapp e Summer, 2019; Morales, 2020; Vargas et al., 202). Suas propriedades funcionais estão relacionadas com as recentes descobertas de compostos anticancerígenos, anti-inflamatórios, entre outros importantes promotores da saúde (Villarreal-Soto et al., 2019; Coelho et al., 2020; Vargas et al., 2021; Freitas et al., 2022). Em aplicações gastronômicas, o estudo das kombuchas e seus sabores é importante para a harmonização de alimentos com diferentes pratos ou mesmo como fonte de sabores para receitas (Johnson, 2016), sejam novidades no cardápio ou para incrementar aspectos sensoriais de pratos tradicionais, trazendo com esta incorporação vários benefícios para a saúde.

Tradicionalmente, a kombucha é produzida pela utilização da infusão de chá verde, mas o chá preto também é muito popular e tradicional. No entanto, buscando diferenciação no mercado, diversas plantas têm sido utilizadas para valorizar as culturas locais e a biodiversidade, como o chá vermelho (Jakubczyk et al., 2020), zijuan (Zhou et al., 2022), oolong (Kaewkod et al., 2019), baía mexicana (Gamboa -Gómez et al., 2016), mil-folhas (Vázquez-Cabral et al., 2017), entre outros (Freitas et al., 2022; Miranda et al., 2022). A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é uma planta nativa da América do Sul (Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai), cujas folhas são utilizadas principalmente como infusão para o consumo de *chimarrão*, mate e *tereré*, considerados tradicionais e culturais bebidas. Infusões de erva-mate têm sido relatadas por apresentar propriedades importantes, como atividades antioxidantes e antimicrobianas (Fayad et al., 2020), melhorias nas defesas antioxidantes e mitigação da disfunção hepática (Oliveira et al., 2018), redução do colesterol total (Chaves et al., 2018), exerce efeitos protetores cardiometabólicos (Ruskovska et al., 2023), entre outros benefícios promotores de saúde, creditado principalmente ao alto teor de polifenóis e metilxantinas (Junior e Morand, 2016). Nos aspectos culinários, adicionalmente, o estudo da erva-mate além de seu consumo tradicional, aumenta as possibilidades de chefs e cozinheiros testarem novos sabores valorizando plantas nativas, tradicionais e da biodiversidade cultural.

As propriedades funcionais desempenham um papel importante no consumo de kombucha, mas o perfil sensorial é crítico para a aceitação dos consumidores. Embora os artigos mais recentes tenham se concentrado na avaliação das características de promoção da saúde e dos parâmetros do processo, o interesse na análise sensorial de kombuchas ganhou atenção. A aceitação dos consumidores com base em uma escala hedônica e a caracterização de alimentos com base em painéis treinados têm sido usadas para avaliar o aroma, a cor, o sabor e a aceitabilidade geral de vários tipos de kombuchas (Kim e

Adhikari, 2020). Neffe-Slocinska et al. (2017) avaliaram a combinação de kombucha de chá verde e preto fermentado por 10 dias a 20 °C, 25 °C e 30 °C quanto à intensidade de aroma, sabor, aparência, bem como qualidade geral. A fermentação a 25 °C resultou em uma bebida com maior qualidade geral, com coloração clara, alta intensidade de sabor limão, e cheiro de chá, limão e azedo. Ivanišová e outros (2019) observaram que a kombucha de chá preto apresentou um agradável sabor fresco azedo-frutado e foi considerado harmônico e agradável pelos consumidores, embora tenha sido percebido um sabor de vinagre.

As metodologias baseadas no consumidor para a caracterização sensorial de alimentos são técnicas emergentes, pois são ferramentas versáteis, poderosas e sofisticadas na ciência sensorial, fornecendo uma descrição rápida das características dos alimentos e uma melhor compreensão de como os consumidores percebem e descrevem as características sensoriais dos produtos. Alcântara e Freitas-Sá, 2018; Varela e Ares, 2018). *Check-All-That-Apply*, popularmente conhecido como CATA, é uma metodologia sensorial descritiva baseada em atributos específicos, onde os consumidores selecionam todos os termos que consideram presentes na amostra avaliada, com base em uma pré-lista de atributos. Também, na mesma tarefa, é possível solicitar a aceitação dos voluntários e descrever o produto ideal, para destacar uma área de máxima preferência dentro do espaço perceptivo determinado pelos produtos reais. Então, usando a análise multivariada da Análise de Correspondência (CA), é possível obter o mapa de percepção de aceitação, trazendo informações importantes para as indústrias projetarem produtos mais bem-sucedidos e campanhas de marketing/comunicação mais eficazes (Varela e Ares, 2018).

Dentro do contexto dos consumidores, a aceitação e a intenção de compra de alimentos são fenômenos complexos e as emoções têm efeitos poderosos na escolha, e

sentimentos reais de felicidade, tristeza e raiva moldam nossas decisões (Millers e Schwartz, 1999; Ares et al., 2021). Para avaliar as emoções do consumidor, King e Meiselman (2010) propuseram o EsSense Profile[®], que é uma lista de 39 termos que expressam os sentimentos emocionais das pessoas e são classificados em positivos, negativos e neutros. Também utiliza a abordagem CATA, na qual os acessadores verificam todos os termos (emoções) que se aplicam quando são expostos aos estímulos da pesquisa. Tem sido usado para avaliar chocolates (Schouteten et al., 2018), queijos (Schouteten et al., 2015), entre outros, sendo uma ferramenta importante para obter informações adicionais na aceitação ou como uma vantagem de marketing para influenciar as decisões de compra (Ng e outros, 2013).

Não há informações na literatura atual sobre metodologia baseada no consumidor sobre kombuchas. Além disso, utilizando uma planta tradicional como uma possível inovação no campo, a análise de emoções pode trazer informações importantes para novos produtos que valorizem a biodiversidade nativa local. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o perfil sensorial de kombuchas à base de chá verde, chá preto e erva-mate pela metodologia CATA e avaliar as emoções evocadas nos consumidores ao serem informados sobre o produto testado. Com base nisso, a caracterização físico-química das amostras também foi avaliada e comparada com o perfil e aceitação das amostras.

6.3. MATERIAIS E MÉTODOS

6.3.1 Produtos químicos e ingredientes

Foram adquiridos chás verde e preto (Chámais, Xanxerê, SC, Brasil), erva-mate (Essência, Ilópolis, RS, Brasil), açúcar (Alto Alegre, SP, Brasil), água mineral (Água da

Pedra, Lajeado, Brasil). de um mercado local (Lajeado, RS, Brasil). Os produtos químicos utilizados nas análises por HPLC foram obtidos da Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, EUA) e outros da Êxodo Científica (Sumaré, SP, Brasil)

6.3.2 Produção de kombuchas

Os chás verde e preto foram preparados de acordo com as recomendações do fabricante: um sachê (10 g) foi misturado a 1 L de água mineral a 95 °C por 5 min. Para a infusão da erva-mate foram adicionados 5 g do produto comercial em água a 80 °C, mantida no sistema por 10 min e em seguida os sólidos foram separados por filtração (Grigori et al., 2004). Após resfriamento à temperatura ambiente, as infusões foram transferidas para frascos de vidro de 500 mL, onde foram adicionados 25 g de concentração de açúcar e 10 g de massa de SCOBY (a levedura mais abundante foi *Brettanomyces bruxellensis*; e a bactéria mais abundante foi *Komagataeibacter rhaeticus* – dados não publicados). A tampa dos frascos foi fechada com gaze e mantida a 25 °C (Solab S-101, Piracicaba, SP, Brasil) por 7 dias. Após o tempo de fermentação, a bebida foi filtrada e amostras de kombucha foram coletadas, transferidas para frascos de vidro e resfriadas a 7 °C. Todos os aparelhos e frascos foram higienizados com álcool 70 °GL antes dos experimentos.

6.3.3 Análises físico-químicas e propriedades bioativas

6.3.3.1 pH e acidez total

A análise do pH foi realizada a 25 °C em pHmetro digital de bancada (PHOX P1000, Colombo, PR, Brasil) previamente calibrado nas faixas de pH 4,01 e 6,86. A

acidez total foi determinada por titulação com hidróxido de sódio padronizado 0,01 mol/L e fenolftaleína como indicador e o resultado foi expresso em mgEq /L.

6.3.3.2 Cor e turbidez

CIELab foram determinados usando iluminação difusa D-65 em um calorímetro portátil (Konica Minolta, Chroma Meter CR-400, Japão). O instrumento foi calibrado com uma placa branca padrão. Os parâmetros medidos foram L^* (luminosidade), a^* (vermelhidão) e b^* (amarelamento).

A turbidez foi medida em um turbidímetro digital (DLT-WV, Dellab, Araraquara, SP, Brasil) e expressa em unidades nefelométricas de turbidez (NTU).

6.3.3.3 Álcool e ácidos orgânicos por HPLC

As concentrações de etanol, glicerol, ácido láctico, succínico e acético foram determinadas por HPLC (Shimadzu, Japão) equipada com um detector de índice de refração e coluna Bio-Rad HPX-87H (300 × 7,8 mm) usando ácido sulfúrico 5 mM como eluente a 45 ° C, vazão de 0,6 mL/min. Amostras de kombucha foram centrifugadas a 10.000 g e filtradas (filtro de 0,45 µm) antes da injeção de alíquotas de 20 µL. Padrões dos compostos analisados foram utilizados para identificação (tempo de retenção) e quantificação (padrão externo). Os resultados foram expressos em mg/L.

6.3.3.4 Polifenólicos

O conteúdo polifenólico total (TPC) (Singleton e Rossi 1965) foi medido pela reação da amostra, o reagente Folin- Ciocalteu e solução saturada de carbonato de sódio. A absorbância foi medida a 765 nm por espectrofotômetro UV-VIS (Kasuki, modelo IL-

226, Brasil). TPC de kombuchas foi padronizado contra uma curva de ácido gálico (Sigma, EUA) e expresso como mg equivalente de ácido gálico por mL (mg GAE/mL). A análise do teor de tanino condensado (CTC) foi realizada de acordo com o método de Price et al. (1972), que envolve a reação das amostras com solução de vanilina. A absorvância foi medida a 500 nm e os resultados foram calculados e expressos em mg equivalentes de epicatequina por mL de kombucha (mg de ECE/mL).

6.3.4 Atividade antioxidante e anti-hipertensiva

Kombuchas de chá verde, preto e à base de erva-mate também foram avaliadas por suas propriedades antioxidantes e anti-hipertensivas. Resumidamente, as análises antioxidantes foram realizadas pelo método de eliminação de radicais 2,2'-azinobis-(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS; Sigma-Aldrich) (Re et al. 1999), 2,2-difenil-método de eliminação de radicais 1-picrilhidrazil (DPPH; Sigma-Aldrich) (Brand-Willians et al., 1995) e atividade quelante de ferro (Tang et al. 2002). Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico; Sigma-Aldrich) foi usado como composto antioxidante padrão para testes ABTS e DPPH e os resultados foram expressos como Trolox equivalente (TE) após a obtenção do padrão Trolox curvas variando de 0,1 a 2,0 mM.

Para a atividade anti-hipertensiva foi empregado o método de inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA) conforme descrito por Cushman e Cheung (1971), com algumas modificações. A amostra (20 µL) foi adicionada a 100 µL de solução de substrato hippuril-histidil-leucina (5 mM, em tampão HEPES-HCl 50 mM contendo NaCl 300 mM, pH 8,3). Depois de adicionar 40 µL de reagente ACE a esta solução, a mistura de reação foi incubada a 37 °C por 30 min e finalizada com 150 µL de HCl 1 M. O ácido hipúrico liberado foi extraído com 1 mL de acetato de etila. Em seguida, a fase orgânica

foi transferida para tubos para evaporação do solvente por aquecimento. Foram adicionados aos tubos 800 µL de água destilada para dissolver o resíduo formado após a etapa de evaporação do solvente. As amostras foram medidas espectrofotometricamente a 228 nm. A atividade inibitória da ECA foi expressa como porcentagem:

$$ACE \text{ inhibitory activity (\%)} = \frac{1-(A-C)}{(B-D)} \times 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

onde, A é a absorbância do substrato + a amostra + o ACE, B é a absorbância sem a amostra, C representa a absorbância da amostra sem o ACE e D indica a absorbância sem a amostra e o ACE.

6.3.5 Análise sensorial

Para a análise CATA, a lista de atributos precisa estar alinhada com o vocabulário dos consumidores e ser de fácil compreensão (Varela e Ares, 2018). Assim, os descritores sensoriais foram levantados por um grupo focal de 8 indivíduos (6 mulheres e 2 homens, com idade média de 25 anos), numa única seção de 60 min, em que foram apresentadas as três amostras, bem como os seus ingredientes, e os participantes foram convidados a provar, cheirar, tocar tanto quanto necessário. Em seguida, bebiam as kombuchas, sabendo que tipo de infusão era apresentada em cada uma e citavam todos os atributos sensoriais relevantes que as caracterizavam. Os participantes foram instruídos a evitar descritores hedônicos. Os termos foram escritos em um quadro-negro e as discussões foram realizadas. Após consenso entre os avaliadores sob a supervisão de um moderador do painel, foi definida uma lista final de descritores sensoriais. Na mesma seção, foi explicada brevemente a metodologia da emoção, tendo sido apresentado ao grupo o ^{EsSense} Profile®, bem como, a metodologia dos emojis (Jaeger et al., 2020). A avaliação das

emoções evocadas pelos consumidores por meio dos personagens gráficos é uma forma de utilizar uma linguagem mais universal e reprodutível que tem sido amplamente utilizada na ciência sensorial e do consumidor (Jaeger et al., 2020; Ares et al., 2021). No entanto, o grupo focal foi unânime em afirmar que o uso de palavras foi mais fácil de entender do que emojis para que eles expressassem suas emoções quando provocados por um estímulo durante a análise sensorial. Assim, foram utilizados os 39 termos escritos propostos por King e Meiselman (2010).

Para a análise CATA dos consumidores, uma seção de 3 etapas foi realizada. Primeiramente, as três amostras de kombuchas a 7 °C foram servidas sequencialmente aos participantes em copos plásticos, codificados com três dígitos aleatórios, seguindo uma ordem de apresentação balanceada. Cento e cinco (n=105) voluntários receberam o questionário CATA, que consistia em uma lista contendo os 20 termos sensoriais levantados pelo grupo focal, a partir da qual deveriam marcar todos os atributos que consideravam aplicáveis para descrever cada bebida. A ordem dos atributos foi equilibrada entre os consumidores. A segunda etapa consistiu em informar aos entrevistados que uma kombucha era feita de chá verde, outra de chá preto e de infusão de erva-mate e eles foram solicitados a assinalar novamente todos os termos de emoção que se aplicavam ao seu sentimento em uma lista de 39 itens proposta por King e Meiselman (2010). Novamente, a ordem das emoções foi equilibrada entre os consumidores. Por fim, foi questionado sobre o perfil sociodemográfico (idade, renda mensal, escolaridade), frequência de consumo de kombucha e qual sabor de kombucha eles preferem. Uma lista de kombuchas aromatizadas (uva, abacaxi, chá preto, chá verde, chá preto e verde, maracujá, hibisco, gengibre, mirtilo, guaraná, outros), baseada em pesquisas anteriores em gôndolas de supermercados, foi apresentada para que indivíduos.

Todos os voluntários foram recrutados na região do Vale do Taquari (RS, Brasil) com base nos seguintes critérios: maiores de 18 anos, não gestantes, não lactantes e interessados em participar. Houve algum tipo de incentivo para a realização do teste. Em *consonância com os princípios da Declaração de Helsinque*, antes da participação, todos os voluntários leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, onde foram apresentados o objetivo, os riscos e os benefícios decorrentes da participação no estudo. No formulário, não foram informados os nomes das infusões das plantas, para evitar viés. O procedimento experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (certificado de aprovação número 60158422.5.0000.8091).

6.3.6 Análise de dados

6.3.6.1 Dados físico-químicos

Todas as análises físico-químicas foram realizadas em triplicata e as médias foram avaliadas pela análise de variância (ANOVA) seguida pelos testes Least Significant Differences (LSD) de Fisher e diferenças estatísticas foram consideradas quando $p \leq 0,05$. A normalidade e a homogeneidade foram previamente testadas pelos testes Shapiro-Wilk e *F máximo de Hartley*, respectivamente.

6.3.6.2 Dados sensoriais

Para avaliar as diferenças estatísticas nas taxas de aceitação dos voluntários, as médias foram avaliadas por ANOVA two-way seguida do teste LSD e diferenças estatísticas foram consideradas quando $p \leq 0,05$. Na ANOVA, as amostras foram consideradas efeito fixo e efeito aleatório dos consumidores. A normalidade dos dados e

a homogeneidade das variâncias foram avaliadas pelos testes *F máximo de Shapiro-Wilk* e *Hartley*, respectivamente, e foram considerados satisfatórios quando $p > 0,05$.

As frequências de menção para cada termo sensorial e emoção evocada foram determinadas por meio da contagem do número de consumidores que marcaram para descrever cada amostra e o teste não paramétrico *Q de Cochran* foi aplicado para detectar diferenças na percepção dos consumidores sobre as amostras avaliadas. As diferenças foram consideradas estatisticamente diferentes quando $p \leq 0,05$. Para obter os mapas sensoriais percebidos das amostras, seja em atributos sensoriais ou em emoções, foi utilizada a análise de correspondência (CA) baseada nas distâncias do qui-quadrado e o teste de independência entre linhas e colunas na tabela de frequência que contém o número de consumidores que verificaram cada termo das tarefas CATA (atributos sensoriais e termos de emoção) para descrever cada kombucha. Para AC, foram considerados itens sensoriais e emocionais aqueles com diferença estatística entre as amostras ($p < 0,05$). A relação estatística entre emoções e produtos foi avaliada pelo teste qui-quadrado e foi considerada significativa quando $p \leq 0,05$. O teste *Q* de Cochran e CA foram realizados no software XLSAT (Addinsoft , Nova York, EUA, versão 2022.3.1 - <https://www.xlstat.com/en>) e as análises ANOVA no software R versão 4.0.5 (2021-03-31) (www.r-project.org/).

6.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.4.1 Parâmetros físico-químicos

A regulamentação brasileira das propriedades da kombucha estabelece que a kombucha sem álcool presente no máximo 50 mL de etanol por litro (0,5% v/v) (3,95 mg/mL), acidez volátil na faixa de 30-130 mg de equivalente de ácido acético por litro (mgEq /L) e pH na faixa de 2,5-4,2 (Brasil, 2019). Os resultados das 3 kombuchas

avaliadas no presente trabalho são apresentados na Tabela 4. As bebidas estavam de acordo com a regulamentação brasileira e podem ser consideradas kombuchas alcoólicas.

Tabela 4. Parâmetros físico-químicos e propriedades bioativas de kombuchas.

	Chá verde	Chá preto	Erva mate
pH	2,92 ± 0,12 ^b	3,14 ± 0,14 ^b	3,83 ± 0,11 ^a
Acidez (mgEq /mL)	78,1 ± 2,1 ^a	69,2 ± 2,2 ^b	57,0 ± 2,4 ^c
Etanol (mg/mL)	5,80 ± 0,25 ^b	6,57 ± 0,22 ^a	6,84 ± 0,32 ^a
Ácido acético (mg/mL)	3,76 ± 0,19 ^a	3,06 ± 0,15 ^b	2,67 ± 0,19 ^b
Glicerol (mg/mL)	0,82 ± 0,03 ^a	0,62 ± 0,05 ^b	0,85 ± 0,02 ^a
Turbidez (NTU)	105,7 ± 4,0 ^b	121,0 ± 3,6 ^a	102,7 ± 5,7 ^b
<i>L</i> *	75,12 ± 4,60 ^a	55,90 ± 3,90 ^b	70,44 ± 4,78 ^a
<i>um</i> *	0,43 ± 0,22 ^a	1,11 ± 0,41 ^a	0,69 ± 0,21 ^a
<i>b</i> *	3,91 ± 0,60 ^b	12,53 ± 0,54 ^a	3,74 ± 0,50 ^b
Polifenólicos totais (mg GAE/L)	409,98 ± 48,32 ^b	469,04 ± 15,23 ^a	403,08 ± 15,23 ^b
Taninos condensados (mg ECE/L)	0,99 ± 0,08 ^a	1,09 ± 0,04 ^a	0,91 ± 0,01 ^a
Atividade de ABTS (μ mol TE/ L)			
†	3,27 ± 0,01 ^a	3,28 ± 0,01 ^a	3,25 ± 0,01 ^a
Atividade de DPPH ((μ mol TE/L) †			
†	2,20 ± 0,01 ^a	2,238 ± 0,01 ^a	2,16 ± 0,05 ^a
Atividade quelante de ferro (%)	0	0	0
Inibição da ECA (%)	93,97 ± 5,84 ^a	80,10 ± 3,00 ^b	66,21 ± 10,75 ^c

^{a,b,c}Diferentes letras sobrescritas indicam diferenças significativas entre as colunas (kombuchas) a 5% de significância pelo teste LSD. Os valores são as médias ± desvios padrão de três determinações independentes.

† Equivalente Trolox

A kombucha de erva-mate apresentou o maior valor de pH ($p < 0,05$), que foi de $3,83 \pm 0,11$, e esse parâmetro não diferiu entre as kombuchas de chá verde e preto ($p > 0,05$). Cardoso e cols. (2020) observaram valores de pH de 3,2 e 3,5 para kombuchas de chá verde e preto, respectivamente, após fermentação a 25 °C por 10 dias, que são semelhantes aos encontrados por Değirmencioğlu et al. (2021) em kombuchas dos chás branco, verde, oolong, preto e pu-erh. A acidez diferiu entre as amostras ($p < 0,05$) e a kombucha de chá verde apresentou os maiores valores, enquanto as bebidas à base de erva-mate apresentaram os menores ($p < 0,05$). Outros autores também observaram maiores valores de acidez para o kombucha feito de chá verde em comparação com o chá preto (Jayabalan et al., 2008; Cardoso et al., 2020), o que foi associado à predominância de diferentes espécies de bactérias acéticas e lácticas nesses kombuchas, e, conseqüentemente, à variação na produção de ácidos orgânicos (Coton et al., 2017; Cardoso et al., 2020). Zaions et al. (2014) e Kaltbach et al. (2022) observaram que a erva-mate apresenta valores de pH próximos a 6,0. A diminuição do pH e o aumento da acidez durante a fermentação da kombucha geralmente se devem à produção de ácidos orgânicos, como os ácidos glucurônico, glucônico, láctico, málico, cítrico, tartárico, fólico, malônico, oxálico e pirúvico (Jayabalan et al., 2014).

Kombucha feita com chá verde apresentou o menor teor de etanol ($5,80 \pm 0,25$ g/L) ($p < 0,05$), enquanto kombuchas de chá preto e erva-mate apresentaram concentrações semelhantes de etanol (Tabela 1). A regulamentação brasileira para a kombucha estabelece que ele deve apresentar menos de 3,945 mg/mL para ser rotulado como não alcoólico. Caso contrário, a bebida deve apresentar no máximo 63,12 mg/mL (8,0% v/v) de etanol e o termo “alcoólico” deve estar no rótulo (Brasil, 2019). Kombuchas foram produzidas em escala laboratorial e os resultados mostraram a importância do controle crítico do teor alcoólico da bebida para classificá-la com precisão de acordo com

o regulamento. A kombucha de chá verde apresentou o maior valor de ácido acético ($3,76 \pm 0,19$ g/L) ($p < 0,05$). Esse ácido está relacionado ao sabor e aroma do vinagre em bebidas fermentadas e concentrações menores são indicadas para maior aceitação do consumidor. O glicerol é o principal subproduto da produção de etanol pelas leveduras e sua concentração em bebidas fermentadas com leveduras contribui para o corpo e plenitude, influenciando também na intensidade do sabor. Assim, aumentar o rendimento de glicerol beneficia tanto o sabor quanto a redução de etanol para as bebidas fermentadas não alcoólicas (Zhao et al., 2015).

A análise de cor mostrou que as kombuchas à base de chá verde e erva-mate apresentaram cores mais claras (valores de L^* maiores) do que as feitas de chá preto ($p < 0,05$). A kombucha de chá preto apresentou maior coloração amarelada (maiores valores de b^*) ($p < 0,05$) em relação à erva-mate e ao chá verde. Todas as amostras apresentaram valores de a^* semelhantes ($p > 0,05$), e valores positivos baixos indicam uma cor levemente avermelhada. As diferenças nos valores de L^* podem ser devidas a diferenças na produção de chás verde e preto. O chá verde é obtido das folhas frescas de *C. sinensis*. Na produção do chá preto, as folhas são submetidas a um processo que estimula a atividade das polifenoloxidasas e conseqüentemente o escurecimento enzimático (Tanaka e Kouno, 2003). Para a produção de erva-mate, as folhas de *I. paraguayensis* são submetidas à queima indireta e posterior trituração, porém mantendo a coloração verde brilhante do produto comercial (Zaions et al., 2014). O processamento e o armazenamento da erva-mate levam à degradação das clorofilas, reduzindo a cor esverdeada (valores a^*) e intensificando a cor amarelada (valores b^*) (Zaions et al., 2014; Holowaty et al., 2018). A cor da kombucha é um aspecto importante na aceitação do produto, podendo atrair consumidores e aumentar a intenção de compra (Zou et al., 2021).

A kombucha de chá preto apresentou o maior teor de fenólicos totais ($469,04 \pm 15,23$ mg GAE/L) ($p < 0,05$) e os taninos condensados não diferiram entre as três amostras ($p > 0,05$). Ivanišová et al. (2019) e Kallel et al. (2012) observaram valores de TPC semelhantes para kombucha de chá preto e verde, respectivamente. Uma maior concentração de teor de polifenóis totais em kombucha preta foi relatada anteriormente (Cardoso et al., 2020) e está relacionada à maior diversidade e concentração de classes de compostos fenólicos (flavonoides, ácidos fenólicos, lignanas e estilbenos) (Cardoso et al., 2020). al., 2020). Konieczynski et al. (2017) compararam infusões de chá preto, chá verde e erva-mate e observaram que o ácido cafeico, a miricetina e o ácido p-cumárico foram os principais fatores que influenciaram as diferenças entre erva-mate e *C. sinensis*. As atividades antioxidantes medidas pela metodologia ABTS e DPPH não diferiram significativamente entre as kombuchas ($p > 0,05$; Tabela 4). Os resultados são semelhantes aos relatados para kombuchas branco, verde, oolong, preto e pu-erh (Değirmencioglu et al., 2021), onde a maior atividade antioxidante foi observada para o chá verde ($4,153 \mu\text{mole TE/L}$). Em outro estudo, a kombucha de chá preto apresentou maior atividade ABTS do que a kombucha à base de chá verde, correspondendo a $13,59$ e $8,22 \mu\text{mol TE/L}$, respectivamente (Cardoso et al., 2020). Vitas et al. (2020) observaram que o chá verde kombucha apresentou maior capacidade de sequestro de radicais DPPH do que a bebida à base de chá preto, atingindo cerca de 60% da capacidade de sequestro no 7º dia de fermentação. Embora a atividade quelante de ferro não tenha sido observada neste trabalho, uma atividade de poder redutor (método à base de ferro) de $1318,56$ mg TE/L foi relatada para a kombucha de chá preto (Ivanišová e outros, 2019). A atividade antioxidante das kombuchas é creditada à presença de conteúdo polifenólico (apresentado nas folhas do chá ou transformado durante a fermentação), embora compostos derivados

do ácido glucônico ou das tearubiginas e diferentes moléculas como o ácido ascórbico possam desempenhar papel importante nessa característica (Morales, 2020).

Em relação à atividade anti-hipertensiva, a kombucha de chá verde apresentou os maiores valores de atividade inibitória da ECA (Tabela 1), seguido pela kombucha de chá preto e erva-mate ($93,9 \pm 5,8\%$, $80,1 \pm 3,0\%$ e $66,2 \pm 10,7\%$, respectivamente). Embora poucos estudos tenham abordado as propriedades anti-hipertensivas da kombucha, Vitas et al. (2020) também observaram que a kombucha de chá verde foi um inibidor da ECA mais eficaz do que a kombucha de chá preto. Além disso, a redução da atividade inibitória da ECA de algumas infusões de plantas foi associada à diminuição do conteúdo total de fenóis e flavonoides após a fermentação por consórcios de kombucha (Gamboa -Gómez et al., 2016).

As diferenças entre os valores obtidos em diferentes trabalhos dependem do consórcio da microbiota do SCOBY, do tipo e composição dos chás utilizados, entre outras variáveis do processo e da matéria-prima.

6.4.2 Análise sensorial

Para a análise do CATA, a maioria dos voluntários era do sexo feminino (74,3%, n=75); ensino médio ou superior completo (45,6%, n=47 e 38,8%, n=40, respectivamente); apresentavam idade entre 21 e 40 anos (64,3%, n=63) e renda mensal entre 1 e 3 salários-mínimos (53,9%, n=55); a maioria dos indivíduos não consumia kombucha com frequência (50,0%, n=52 bebem menos de uma vez ao ano ou nunca). O perfil completo é mostrado na Tabela Suplementar S1. Kombucha é uma bebida nova no Brasil e entender a percepção sensorial dos não consumidores sobre o produto traz informações importantes para o mercado lançar novos produtos com mais precisão e assertividade.

Para a metodologia baseada no consumidor utilizada no presente trabalho, os descritores sensoriais levantados por um grupo focal resultaram em 20 atributos a serem aplicados nas tarefas CATA, que são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Tabela de contingência de atributos e kombuchas avaliada pelo método CATA.

Produtos \ Dimensões				<i>p</i> -
	chá preto	chá verde	erva mate	valor
Amargo	22h -	24h -	14h -	0,110
Suave cheiro	27 ^b	26 ^b	49 ^a	0,000
Doce	26 ^b	16b -	46 ^a	<0,0001
Vinagre	33 ^a	35 ^a	25 ^a	0,174
Cor brilhante	8b -	64 ^a	72 ^a	<0,0001
Cor amarela	58 ^a	23 ^b	18 ^b	<0,0001
Fermentado cheiro	30 ^a	30 ^a	25 ^a	0,567
Sabor de ervas	11h -	6 ^a	7 ^a	0,350
Sabor ácido	36 ^{ab}	40 ^a	23 ^b	0,008
Azedo	26ab -	34 ^a	16 ^b	0,004
Chá verde sabor	12h -	12h -	15h -	0,755
Carbonatado	37 ^a	36 ^a	28 ^a	0,190
Cheiro de erva-mate	17h -	5b -	12ab -	0,020
Sabor intenso	42 ^a	27 ^b	12c -	<0,0001
Secura	12h -	12h -	7 ^a	0,368
Cheiro ácido	22 ^{ab}	25 ^a	12b -	0,021
Cítrica fruta cheiro	18h -	22h -	24h -	0,544
Suave sabor	15 ^b	23 ^{ab}	34 ^a	0,002
Fermentado sabor	34 ^a	31 ^a	27 ^a	0,484
Cítrico sabor	42 ^a	33 ^a	34 ^a	0,246

^{a,b} Diferentes letras sobrescritas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre kombuchas pelo teste Cochran Q .

Diferenças estatísticas entre amostras ($p < 0,05$) foram observadas para metade dos parâmetros (10 atributos). Interessante ressaltar que no grupo focal não foi mencionado sabor/aroma/sabor alcoólico, embora tenha sido detectado etanol em todas as amostras na análise instrumental (Tabela 4) e, com base na legislação brasileira, as amostras foram classificadas como bebidas alcoólicas. O sabor do vinagre foi percebido pelo grupo focal em todas as amostras e nenhuma diferença estatística foi observada entre as amostras para este atributo ($p > 0,05$), embora as concentrações de ácido acético tenham sido maiores na kombucha de chá verde (Tabela 4). O CATA é uma ferramenta poderosa para entender como os indivíduos percebem os alimentos na ciência sensorial e do consumidor, porém pode apresentar dificuldade para discriminar amostras ou atributos muito semelhantes (Aguiar et al., 2020).

Os resultados da análise do CATA mostraram que a bebida à base de erva-mate apresentou maior menção aos termos “cheiro suave” e “doce” ($p < 0,05$). Katbach et al. (2022) observaram que pineno, limoneno, eucaliptol, linalol e decenal foram os principais compostos voláteis da erva-mate. A cor clara e o sabor suave foram os atributos mais citados para as bebidas com erva-mate e chá verde ($p < 0,05$), enquanto as kombuchas de erva-mate e chá-preto foram fortemente relacionadas ao cheiro de ervas ($p < 0,05$). A kombucha de chá preto foi fortemente relacionado aos atributos “sabor intenso” e “cor amarela” ($p < 0,05$) pelos consumidores. As kombuchas de chá verde e preto apresentaram alta frequência de menção dos termos “sabor ácido”, “cheiro ácido” e “azedo” ($p < 0,05$) em comparação com a kombucha de erva-mate. Outros atributos (amargo, vinagre, cheiro de fermentado, sabor de ervas, sabor de chá verde, carbonatado, ressecamento, cheiro cítrico, sabor fermentado e sabor cítrico) não diferiram entre as amostras ($p > 0,05$). Neffe-

Slocinska et al. (2017) observaram que kombuchas de chá verde/preto fermentadas a 20-30 °C apresentaram alta intensidade de sabor cítrico, chá e ácido, odor cítrico e intensidade de cor. Os autores também observaram intensidade baixa a leve de amargor, ácido acético e odores ácidos, odor e sabor de fermentado.

Para obter o mapa sensorial percebido das amostras avaliadas, a distribuição bidimensional das amostras e atributos foi obtida filtrando os parâmetros que não diferiram entre as amostras ($p > 0,05$) (Figura 2). O teste qui-quadrado mostrou alta relação entre as amostras e os atributos ($p < 0,0001$, $\chi^2_{\text{calculado}} = 228,905$; $\chi^2_{\text{crítico}} = 36,415$) e os resultados do CA mostraram que os dois primeiros fatores da redução da dimensão explicaram 89,29% (primeiro fator – F1, 63,42% e segundo fator – F2, 25,87%).

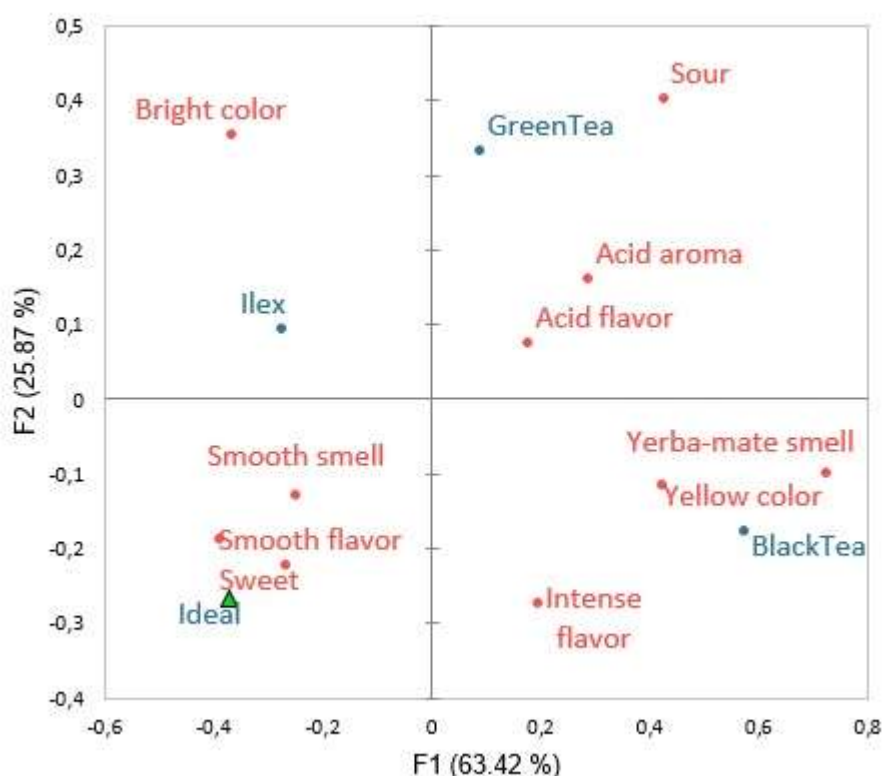


Figura 2. Análise CA de kombuchas feitas de diferentes infusões (azul) e sua relação com atributos sensoriais (vermelho).

A kombucha ideal foi caracterizada pelos consumidores como doce, com sabor suave e cheiro suave. Kombucha de chá preto foi correlacionada principalmente com cor amarela e sabor intenso, enquanto kombucha de chá verde foi relacionada com acidez, aroma e sabor ácido. A kombucha de erva-mate foi relacionada ao parâmetro de cor brilhante. Os polifenóis podem trazer amargor e sabor adstringente aos alimentos (Soares et al., 2017; González- Munõz et al., 2022) e a kombucha de chá preto apresentou a maior concentração de polifenóis totais (Tabela 4), o que não foi percebido pelos consumidores nas perguntas do CATA. Isso pode indicar baixo poder de discriminação da metodologia para amostras/atributos com pouca/ligeira diferença (Aguiar et al., 2020). Outra hipótese pode ser que o açúcar residual tenha mascarado o amargor dos polifenóis nas amostras. Dentre as classes de polifenóis, os taninos geralmente estão relacionados ao sabor adstringente, que traz secura à boca do indivíduo (Ma et al., 2014). A Tabela 4 mostra que houve pouca concentração de taninos condensados nas amostras em concentrações semelhantes ($p > 0,05$) e isso não foi percebido pelos consumidores (Tabela 5). Grigioni et al. (2004) observaram que infusões de erva-mate apresentam baixa intensidade de adstringência, doçura, sabor herbal e de chá e coloração amarela baixa a moderada. Mudanças na cor, amargor e sabores adstringentes dos chás verde e preto são derivados do processo de oxidação, conferindo ao chá preto uma distinção marcante em relação ao chá verde (Oliveira et al., 2014). Murugesu et al. (2017) observaram que o chá verde apresentou amargor, adstringente, sabores de chá e ervas verdes e leve-baixa intensidade de sabores florais, nozes e doces, o que é semelhante aos resultados encontrados por Kraujalytė et al. (2016) ao chá preto, que também observaram alta intensidade de sabor residual, torrado e caramelo.

A Figura 3 relaciona os escores de aceitação aos atributos sensoriais e os resultados mostraram que gostar foi associado a doce, sabor suave e cheiro suave, como observado no kombucha ideal (Figura 2).

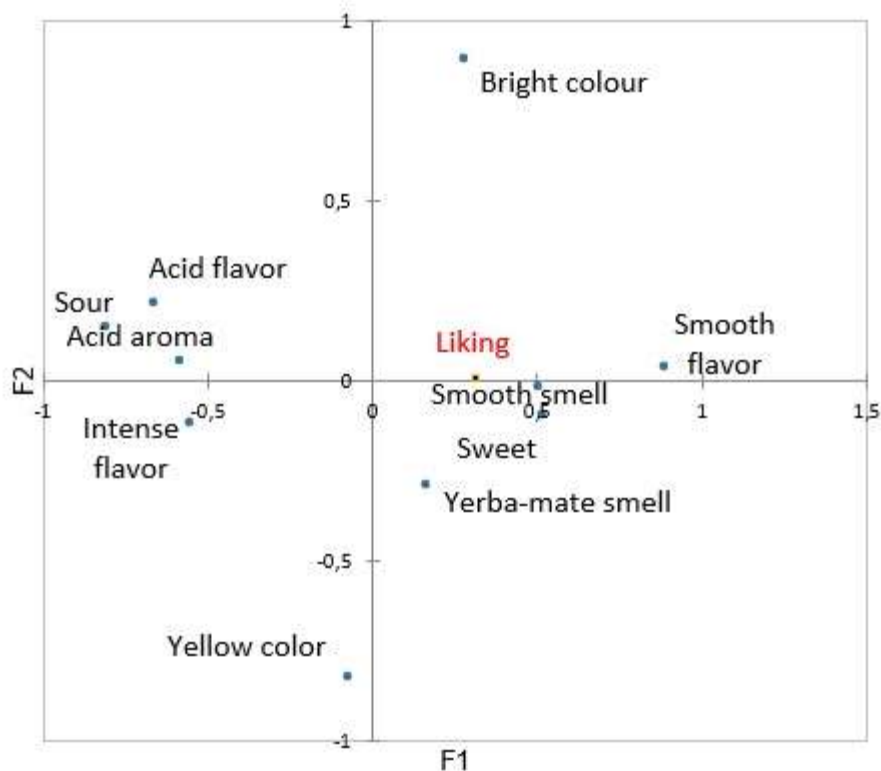


Figura 3. Análise CA dos escores de gosto e atributos dos kombuchas avaliados que diferem estatisticamente entre as amostras ($p < 0,05$, pelo teste Q de Cochran.).

A análise ANOVA seguida do teste LSD das notas de gosto das amostras indicou que a kombucha de erva-mate apresentou maiores índices de aceitação ($6,2 \pm 2,1$) ($p < 0,05$) do que as kombuchas de chá verde e preto (pontuação média de $5,8 \pm 2,3$ e $5,7 \pm 2,2$, respectivamente), que não diferiram entre si ($p > 0,05$). Ivanišová et al. (2019) observaram que a fermentação da kombucha em chá preto em melhorou a aceitação do sabor, o sabor geral e o gosto residual. A kombucha de erva-mate se diferenciou das outras duas bebidas pela doçura e cheiro suave (Tabela 2) e não se correlacionou com nenhum dos atributos (Figura 2).

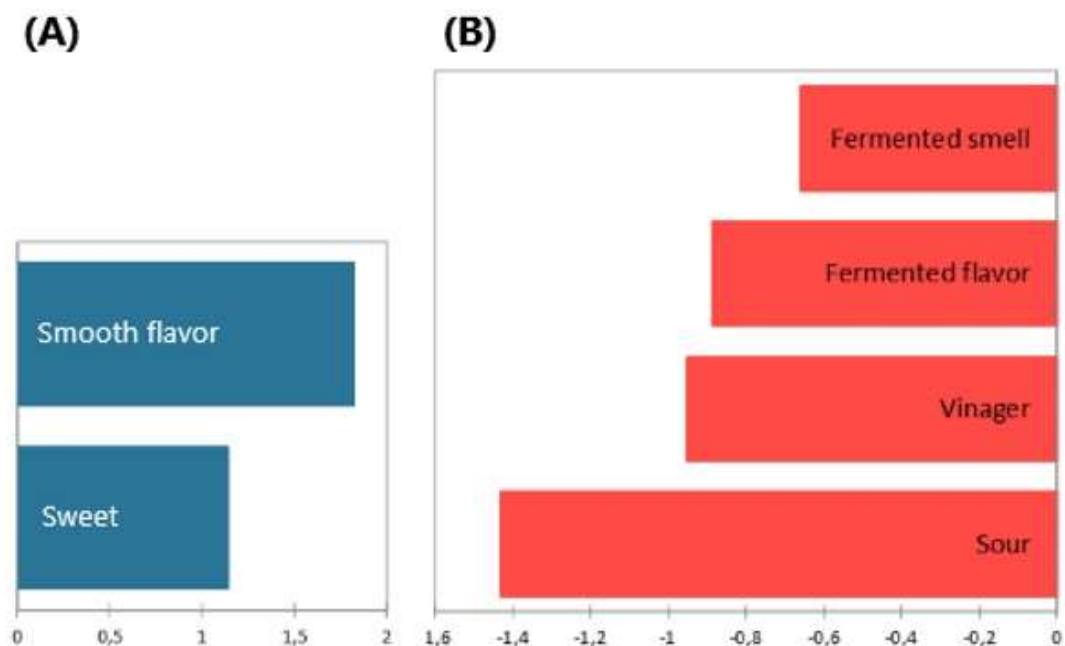


Figura 4. Impactos médios que impulsionam a aceitação (A) e rejeição (B) dos kombuchas.

Assim, foi realizada uma análise dos fatores de penalidade com base na kombucha ideal reivindicada pelos consumidores e na aceitação, o que possibilitou levantar os atributos que atuam como direcionadores da aceitação e rejeição dos produtos (Figura 4). A indicação pelos consumidores de sabor suave e doçura no produto ideal resultou em aumento de 1,8 e 1,1, respectivamente, no escore de agrado (Figura 4A). Por outro lado, sabor de fermentado, sabor de vinagre, secura, acidez e amargor implicaram na redução da aceitação em 0,9, 0,9, 1,3, 1,4 e 1,6, respectivamente (Figura 4B). Ares e outros. (2021) observaram que o alto amargor e adstringência (relacionados à sensação de secura) da erva-mate podem limitar sua aplicação em produtos alimentícios, conforme observado no presente trabalho. A Figura 4B também mostra que sabor e cheiro suaves são atributos de recompensa, que os voluntários não indicaram como ideais, mas foram verificados nas amostras avaliadas e implicaram em pontuações de aceitação mais altas. Isso está de acordo com Yang e Lee (2019), que observaram que o brilho estava relacionado à

preferência pelo chá verde-menta, enquanto os atributos adstringência, sabor amargo e pungência foram considerados como direcionadores de não gostar do produto.

6.4.3 Emoções

Q de Cochran da lista de 39 itens de emoções mostraram que 8 deles diferem entre as amostras quando os consumidores foram informados sobre a base do chá de cada kombucha. A análise CA explicou 100% da variância (F1 explicou 69,63% e F2 30,37%) entre as emoções e os kombuchas (Figura 5).

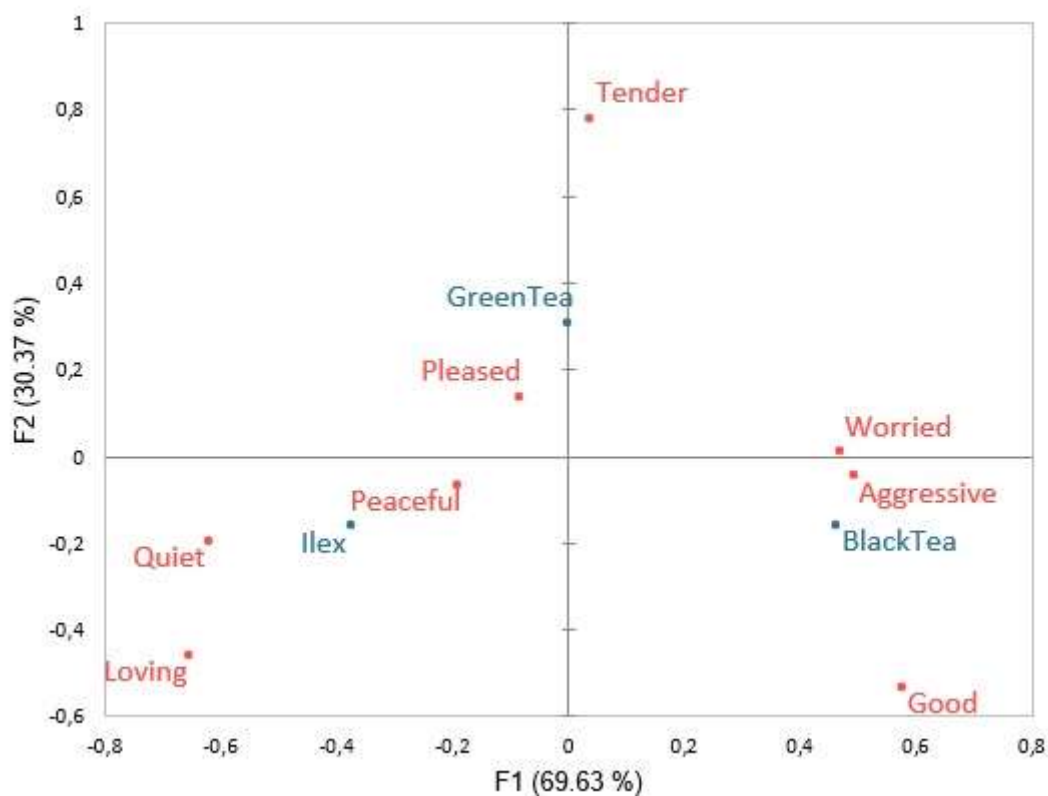


Figura 5. A análise CA emoções evocadas para o chá preto, chá verde e infusão de erva-mate que diferiram estatisticamente entre as amostras ($p < 0,05$, pelo teste Q de Cochran.).

O teste qui-quadrado mostrou alta relação com emoções evocadas e tipo de chá ($p < 0,05$, $\chi^2_{\text{calculado}} = 37,835$; $\chi^2_{\text{crítico}} = 23,685$). Quando os indivíduos foram informados de que um dos kombuchas era feito de erva-mate, pacífico, amoroso e tranquilo foram as

principais emoções evocadas, que são sentimentos positivos. Ao serem informados de que uma das bebidas era à base de chá preto, as respostas emocionais evocadas foram agressiva, preocupada e boa, sendo as duas primeiras caracterizadas como sentimentos negativos e a última como sentimento neutro. Como as kombuchas de erva-mate e chá-preto foram colocadas no lado oposto do eixo F1, elas apresentam perfis emocionais opostos. O eixo F2 separou a kombucha de chá verde das kombuchas de erva-mate e chá preto.

A erva-mate é uma planta cultural e tradicional do sul do Brasil usada para preparar uma bebida quente chamada *chimarrão*. A familiaridade com os alimentos locais afeta positivamente as emoções positivas dos consumidores (Stolzenbach et al., 2013). Observou-se que os alimentos tradicionais locais evocam sentimentos mais positivos do que os não tradicionais, principalmente nos consumidores locais, embora o fenômeno também aconteça com os estrangeiros. Rita e cols. (2022) observaram que a comida tradicional local recebeu uma avaliação positiva mais alta do que a comida não tradicional, com os locais avaliando-a ainda mais do que os estrangeiros (Rita et al., 2022). Além disso, Olegario et al. (2021) observaram que os contextos influenciaram a frequência de citação de emoções positivas e os termos mais citados tenderam a impactar positivamente as avaliações de gosto do produto, atuando como impulsionadores do gosto.

6.4.4 Kombucha com sabor

Kombuchas de chá verde e preto são os sabores tradicionais para bebidas. No entanto, Kim e Adhikari (2020) observaram que os sabores das kombuchas comerciais são baseados principalmente na adição de frutas. A Figura 6 mostra a frequência de menção dos sabores que os entrevistados prefeririam e os mais citados foram uva (36,1%,

n=39), abacaxi (30,0%, n=32) e maracujá (23,1%, n=24). Chá verde (29,6%, n=32), chá preto (26,0%, n=28) e uma combinação de chá verde e preto (18,5%, n=20) também foram citados com frequência. Isso está de acordo com os resultados obtidos a partir dos impactos na aceitação (Figura 4), onde o cheiro de frutas cítricas e o açúcar tiveram impacto positivo, enquanto o vinagre, o azedo e o amargo afetaram negativamente os escores de gosto. Além disso, os resultados indicam que kombuchas tradicionais ou aromatizadas são ideias interessantes para introduzir os produtos.

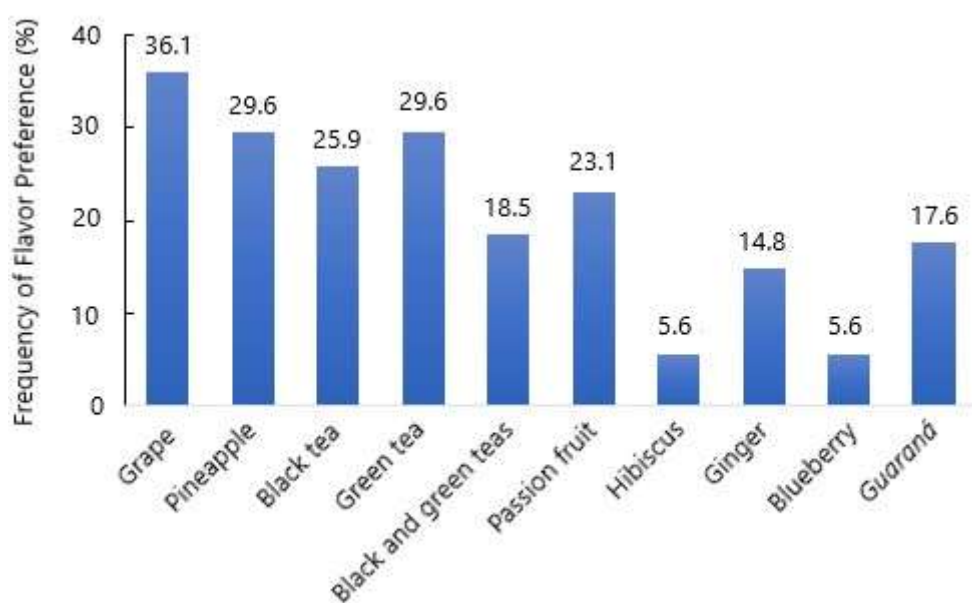


Figura 6. Frequência de preferência de sabor dos consumidores por kombuchas com sabor.

6.5 CONCLUSÕES

Em conclusão, as kombuchas à base de chá verde, chá preto e erva-mate caracterizaram-se como bebida alcoólica dentro dos padrões da regulamentação brasileira nas condições avaliadas. Kombucha de chá verde apresentou maiores valores de acidez, ácido acético e atividade anti-hipertensiva e menores valores de pH e etanol. Kombucha de chá preto apresentou maior turbidez e polifenóis totais. Kombucha de erva-mate apresentou maiores valores de pH e menores valores de atividade anti-hipertensiva. As

atividades antioxidantes de DPPH e ABST não diferiram entre as amostras. As amostras de kombuchas não apresentaram atividade quelante de ferro. A kombucha de chá verde destacou-se pela acidez e aroma e sabores ácidos; a kombucha de chá preto, pela cor amarela, cheiro de erva-mate e sabor intenso; enquanto isso, a bebida fermentada com erva-mate para cores vivas. A kombucha ideal foi descrita por apresentar cheiro e sabor suaves e ser doce. A erva-mate evocava as emoções de paz, amor e tranquilidade; chá preto, evocava emoções agressivas, preocupadas e boas e chá verde, evocaram emoções de prazer.

Dentre as limitações, o presente trabalho utilizou uma amostra de conveniência na população universitária, que não é representativa para os consumidores brasileiros. No entanto, esta abordagem é amplamente utilizada na ciência sensorial e fornece insights interessantes. Também não foram avaliadas diferentes condições de fermentação, o que pode produzir bebidas com perfis diferentes, a fermentação foi realizada dentro dos principais valores de faixa utilizados na literatura recente. No entanto, essas incapacidades não anulam o valor intrínseco desse trabalho e a erva-mate é uma planta tradicional da América do Sul e se mostra uma alternativa para a produção de kombucha.

Declaração de Interesse Concorrente

Os autores declaram que não têm interesses financeiros concorrentes conhecidos ou relacionamentos pessoais que possam parecer influenciar o trabalho relatado neste artigo.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS, RS, Brasil) pelo apoio financeiro e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil) pela bolsa concedida ao primeiro autor (Processo número 21 /2551-0000531-9).

Aprovação ética

O procedimento experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (certificado de aprovação número 60158422.5.0000.8091).

Disponibilidade de dados

Os dados experimentais obtidos no estudo atual estão disponíveis com o autor correspondente mediante solicitação razoável.

Declaração de inteligência artificial generativa na escrita científica

Os autores declaram que não usaram nenhum tipo de IA ou tecnologia assistida por IA no processo de escrita.

Referências

Aguiar, L.A., Rodrigues, D.B., Queiroz, V.A.V., Melo, L., & Pineli, L.L.O. (2020). Comparison of two rapid descriptive sensory techniques for profiling and screening of drivers of liking of sorghum breads. *Food Research International*, 131, 108999. doi:10.1016/j.foodres.2020.108999

Alcântara, M., & Freitas-Sá, D.G.C. (2018). Metodologias sensoriais descritivas mais rápidas e versáteis – Uma atualidade na ciência sensorial. *Brazilian Journal of Food Technology*, 21, e2016179.

Pesquisa de mercado aliada. (2022). <https://www.alliedmarketresearch.com/functional-beverages-market-A13087> Acessado em 10^{de} outubro de 2022.

Ares, G., Vidal, L., & Jaeger, SR (2021). Como os consumidores usam emoji em um contexto relacionado à comida? Insights para o design e interpretação de questionários emoji. *Journal of Sensory Studies*, 36, e12663. doi: 10.1111/joss.12663

Brand-Williams, W., Cuvelier, ME, & Berset, C. (1995). Uso de um método de radicais livres para avaliar a atividade antioxidante. *LWT Food Science and Technology*, 28, 25-30. doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2019). Instrução Normativa Nº 41, de 17 de setembro de 2019. <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-41-de-17-de-setembro-de-2019-216803534> acessado em 10 de dezembro de 2022

Cardoso, RR, Neto, RO, dos Santos D'Almeida, CT, do Nascimento, TP, Pressete, CG, Azevedo, L., Martino, HSD, Cameron, LC, Ferreira, MSL, & Barros, FAR (2020). Kombuchas dos chás verde e preto possuem perfil fenólico diferenciado, o que impacta suas capacidades antioxidantes, antibacterianas e atividades antiproliferativas. *Food Research International*, 128, 108782. doi: 10.1016/j.foodres .2019.108782

- Chaves, G., Brites, N., Oviedo, G., Gonzalez, G., Italiano, C., Blanes, M., Sandoval, G., & Mereles, D. (2018). Bebedores pesados de bebidas *Ilex paraguariensis* apresentam perfis lipídicos mais baixos, mas maior peso corporal. *Phytotherapy Research*, 32, 1030–1038. doi:10.1002/ptr.6041
- Coelho, RMD, Almeida, AL, Amaral, RQG, Mota, RN, & Sousa, PHM (2020). Kombuchá: revisão. *Internatioinal Journal of Gastronomy and Food Science*, 22, 100272. Doi: 10.1016/j.ijgfs.2020.100272
- Coton, M., Pawtowski, A., Taminiau, B., Burgaud, G., Deniel, F., Coulloume - Labarthe, L., & Coton, E. (2017). Desvendando a ecologia microbiana de fermentações de kombucha em escala industrial por metabarcoding e métodos baseados em cultura. *FEMS Microbiology Ecology*, 93, fix048. doi: 10.1093/femsec/fix048.
- Cushman, DW, & Cheung, HS (1971). Ensaio espectrofotométrico e propriedades da enzima conversora de angiotensina de pulmão de coelho. *Biochemical Pharmacology*, 20, 1637-1648. doi: 10.1016/0006-2952(71)90292-9
- Değirmencioğlu, N., Yıldız, E., Sahan, Y., Güldas, M., & Gürbüz, O. (2021). Impacto dos tipos de folhas de chá nas propriedades antioxidantes e bioacessibilidade do kombucha. *Journal of Food Science and Technology*, 58, 2304-2312. doi: 10.1007/s13197-020-04741-7
- Fayad, E., El-Sawalhi, S., Azizi, L., Beyrouthy, M., & Abdel-Massih, RM (2020). Ervamate (*Ilex paraguariensis*) um potencial agente antibacteriano alimentar e ensaios de combinação com diferentes classes de antibióticos. *LWT*, 125, 109267. doi: 10.1016/j.lwt.2020.109267
- Freitas, A., Sousa, P., Wurlitzer, N. (2022). Matéria-prima alternativa em kombucha produção. *jornal internacional de Gastronomia e Alimentação Science*, 30, 100594. doi: 10.1016/j.ijgfs.2022.100594
- Gamboa-Gómez, C.I., González-Laredo, R.F., Gallegos-Infante, J.A., Pérez, M.M.L., Moreno-Jiménez, M.R., Flores-Rueda, A.G., & Rocha-Guzmán, N.E. (2016). Antioxidant and angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of *Eucalyptus camaldulensis* and *Litsea glaucescens* infusions fermented with kombucha consortium. *Food Technology and Biotechnology*, 54, 367–373. doi: 10.17113/ftb.54.03.16.4622
- Gonzalez- Munoz, B., Garrido-Vargas, F., Pavez, C., Osorio, F., Chen, J., Bordeu, E., O'Brien, JA, & Brossard, N. (2022). Adstringência do vinho: Mais do que apenas interação tanino-proteína. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102, 1771-1781. doi: [10.1002/jsfa.11672](https://doi.org/10.1002/jsfa.11672)
- Grigioni, G., Carduza, F., Irurueta, M., & Pensel, N. (2004). Características de sabor de *Ilex paraguariensis* infusão, um produto típico argentino, avaliado por avaliação sensorial e nariz eletrônico. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 427–432. doi: 10.1002/jsfa.1670

- Holowaty, SA, Thea, AE, Alegre, C., & Schmalko, ME (2018). Diferenças nas propriedades físico-químicas da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) obtidas por métodos de fabricação tradicionais e alternativos. *Journal of Food Process Engineering*, 41, e12911. doi: 10.1111/jfpe.12911
- Ivanišová, E., Meňhartová, K., Terentjeva, M., Harangozo, L., Kántor, A., & Kačániová, M. (2019). A avaliação das propriedades químicas, antioxidantes, antimicrobianas e sensoriais da bebida de chá kombucha. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 1840–1846. doi: 10.1007/s13197-019-04217-3
- Jaeger, SR, Vidal, L., & Ares, G. (2020). Os emojis devem substituir as palavras de emoção em pesquisas de consumo relacionadas a alimentos baseadas em questionários? *Qualidade e Preferência Alimentar*, 92, 104121. doi: 10.1016/j.foodqual.2020.104121
- Jakubczyk, K., Kałduńska, J., Kochman, J., & Janda, K. (2020). Perfil químico e atividade antioxidante da bebida kombucha derivada dos chás branco, verde, preto e vermelho. *Antioxidantes*, 9, 447. doi: 10.3390/antiox9050447
- Jayabalan, R., Subathradevi, P., Marimuthu, S., Sathishkumar, M., & Swaminathan, K. (2008). Alterações na capacidade de eliminação de radicais livres do chá de kombucha durante a fermentação. *Food Chemistry*, 109, 227–234. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.12.037
- Jatyabalan, R., Malbasa, RV, Loncar, ES, Vitas, JS, & Sathishkumar, M. (2014). Uma revisão sobre o chá de kombucha – Microbiologia, composição, fermentação, efeitos benéficos, toxicidade e fungos do chá. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, 538–550. doi: 10.1111/1541-4337.12073
- Johnson, A. (2016). Microbiologia de alimentos artesanais. *Nature Microbiology*, 1, 16039. Doi 10.1038/nmicrobiol.2016.39
- Junior, ELC, & Morand, C. (2016). Interesse do mate (*Ilex paraguariensis* A. St. - Hil.) como um novo alimento funcional natural para preservar a saúde cardiovascular humana – Uma revisão. *Journal of Functional Foods*, 21, 440–454. doi: 10.1016/j.jff.2015.12.010
- Kaewkod, T., Bovonsombut, S., & Tragoolpua, Y. (2019). Eficácia do kombucha obtido dos chás verde, oolong e preto na inibição de bactérias patogênicas, antioxidante e toxicidade na linha celular de câncer colorretal. *Microorganismos*, 7, 700. doi: 10.3390/microorganisms7120700
- Kallel, L., Desseaux, V., Hamdi, M., Stocker, P., Ajandouz, EH (2012). Insights sobre a bioquímica da fermentação dos chás de kombucha e os impactos potenciais do consumo de kombucha na digestão do amido. *Food Research International*, 49, 226-232. Doi: 10.1016/foodres.2012.08.018
- Kapp, JM, & Summer, W. (2019). Kombucha: uma revisão sistemática da evidência empírica do benefício para a saúde humana. *Annals of Epidemiology*, 30, 66-70. doi: 10.1016/j.annepidem.2018.11.001

- Kaltbach, P., Ballert, S., Gillmeister, M., Kabroldt, K., & Schellenberg, I. (2022). Preparações de chá mate (*Ilex paraguariensis*): Compreendendo a extração de compostos voláteis e não voláteis mediante variações das tradicionais infusões consecutivas. *Food Chemistry*, 374, 131756. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.131756
- Kim, J., & Adhikari, K. (2020). Tendências atuais em kombucha: perspectivas de marketing e a necessidade de pesquisa sensorial aprimorada. *Bebidas*, 6, 15. doi: 10.3390/beverages6010015
- King, SC e Meiselman, HL (2010). Desenvolvimento de um método para medir as emoções do consumidor associadas aos alimentos. *Food Quality and Preference*, 21, 168-177. doi: 10.1016/j.foodqual.2009.02.005
- Konieczynski, P., Viapiana, A., & Wesolowski, M. (2017). Comparação de infusões de chá preto e verde (*Camellia sinensis* L. Kuntze) e Erva -mate (*Ilex paraguariensis* A. St.- Hil) com base no teor de elementos essenciais, metabólitos secundários e atividade antioxidante. *Food Analytical Methods*, 10, 3063-3070. Doi: 10.1007/s12161-017-0872-8
- Kraujalytė, V., Pelvan, E., & Alasalvar, C. (2016). Compostos voláteis e características sensoriais de vários chás instantâneos produzidos a partir do chá preto. *Food Chemistry*, 194, 864-872. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.08.051
- Ma, W., Guo, A., Zhang, Y., Wang, H., Liu, Y., Li, H. (2014). Uma revisão sobre a percepção de adstringência e amargor dos taninos no vinho. *Tendências em Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 40(1), 6-19. Doi: 10.1016/j.tifs.2014.08.001
- Millers, B., Schwartz, A., & Ritov, I. (1999). Escolha baseada na emoção. *Journal of Experimental Psychology*, 128, 332-345. doi : 10.1037/0096-3445.128.3.332
- Miranda, JF, Ruiz, LF, Silva, CB, Uekane, TM, Silva, KA, González, AGM, Fernandes, FD, & Lima, AR (2022). Kombucha: Uma revisão de substratos, regulamentos, composição e propriedades biológicas. *Journal of Food Science*, 87, 503-527. doi: 10.1111/1750-3841.16029
- Morales, D. (2020). Atividades biológicas de bebidas kombucha: A necessidade de evidências clínicas. *Trends in Food Science and Technology*, 1 05, 323-333. doi: 10.1016/j.tifs.2020.09.025
- Muruges, CS, Manoj, JB, Haware, DJ, Ravi, R., & Subramanian, R. (2017). Influência da qualidade da água nas características nutricionais e sensoriais da infusão de chá verde. *Journal of Food Process Engineering*, 40, e12532. doi: 10.1111/jfpe.12532
- Neffe-Skocińska, K., Sionek, B., Ścibisz, I., & Kołożyn-Krajewska, D. (2017). Teor de ácidos e o efeito da condição de fermentação de bebidas à base de chá kombucha nas propriedades físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. *CyTA Journal of Food*, 15, 601–607. doi: 10.1080/19476337.2017.1321588
- Ng, M., Chaya, C., & Hort, J. (2013). Além de gostar: comparando a medição da resposta emocional usando o Perfil EsSense e as metodologias de verificação de tudo o que se aplicam definidas pelo consumidor. *Qualidade e Preferência Alimentar*, 28, 193–205. doi: 10.1016/j.foodqual.2012.08.012

- Olegario, LS, Estevéz, M., González- Mohino, A., Madruga, MS, & Ventanas, S. (2021). Resposta emocional transcultural a estímulos alimentares: influência do contexto de consumo. *Pesquisa de Alimentos International*, 142, 110194. doi: 10.1016/j.foodres.2021.110194
- Oliveira, E., Lima, NS, Conceição, EPS, Peixoto-Silva, N., Moura, EG, & Lisboa, PC (2018). O tratamento com solução aquosa de *Ilex paraguariensis* (erva-mate) previne desequilíbrio redox hepático, triglicérides elevados e microesteatose em ratos adultos com sobrepeso desmamados precocemente. *Revista Brasileira de Pesquisas Médicas e Biológicas*, 51, e7342. doi : 10.1590/1414-431X20187342
- Preço, ML, Van Scoyok, S., & Butler, LG (1978) Uma avaliação crítica da reação da vanilina como um ensaio para o tanino no sorgo. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26, 1214–1218. Doi: 10.1021/jf60219a031
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Atividade antioxidante aplicando um ensaio aprimorado de descoloração de cátions radicais ABTS. *Radicais Livres em Biologia e Medicina*, 26, 1231-1237.
- Rita, P., Arriaga, P., Moura, A., & Gurerreiro, J. (2022). Respostas emocionais e motivacionais de locais versus estrangeiros em relação à comida tradicional e não tradicional. *Revista Espanhola de Marketing - ESIC* , à frente da impressão. doi: 10.1108/SJME-11-2021-0213
- Ruskovska, T., Morand, C., Bonetti, CI, Gebara, KS, Junior, ELC, & Milenkovic, D. (2023). Modificações multigenômicas em células imunes circulantes humanas em resposta ao consumo de erva-mate (*Ilex paraguayensis* A. St. - Hil.) são sugestivas de efeitos protetores cardiometabólicos. *British Journal of Nutrition*, 129, 185-205. doi: 10.1017/S0007114522001027
- Schouteten, JJ, De Steur, H., De Pelsmaeker, S., Lagast, S., De Bourdeaudhuij, I., & Gellynck , X. (2015). Impacto dos rótulos de saúde na percepção do sabor e no perfil emocional: um estudo do consumidor sobre o queijo. *Nutrientes*, 7, 10251–10268. doi: 10.3390/nu7125533
- Schouteten, JJ, De Pelsmaeker, S., Junival, J., Lagast, S., Dewettinck, K., & Gellynck, X. (2018). Influência dos atributos sensoriais nas emoções dos consumidores e gosto hedônico de chocolate. *British Food Journal*, 120, 1489-1503. doi: 10.1108/BFJ-08-2017-0436
- Singleton, VL, & Rossi, JA (1965). Colorimetria de compostos fenólicos totais com reagentes de ácido fosfomolibdico- fosfotungstico. *American Journal of Enology and Viticulture*, 20, 144–158. <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144>
- Soares, S., Brandão, E., Mateus, N., & de Freitas, V. (2017). Propriedades sensoriais dos polifenóis do vinho tinto: Adstringência e amargor. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 937–948. doi: 10.1080/10408398.2014.946468

- Stolzenbach, S., Bredie, WLP e Byrne, DV (2013). Conceitos de consumo no desenvolvimento de novos produtos de alimentos locais: méis tradicionais versus novos. *Food Research International*, 52(1), 144–152. doi:10.1016/j.foodres .2013.02.030
- Tanaka, TI, & Kouno, I. (2003). Oxidação das catequinas do chá: estruturas químicas e mecanismo de reação. *Food Science and Technology Research*, 9, 128-133. doi: 10.3136/fstr.9.128
- Tang, SZ, Kerry, JP, Sheehan, D., & Buckley, DJ (2002). Mecanismos antioxidantes das catequinas do chá em sistemas de carne de frango. *Food Chemistry*, 76, 45-51. doi: 10.1016/S0308-8146(01)00248-5
- Varela, P., & Ares, G. (2018). Avanços recentes na ciência do consumidor. In: *Methods in Consumer Research, V.1*, G. Ares & PA Varela (Eds.). Duxford, Reino Unido, Woodhead Publishing, pp. 3-21.
- Vargas, BK, Fabricio, MF, & Ayub, MAZ (2021). Efeitos na saúde e potencial probiótico e prebiótico do kombucha: uma revisão bibliométrica e sistemática. *Food Bioscience*, 44, 101332. doi: 10.1016/j.fbio.2021.101332
- Vázquez-Cabral, BD, Larrosa -Pérez, M., Gallegos-Infante, JA, Moreno-Jiménez, MR, González-Laredo, RF, Rutiaga -Quinones, JG, Gamboa -Gómez, CI, & Rocha-Guzmán, NE (2017). Oak kombucha protege contra o estresse oxidativo e processos inflamatórios. *Chemical -Biological Interactions*, 272, 1–9. doi: 10.1016/j.cbi.2017.05.001
- Villarreal-Soto, SA, Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J.-P., Renard, T., Rollan, S., & Taillandier, P. (2019). Impacto das condições de fermentação na produção de compostos bioativos com propriedades anticancerígenas, anti-inflamatórias e antioxidantes em extratos de chá de kombucha. *Process Biochemistry*, 83, 44–54. doi: 10.1016/j.procbio.2019.05.004
- Vitas, J., Vukmanovic, S., Cakarevic, J., Popovic, L., & Malbasa, R. (2020). Fermentação de kombucha de seis ervas medicinais: perfil químico e atividade biológica. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 26, 157–170. doi: 10.2298/CICEQ190708034V
- Yang, J.-E., & Lee, J. (2019). Percepção e gosto do consumidor e características sensoriais de chás misturados. *Food Science and Biotechnology*, 29, 63–74. doi:10.1007/s10068-019-00643-3
- Zaions, I., Picolo, AP, Gonçalves, IL, Borges, ACP, & Valduga, AR (2014). Caracterizaçãofísico -química de *Ilex paraguariensis* St. Hil. durante a maturação. *Arquivos Brasileiros de Biologia e Tecnologia*, 57, 663-667. doi: 10.1590/S1516-8913201402076
- Zhao, X., Procópio, S., & Becker, T. (2015). Impactos do sabor do glicerol no processamento de bebidas fermentadas com levedura: uma revisão. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 7588-7598. doi: 10.1007/s13197-015-1977-y
- Zhou, DD, Saimaiti, A., Luo, M., Huang, SY, Xiong, RG, Shang, A., Gan, RY, & Li, HB (2022). A fermentação com resíduos de chá aumenta as atividades antioxidantes e o

conteúdo de polifenóis em bebidas kombucha. *Antioxidantes*, 11, 155. doi : 10.3390/antiox11010155

Zou, C., Li, R., Chen, J., Wang, F., Gao, Y., Fu, Y., Xu, Y., & Yin, J. (2021). Kombucha à base de chá Zijuan: perfil físico-químico, sensorial e antioxidante. *Food Chemistry*, 363, 130322. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.13032

7 COMPREENDENDO O EFEITO DO TEMPO DE FERMENTAÇÃO NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, ATRIBUTOS SENSORIAIS E COMPOSTOS VOLÁTEIS DO CHÁ VERDE KOMBUCHÁ

Understanding the effect of fermentation time on physicochemical characteristics, sensory attributes, and volatile compounds in green tea kombucha

Bruna Dartora ¹, Lilian Raquel Hickert ¹, Mariana Fensterseifer Fabricio ², Marco Antônio Zachia Ayub ², Júnior Mendes Furlan ³, Roger Wagner ⁴, Karla Joseane Perez ¹, Voltaire Sant'Anna ^{1*}

¹ Área Vida e Meio Ambiente, Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Encantado, Rio Grande do Sul, Brasil

² Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

³ Universidade Federal do Pampa, Itaqui, Rio Grande do Sul, Brasil.

⁴ Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, Santa Maria, RS, Brasil

* **Autor correspondente:** Voltaire Sant'Anna, Universidade do Estado do Rio Grande do Sul, Rua Alegrete, 821, CEP: 95960-000, Encantado, RS, Brasil. Telefone: +55 (51) 3751 3376. E-mail: voltaire-santanna@uergs.edu.br.

Artigo original

Título curto: Efeito do tempo de fermentação no chá verde kombucha

7.1 RESUMO

As kombuchas são uma tendência no ramo de bebidas fermentadas e o efeito do tempo de fermentação em suas características é necessário para melhor compreensão do processo, principalmente no que diz respeito aos compostos voláteis, informações escassas na literatura atual. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar as características da kombucha de chá verde durante a fermentação, monitorando as alterações de pH, acidez, turbidez, polifenóis, etanol, ácido acético, compostos voláteis, além do perfil sensorial e aceitação até 14 dias de fermentação. O pH e a acidez das kombuchas diminuíram com o tempo conforme o esperado, mas após 4 dias de fermentação, a bebida ultrapassou os limites legais brasileiros de acidez (130 mEq/L) e produziu mais de 0,5% de AVB, que rotula a bebida como alcoólica. O teor de polifenóis totais e taninos condensados aumentou até o sétimo dia de fermentação e permaneceu constante. A fermentação impactou fortemente o aroma da infusão com alta formação de ácidos voláteis, como álcoois, ésteres e cetonas. Os aldeídos foram degradados durante o bioprocessamento. A caracterização sensorial de kombucha mostrou que a fermentação de 4 dias aumentou a turbidez percebida; vinagre, frutas cítricas, ácido e aroma alcoólico; e produziu a bebida com sabor azedo, amargo e vinagre. Assim, o tempo de fermentação das kombuchas deve ser controlado, pois elas mudam rapidamente e impactam nos parâmetros físico-químicos e no perfil sensorial da bebida podem ser negativos.

Palavras chaves: bebida fermentada; compostos aromáticos; metagenômica; análise sensorial.

7.2 INTRODUÇÃO

Kombucha é uma bebida milenar produzida pela fermentação de infusões de *Camellia sinensis* (chás verde e/ou preto) por uma Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras (SCOBY). Tornou-se popular nos países ocidentais, devido a vários relatos sobre as propriedades funcionais das kombuchas (Vargas et al., 2021) e recentemente impulsionado pela procura por bebidas saudáveis devido ao período de pandemia da COVID-19 (Chong et al., 2023). Neste contexto, estima-se que o mercado global do kombucha cresça 22% de 2022 a 2027 (Mordor Intelligence, 2023). Nas últimas décadas, as kombuchas foram produzidas em larga escala, embora a produção caseira tenha se tornado muito popular (Vargas et al., 2021; Oliveira et al., 2023).

Numerosas investigações mostraram que o produto final da kombucha varia em termos de espécies microbianas e concentração de metabólitos, como ácidos orgânicos, etanol e açúcares residuais (Neffé-Slocinska et al., 2017; Fabricio et al., 2022; Suhre et al., 2021). Além disso, diversas variáveis têm sido utilizadas em pesquisas recentes para avaliar os perfis das kombuchas, apesar do tempo e da temperatura serem os parâmetros mais críticos para os bioprocessos. Por exemplo, os chás derivados de *Camelia sinensis* (preto, verde, vermelho, branco, oolong) e os chás derivados de outras espécies vegetais (roiboo, canela, hortelã-pimenta, erva-mate, etc.) foram investigados em uma ampla gama de variáveis, tais como como concentração de chá (5 a 12 g/L), concentração de açúcar (30 g/L a 100 g/L), tempo de fermentação (de 7 a 21 dias) e temperatura (de 20 a 30 °C) (Ivanišová et al., 2019; Jakubczyk et al., 2020; Bortolomedi et al., 2022; Li et al., 2022; Dartora et al., 2023). Apesar de vários estudos terem sido realizados para compreender a fermentação da kombucha, uma investigação mais aprofundada do perfil volátil e da formação de metabólitos é essencial para padronizar o processo e compreender o efeito de diferentes condições no produto final.

Canadá e Estados Unidos oferecem regulamentações para a fabricação de kombucha, porém, apenas o Brasil possui legislação específica (Brasil, 2019; Oliveira et al., 2023). De acordo com a regulamentação brasileira, a acidez volátil das kombuchas deve estar entre 30 e 130 miligramas de ácido acético equivalente por litro (mgEq/L) e pH entre 2,5 e 4,2. Além disso, para ser rotulado como não alcoólico, a kombucha deve apresentar no máximo 0,5% de álcool por volume (ABV), enquanto uma bebida alcoólica deve apresentar entre 0,6 e 6% AVB (Brasil, 2019). Conforme demonstrado por diversos autores, produzir kombucha dentro dos parâmetros exigidos pela legislação é um desafio, principalmente no que diz respeito ao controle do teor alcoólico (Talebi, 2017, Jang et al., 2021; Suhre et al., 2021; Dartora et al., 2023).

O aroma é um indicador crítico de qualidade para produtos fermentados e é considerado um fator importante que atrai consumidores e aumenta a competitividade do mercado, uma vez que a composição dos compostos voláteis impacta o perfil sensorial e tem demonstrado desempenhar um papel significativo na preferência dos consumidores pelos alimentos (Cemin et al., 2022); Phong et al., 2022; Sales et al., 2023). Nas bebidas fermentadas, os compostos responsáveis por esse atributo são ácidos, álcoois superiores, aldeídos, cetonas, ésteres, entre outros (Tu et al., 2019; Savary et al., Yao et al., 2023; 2021; Sales et al. 2023). Álcoois e ácidos voláteis compõem sabores cítricos, doces, florais e frescos, embora também possam contribuir para sabores ácidos e rançosos. Eles geralmente são derivados do metabolismo de leveduras e bactérias. Os ésteres são formados a partir de ácidos de cadeia curta e conferem notas frutadas, enquanto os ésteres de ácidos de cadeia longa apresentam aroma gorduroso (Wang et al., 2022; Petričević et al., 2018). Os aldeídos apresentam aromas florais e herbais e se formaram como uma ramificação metabólica na via que leva do carboidrato ao etanol (De Francesco et al., 2015), enquanto as cetonas são produzidas pelo metabolismo microbiano de carboidratos,

oxidação de ácidos graxos ou através da reação de Maillard, levando a formação de aromas de mosto/flor/amêndoa (Wang et al., 2022).

Esforços foram feitos recentemente para revelar a formação de compostos voláteis das kombuchas. Tu et al. (2019) avaliaram um análogo de kombucha feito de soro de soja fermentado por uma associação de kombucha e observaram a produção de voláteis aromáticos, especialmente ésteres e aldeídos superiores, que conferiram sabor frutado ao soro de soja e melhoraram sua qualidade sensorial. Yao et al. (2023) identificaram 39 produtos químicos diferentes durante a fermentação de kombucha chá verde durante 27 dias, pertencentes principalmente a álcoois, aldeídos, ácidos carboxílicos, ésteres, ácidos graxos e cetonas e após 11 dias de fermentação a complexidade dos voláteis apareceu. Salles et al. (2023) observaram compostos nas classes ácido, álcoois superiores, ésteres e cetonas que contribuíram para aromas e sabores de frutas silvestres, mel, amadeirados e herbais, e esses atributos sensoriais impactaram a aceitação da bebida pelos consumidores. Além disso, os autores utilizaram kombucha de chá preto como amostra de controle para avaliar o efeito da presença de subproduto do café e observaram alto impacto da fermentação no perfil de compostos voláteis (Sales et al., 2023). Em relação aos parâmetros físico-químicos, Dartora et al. (2023) observaram que sabores suaves e doçura são os atributos mais aceitos no gosto de kombuchas, enquanto o cheiro fermentado, os sabores fermentados, o vinagre e a acidez não são atributos interessantes. Esses parâmetros podem ser rastreados até compostos voláteis, ácidos orgânicos, teor de polifenóis, que mudam durante o bioprocessamento da kombucha (Neffe-Slocinska et al. 2017; Sales et al., 2023).

Considerando a falta de padronização na produção de kombucha (tempo de fermentação, concentração de açúcar, temperatura utilizada) e a população microbiana no SCOBY atualmente utilizado (Vargas et al., 2021; Oliveira et al., 2023) e, entendendo as

características físico-químicas e sensorial a padronização é uma etapa importante para produzir produtos de maior qualidade e minimizar erros no processo industrial. Assim, na tentativa de contribuir com a literatura e conhecimento atuais sobre a fermentação de kombuchas, o objetivo do presente trabalho foi avaliar e relacionar o efeito do tempo no pH, acidez, polifenóis, etanol, ácido acético, compostos voláteis da kombucha de chá verde, e o perfil sensorial e aceitação dos consumidores.

7.3 MATERIAIS E MÉTODOS

7.3.1 Produção de kombucha

As kombuchas foram produzidas conforme descrito anteriormente (Dartora et al., 2023). Brevemente, 10 g de chá verde (*Camelia sinensis* (L.) O. Kuntze, Chámais, Xanxerê, SC, Brasil) foi infundido em 1 L de água mineral (Água da Pedra, Lajeado, Brasil, pH 7,5) a 95 °C por 5 min e depois filtrada com pano de microfibra. Após resfriamento à temperatura ambiente, à infusão de chá verde foram adicionados 25 g de açúcar (Alto Alegre, SP, Brasil), homogeneizado manualmente com uma colher até a dissolução do açúcar e transferido para frascos de vidro de 2 L. As culturas iniciadas, obtidas de um produtor local (Lajeado, RS, Brasil) consistiam em película celulósica (SCOBY) e líquido fermentado (de kombucha previamente fermentado). Foram adicionados 30 (trinta) g/L de SCOBY (o biofilme celulósico) e 10 mL/ L do líquido fermentado como inóculo, o topo dos frascos foi fechado com gaze e as fermentações foram realizadas a 25 °C (Solab S- 101, Piracicaba, SP, Brasil) por 14 dias. Todos os equipamentos e frascos foram higienizados com álcool 70 °GL antes dos experimentos. Os experimentos foram realizados em triplicata e amostras (10 mL) foram coletadas nos dias 4, 7, 10 e 14 de fermentação para análise.

7.3.2 Análise de bactérias e fungos no SCOBY por análise metagenômica

Foram coletadas amostras de SCOBY (apenas o biofilme celulósico) para extração total de DNA. Cem (100) g de SCOBY foram triturados com nitrogênio líquido e adicionados 500 μ L de celulase (Sigma-Aldrich) e incubados a 40 °C por 60 min. Em seguida, as amostras foram submetidas à digestão enzimática com 400 U de zimolase a 30 °C por 45 min (Zymo Research, Irvine, CA, EUA). A extração de DNA foi realizada utilizando o kit Purelink Genomic DNA (Invitrogen, Waltham, MA, EUA) seguindo o protocolo do fabricante. A quantificação do DNA extraído foi determinada utilizando Qubit® 3.0 (Invitrogen, EUA).

A identificação das bactérias foi realizada por sequenciamento de alto rendimento das regiões v3/v4 do gene 16S rRNA. As bibliotecas foram preparadas de acordo com protocolo da Neopropecta Microbiome Technologies (Florianópolis, SC, Brasil) e a amplificação foi realizada com primers para a região v3-v4 do gene 16S rDNA, 341f (CCTACGGGRSGCAGCAG) e 806r (GGACTACHVGGGTWTCTAAT). As bibliotecas foram sequenciadas usando o Sistema de Sequenciamento MiSeq (Illumina Inc., San Diego, CA, EUA) e as sequências foram analisadas usando o pipeline Sentinel.

A identificação das leveduras foi realizada através da amplificação da região da Sequência Interna Transcrita (ITS) do gene 18S rRNA fúngico, utilizando os primers ITS1 e ITS2 com adaptadores identificados da plataforma Illumina. Os amplicons gerados a partir de reações de PCR foram purificados usando esferas Agencourt AMPure XP, seguindo as instruções do fabricante. Os índices foram adicionados às bibliotecas de DNA seguindo as instruções do fabricante (Illumina Inc., EUA). O sequenciamento foi conduzido em um sistema Illumina MiSeq com um kit v2 de 500 ciclos. As identificações taxonômicas foram realizadas com blastn v.2.6.0+ utilizando

como referência um banco de dados da empresa Neopropecta. Para identificar espécies microbianas nas amostras, as sequências de DNA obtidas foram comparadas com um banco de dados contendo outras sequências de DNA de espécies já caracterizadas.

7.3.3 pH, acidez total e turbidez

pH, acidez total e turbidez foram realizados conforme descrito anteriormente (Dartora et al., 2023). A análise do pH foi realizada em pHmetro digital de bancada (PHOX P1000, Colombo, PR, Brasil) e a acidez total, por titulação com hidróxido de sódio padronizado 0,01 mol/L (Êxodo Científica, Sumaré, SP, Brasil) e fenolftaleína como indicador, e o resultado foi expresso em miligramas equivalentes de ácido acético por litro (mEq/L). A turbidez foi medida em turbidímetro digital (DLT-WV, Dellab, Araraquara, SP, Brasil) e expressa em unidades nefelométricas de turbidez (NTU).

7.3.4 Álcool, ácido acético e glicerol

Os produtos químicos de HPLC foram obtidos da Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, EUA) e a determinação foi baseada em estudo anterior (Dartora et al., 2023). As concentrações de etanol, glicerol e ácido acético foram determinadas por HPLC (Shimadzu, Japão) equipado com um detector de índice de refração usando coluna Bio-Rad HPX-87H (300 × 7,8 mm), ácido sulfúrico 5 mM como eluente e vazão de 0,6 mL/min a 45 °C. Amostras de kombucha foram centrifugadas a 10.000 × g e filtradas (filtro de 0,45 µm) antes da injeção de alíquotas de 20 µL. Padrões dos compostos analisados foram utilizados para identificação (tempo de retenção) e quantificação (padrão externo). Os resultados foram expressos em mg/mL.

7.3.5 Polifenólicos totais e taninos condensados

Os polifenólicos totais foram medidos pela reação de 40 μ L das amostras com 4,5 mL de água destilada, 600 μ L do reagente Folin-Ciocalteu (Êxodo Científica, Sumaré, SP, Brasil) e 200 μ L de solução saturada de carbonato de sódio (Singleton e Rossi, 1965). A absorvância foi medida a 765 nm por espectrofotômetro UV-VIS (Kasuaki, modelo IL-226, Brasil) e os resultados foram expressos em mg equivalente de ácido gálico por L (mg GAE/L). A análise do teor de tanino condensado (CTC) foi realizada misturando 500 μ L de kombucha com 2 mL de solução de vanilina 2 mol/L (Price et al., 1972). A absorvância foi medida a 500 nm e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de epicatequina por mL de kombucha (mg de ECE/L).

7.3.6 Compostos voláteis

Os compostos voláteis foram determinados por microextração em fase sólida headspace (HS-SPME) de acordo com Bernardi et al. (2014). Para a extração dos compostos voláteis foi utilizada fibra DVB/Car/PDMS (Supelco[®], Sigma-Aldrich, Saint Louis, Missouri, EUA; 50/30 μ m, 1 cm de comprimento) previamente condicionada conforme recomendação do fabricante. Para análise da amostra, aproximadamente 10 mL de kombucha foram degaseificados a 5 °C por 10 min em banho de ultrassom. Em seguida, 5 mL de amostra foram adicionados a cloreto de sódio 30% m/v e 10 μ L de solução padrão interno (3-octanol: 8,2 μ g/mL) em um frasco de 20 mL e imediatamente selado com tampa. fio contendo septo de politetrafluoretileno (PTFE). A extração HS-SPME foi realizada a 35 °C, quando inicialmente as amostras foram mantidas por 5 min para estabelecer o equilíbrio de temperatura (fibra não exposta), após o qual a fibra SPME foi exposta ao

headspace da amostra por 50 min para extração de compostos voláteis à mesma temperatura. Durante a análise, a amostra foi homogeneizada com uma barra magnética.

Análises semiquantitativas de compostos voláteis foram realizadas em cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massa (GC-MS) (Shimadzu Corporation QP2010-Plus, Kyoto, JP). A fibra contendo as moléculas voláteis adsorvidas foi desorvida termicamente na porta do injetor a 250 °C por 10 min em modo split (proporção 1:10). O hélio foi utilizado como gás de arraste com velocidade linear constante de 39,4 cm/s. Os compostos voláteis foram separados usando uma coluna SupelcoWax 10 (30 m × 0,25 mm; 0,25 µm de espessura de filme; Supelco®, Sigma-Aldrich, Saint Louis, Missouri, EUA). A programação da temperatura da coluna iniciou em 35 °C por 5 min, seguida de aumento de 2 °C/min até 80 °C, passando então para 230 °C com aumento de 5 °C/min onde foi mantida por 5 minutos. Finalmente, atingiu 240 °C a uma taxa de 10 °C/min, permanecendo em isoterma por 2 min. As temperaturas da interface GC-MS e da fonte de ionização foram 230 e 200 °C, respectivamente. O analisador de massa quadrupolo foi operado em modo de varredura com uma faixa de massa de 35-350 m/z. Os compostos voláteis foram identificados comparando os espectros de massa dos analitos com aqueles encontrados na biblioteca espectral do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST 05s); com identificação positiva a partir de padrões de ésteres, cetonas, ácidos, álcoois, aldeídos e terpenos e foram identificados através do índice de retenção linear experimental (LRI) do analito com o LRI teórico relatado na literatura (NIST e Pherobase). Os LRIs experimentais foram calculados a partir dos tempos de retenção de uma série homóloga de alcanos (C8-C30) obtidos nas mesmas condições cromatográficas da amostra. A quantificação dos compostos voláteis foi realizada por meio de padronização interna com adição de padrão 3-octanol (Sigma-Aldrich).

7.3.7 Análise sensorial

A kombucha fermentada por 4 dias a 25 °C foi comparada com a kombucha não fermentada por meio da análise de caracterização sensorial dos consumidores, o Check-All-That-Apply (CATA). Sessenta (n=60) voluntárias (maiores de 18 anos, não grávidas, não lactantes e interessadas em participar) avaliaram sua aceitação das amostras por meio de uma escala hedônica de 9 pontos, ancorada em “não gostei muito” e “gostei muito”. muito” e verificaram todos os termos sensoriais que perceberam em cada bebida em uma lista de 23 termos sensoriais levantada anteriormente por um grupo focal. Os termos foram agrupados em aparência (5 termos: turbidez, cor amarela, cor verde, cor brilhante, gaseificado), odor (8 termos: vinagre, fruta cítrica, ácido, odor suave, fermentado, grama, chá verde e alcoólico), sabor (10 termos: doce, azedo, amargo, vinagre, suave, chá verde, fermentado, alcoólico). A apresentação da amostra e a ordem dos atributos foram aleatórias e balanceadas entre os consumidores.

Antes da participação, todos os voluntários leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, concordando em participar do estudo. O procedimento experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade do Estado do Rio Grande do Sul (certificado de aprovação número 67630423.8.0000.8091).

7.3.8 Análise de dados

Para avaliar as diferenças estatísticas nos escores de aceitação dos voluntários, as médias foram avaliadas por análise de variância de dois fatores (ANOVA) e teste de Fisher e as diferenças estatísticas foram consideradas quando $p \leq 0,05$. Na ANOVA, as amostras foram consideradas efeito fixo e efeito aleatório dos consumidores. A normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias foram avaliadas pelos testes

Shapiro-Wilk e F máximo de Hartley, respectivamente, e foram consideradas satisfatórias quando $p > 0,05$.

O perfil de compostos voláteis das amostras foi analisado por Análise de Componentes Principais (PCA), que foi realizada por meio de triplicatas de amostras no software XLSAT (Addinsoft, Paris, França, versão 2021.3.1) e gráficos no Microsoft Excel 2000 (MapInfo Corporation, Troy, NY, EUA). A matriz de dados foi dimensionada automaticamente para cada variável antes da análise do PCA.

As frequências de menção para cada termo sensorial e emoção evocada foram determinadas pela contagem do número de consumidores que marcaram para descrever cada amostra e o teste não paramétrico *Q* de Cochran foi aplicado para detectar diferenças na percepção dos consumidores em relação às amostras avaliadas. As diferenças foram consideradas estatisticamente diferentes quando $p \leq 0,05$. O teste *Q* de Cochran e CA foram realizados no software XLSAT e a análise ANOVA no software R versão 4.0.5 (2021-03-31) (www.r-project.org/).

A análise estatística dos parâmetros físico-químicos foi realizada por comparação das médias das triplicatas de cada experimento por ANOVA seguida do teste de Tukey e as diferenças foram consideradas quando $p \leq 0,05$.

7.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.4.1 Perfil de bactérias e fungos no SCOBY

Uma análise profunda dos fungos e bactérias presentes no SCOBY (o biofilme celulósico) é importante para compreender todo o processo de fermentação. A composição microbiana inicial do SCOBY no início da produção da kombucha é mostrada na Figura 7. Neste trabalho, o gênero de bactéria predominante no SCOBY foi

Komagataeibacter, o que é consistente com resultados anteriores relatados na literatura (Gaggia et al., 2018; Harrison e Curtin, 2021; Fabricio et al., 2022). As espécies bacterianas mais abundantes foram *Komagataeibacter rhaeticus* (64%), seguido por *Komagataeibacter sucrofermentans* (15%) e *Komagataeibacter hansenii* (12%). *Methylobacterium radiotolerans* representou 4% das bactérias no SCOBY, e outras (*Agrobacterium tumefaciens*, *Gluconobacter oxydans*, *Pseudomonas mendocina*, *Sphingomonas paucimobilis* e *Caulobacter* sp.) apresentaram menos de 2% de abundância relativa.

Quanto à diversidade de leveduras, predominou *Brettanomyces bruxellensis* (84%), seguida por *Saccharomycetales* sp. (6%), *Myrmecridium schulzeri* (3%) e *Pichia* sp. (2%). Outros fungos (*Pichiaceae* sp., *Aureobasidium pullulans*, *Brettanomyces anomalus*, *Candida orthopsilosis*, *Naganishia diffluens*, *Naganishia liquefaciens* e *Starmerella davenportii*) apresentaram abundância relativa inferior a 1%.

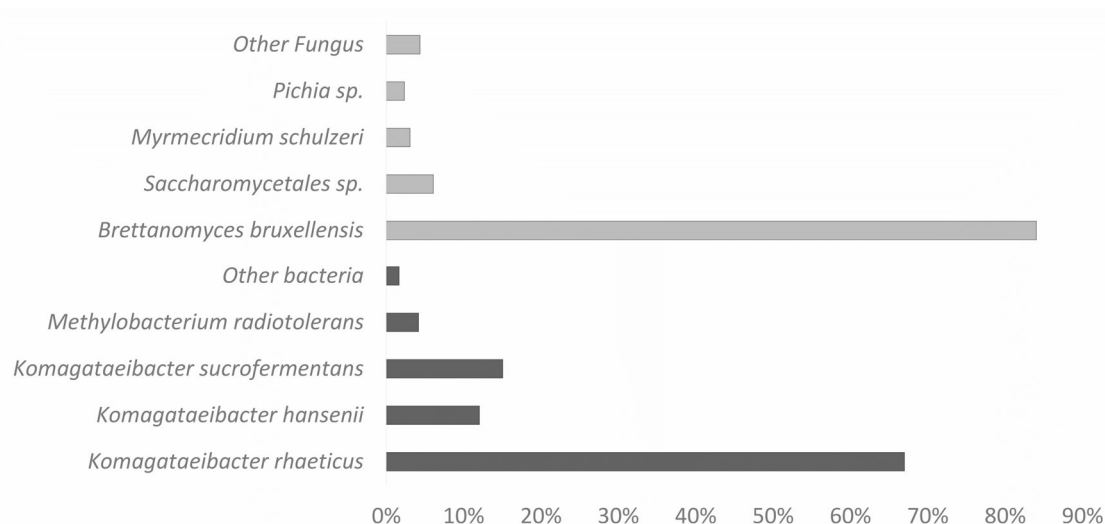


Figura 7. Abundância relativa de espécies de fungos (barras cinzas) e bactérias (barras pretas) identificadas na associação de microrganismos da kombucha utilizada no presente trabalho.

Komagataeibacter, *B. bruxellensis* e *Zygosaccharomyces parabailli* foram encontradas em estudos anteriores como o microbiano predominante em kombuchas de chás verde, preto e rooibos (Gaggia et al., 2018). A prevalência dos gêneros

Komagataeibacter e *Brettanomyces* na película de celulose está relacionada à sua afinidade pelo oxigênio (Harrison e Curtin, 2021).

Brettanomyces tem sido relatado como um gênero importante na associação de kombucha devido à sua capacidade de produzir ácido acético na presença de oxigênio (Aguilar et al., 2003; Agnolucci et al., 2017). Este gênero, por outro lado, está associado a impactos aromáticos em bebidas devido à síntese de compostos voláteis. Alguns desses produtos químicos voláteis não são agradáveis em algumas bebidas, como o vinho, e foram descritos como “cravo”, “cavalo” e “couro” (Pinto et al., 2020). Por esta razão, *Brettanomyces* é considerado um agente deteriorante em algumas bebidas fermentadas (Agnolucci et al., 2017). Para as bactérias, espécies do gênero *Komagataeibacter* são importantes para a geração da fase sólida (película celulósica do SCOBY) e a produção de ácidos orgânicos, essenciais ao perfil de sabor típico de kombucha (Villarreal-Soto et al., 2019; Fabricio et al., 2022).

Embora a população microbiana inicial influencie os perfis sensoriais e físico-químicos das kombuchas, estudar a evolução de leveduras e bactérias é importante, e este é um tema a ser avaliado em trabalhos futuros.

7.4.2 Parâmetros físico-químicos

Os resultados de pH, acidez, turbidez, ácido acético, etanol, glicerol, polifenólicos totais e taninos condensados da kombucha de chá verde ao longo de 14 dias de fermentação são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Evolução de pH, acidez titulável, turbidez, ácido acético, etanol, glicerol, polifenóis totais e taninos condensados durante a fermentação de kombucha durante 14 dias a 25 °C.

	T0	T4	T7	T10	T14
Ph	3,13±0,05 ^a	2,78±0,01 ^b	2,72±0,01 ^c	2,63±0,02 ^d	2,59±0,03 ^d
Acidez (mgEq /L)	40,1±8,6 ^d	126,7±2,2 ^c	200,4±22,1 ^b	258,5±31,8 ^a	384,0±25,9 ^a
Turbidez (NTU)	56,67±9,87 ^b	206,00±25,94 ^a	212,00±9,85 ^a	222,33±15,63 ^a	226,67±7,67 ^a
Ácido acético (g/L)	1,232±0,217 ^c	4,388±0,142 ^d	11,041±1,0815 ^a	15,832±0,347 ^b	7,610±0,430 ^c
Etanol (g/L)	0,604±0,070 ^c	4,040±0,222 ^b	5,383±0,655 ^a	5,134±0,267 ^a	5,222±0,295 ^a
Glicerol (g/L)	e	0,480±0,023 ^b	0,651±0,015 ^a	0,734±0,076 ^a	0,743±0,062 ^a
Polioenólicos (mg GAE/L)	391,811±5,621 ^b	402,747±2,50 ^b	417,721±2,02 ^a	421,086±8,541 ^a	377,174±6,357 ^c
Taninos condensados (mg EE/L)	0,881±0,077 ^b	1,061±0,071 ^a	1,118±0,023 ^a	1,126±0,012 ^a	1,123±0,067 ^a

nd: não detectado

^{abc,d,e} letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística entre colunas a 5% de significância pelo teste de Tukey.

O pH inicial (3,13±0,05) decaiu nos primeiros quatro dias para 2,78±0,01 (p <0,05) e depois diminuiu linearmente (p <0,05), atingindo 2,58±0,02 ao final de 14 dias de fermentação. A acidez inicial foi de 40,1±8,8 mEq/L e aumentou linearmente atingindo 384,0±25,8 mEq/L ao final dos experimentos. A acidez esteve dentro da regulamentação

brasileira para produção de kombucha até o 4º dia de fermentação ($126,7 \pm 2,2$ mEq/L) e depois ultrapassou o limite legal (130 mEq/L). O pH estabelecido pela legislação está entre 2,5-4,2 e as kombuchas obtidas neste trabalho estavam dentro dos limites legais até o 14º dia de fermentação (Brasil, 2019). Essa faixa de pH é importante porque as kombuchas com pH inferior a 2,5 apresentam alta concentração de ácidos orgânicos, representando risco à saúde do consumidor, enquanto as kombuchas com pH superior a 4,2 podem comprometer a segurança microbiológica da bebida (Cardoso et al., 2020; Oliveira et al., 2023). A redução do pH e o aumento da acidez estão relacionados à produção de ácidos orgânicos, como ácidos acético, D-glucorônico, lático, tartárico e cítrico durante a fermentação (Jayabalan et al., 2014; Neffé-Slocinska et al., 2017).

A turbidez, que pode estar relacionada ao crescimento microbiano na infusão de chá (Goh et al., 2012), aumentou rapidamente nos primeiros quatro dias de fermentação ($p < 0,05$) e permaneceu a mesma ao longo do tempo ($p > 0,05$). O gênero *Komagataeibacter*, predominante na cultura starter, é responsável pela produção de celulose, o que também pode influenciar na turbidez do produto.

A concentração de etanol aumentou até o 7º dia de cultivo ($p < 0,05$), atingindo 5,38 mg/mL, e manteve-se estável até o 14º dia ($p > 0,05$). No 4º dia de fermentação, a kombucha ultrapassou o limite não alcoólico de 0,5% ABV. O teor de ácido acético aumentou até o 10º dia de fermentação ($p < 0,05$) e decaiu no 14º dia ($p < 0,05$). Neffé-Skocinska et al. (2017) observaram padrão semelhante: a produção de etanol foi inferior a 0,5% até o 3º dia de fermentação e depois a concentração de álcool aumentou, atingindo aproximadamente 10 g/L no 10º dia. O etanol produzido pelas leveduras é oxidado em ácido acético pelas bactérias do ácido acético (Jayabalan et al., 2014). A levedura predominante no SCOBY utilizada no presente trabalho foi identificada como *B. bruxellensis*, que é uma levedura não - *Saccharomyces* caracterizada por produzir grandes

quantidades de ácido acético e etanol (Agnolucci et al., 2017). A produção de glicerol, cuja concentração está relacionada aos benefícios do sabor (Zhao et al., 2015), aumentou continuamente até o sétimo dia de fermentação ($p < 0,05$) e não se alterou até o final dos experimentos ($p > 0,05$). Em comparação com o vinho, a quantidade de glicerol produzida neste trabalho foi pequena e não afeta os atributos sensoriais (Nurgel e Pickering, 2005). Na kombucha, uma mistura de compostos de diversos grupos químicos diferentes, como ésteres, álcoois superiores e aldeídos, terá um impacto maior no sabor final e no perfil aromático do produto acabado (Pires et al., 2014; Laureys et al., 2020). Destaca-se aqui a adição de 10 mL/L de cultura *starter*, o que pode ter influenciado na composição, principalmente do T0, o que não seria esperado se observarem quantidades de etanol e ácido acético.

A concentração total de polifenólicos aumentou ($p < 0,05$) nas kombuchas até o sétimo dia de fermentação, depois permaneceu constante até o décimo dia ($p > 0,05$) e decaiu no décimo quarto dia ($p < 0,05$). Os taninos condensados melhoraram durante os primeiros quatro dias de cultivo ($p < 0,05$) e permaneceram constantes ao longo do tempo ($p > 0,05$). Değirmencioğlu et al. (2021), em kombuchas feitas de chá verde fermentado a 30 °C por 15 dias, observaram que a fração extraível de polifenólicos permaneceu constante até 3 dias e decaiu no quinto dia e permaneceu constante no período de 5 a 15 dias. Entretanto, a fração hidrolisável foi potencializada nos primeiros onze dias de fermentação e decaiu após esse período. Um padrão semelhante foi observado por Jakubczyk et al. (2020). O aumento no teor de polifenóis nas kombuchas é devido à biotransformação das moléculas por enzimas produzidas por micro-organismos no SCOBY, enquanto a redução pode estar relacionada à oxidação dos compostos causada pelos níveis de oxigênio e pela reação do pH (Jayabalan et al., 2014; Değirmencioğlu et al., 2021)

7.4.3 Compostos voláteis

Os resultados das alterações de compostos voláteis durante a fermentação da kombucha revelaram 50 compostos isolados e identificados e os resultados são apresentados na Tabela 7. Devido ao seu alto limiar de odor, os 5 alcanos detectados nas amostras foram removidos (2,6,10,15-tetrametil-heptadecano; 2,2,3,3-tetrametil-hexano; 2,6,10,15-tetrametil-heptadecano; 2-metil-5-propil-nonano; 2,6-dimetil-heptadecano). Na Tabela 2, é importante destacar que na produção da kombucha foram adicionados 10 mL/L de cultura *starter* e isso pode ter influenciado na composição do T0.

Tabela 7. Mudanças na quantidade de compostos voláteis no chá verde kombuchá durante a fermentação.

Composto	Exp LRI	LRI tit	Aroma	T0	T4	T7	T10	T14
Ácidos (µg/L)								
<u>ácido sobutírico</u>	1592	1563	rançoso, manteiga, queijo ₁	5,46±0,71 ^c	6,41±0,29 ^c	2,69±0,42 ^d	7,68±0,80 ^b	9,92±0,85 ^a
<u>Ácido isovalérico</u>	1688	1665	suor, ácido, rançoso ²	7,90±1,37 ^e	36,18±3,76 dias	65,86±7,47 ^c	90,93±7,20 ^b	123,91±19,83 ^a
<u>Ácido capróico</u>	1871	1829	Suor ^{1,3}	e	1,06±0,17 ^b	e	1,65±0,05 ^a	e
<u>Ácido Octanóico</u>	2082	2083	suor, queijo ^{1,3}	e	2,97±0,33 ^c	e	3,46±0,14 ^b	4,90±0,61 ^a
<u>ácido n-decanóico</u>	2291	2292	Rançoso ^{1,3}	e	1,59±0,26 ^b	e	1,65±0,10 ^b	2,38±0,17 ^a
Total				13h36	452,92	819,66	1194,15	1123,97
Álcool (µg/L)								
<u>2-Metil propanol</u>	1097	1099	vinho, solvente, amargo ¹	2,02±0,28 ^d	6,17±1,26 a.C.	8,61±0,50 ^a	6,57±0,33 ^b	5,07±0,29 ^c
<u>3-Metil-1-butanol</u>	1212	1205	whisky, malte, queimado ⁴	39,79±6,50 dias	74,28±9,00 a.C.	106,03±4,88 ^a	87,26±3,49 ^b	66,47±7,11 ^c

1-Hexanol	1362	1360	Resina, flor, verde ^{1,3}	1,26±0,05 ^b	1,10±0,19 ^b	0,05±0,01 ^c	1,69±0,34 ^a	e
1-Octen-3-ol	1460	1444	Flor de castanheiro, cogumelo ³	1,63±0,26	e	e	e	e
2-etil-1-hexanol	1496	1487	rosa, verde ⁵	9,90±0,35 ^c	15,25±1,55 _a	e	13,05±0,17 ^b	10,10±1,35 ^c
Linalol	1556	1537	flor, lavanda ^{1,6}	e	8,63±1,32 ^a	10,83±0,79 ^a	10,70±0,52 ^a	8,27±1,60 ^a
(Z)-2-Octen-1-ol	1622	não		0,31±0,04	e	e	e	e
1-Nonanol	1666	não	Verde ⁷	e	0,44±0,08 ^b	e	0,57±0,10 ^a	e
<u>Metionol</u>	1725	1723	doce, batata ¹	e	e	e	0,14±0,02	e
3,7-Dimetil-,(Z)-2,6-octadien-1-ol	1854	não		e	0,67±0,10 ^b	0,81±0,09 ^a	e	0,61±0,10 ^b
Total				71,21	122,84	142,63	136,28	107,57

Aldeídos (µg/L)

Hexanal	1082	1084	grama, sebo, gordura grama ^{1, 8}	0,82±0,04	e	e	e	e
---------	------	------	--------------------------------------------------	-----------	---	---	---	---

Octanal	1290	1280	gordura, sabão, limão, verde, limão, verde ⁸	0,27±0,04	e	e	e	e
(E)-2-Heptenal	1324	1331		1,22±0,12	e	e	e	e
Nonanal	1396	1400	gordo, cítrico, verde cítrico, verde ⁸	e	e	e	e	0,42±0,05
Total				14h30				0,42
Ésteres (µg/L)								
Acetato de Etila	892	907	Abacaxi ⁴	114,68± 8,22 ^e	392,16± 34,03 ^d	578,40±49,80 ^c	629,07±8,93 ^b	762,49±48,76 ^a
2-metil-propanoato de etila	966	968	Passo ⁹	e	e	e	e	0,82±0,10
Acetato de 2-metilpropila	1016	1015	fruta, maçã, banana ¹⁰	e	e	2,37±0,17 ^b	3,23±0,37 ^a	2,94±0,05 ^a
3-metil-butanoato de etila	1069	1060	Fruta ¹	e	e	e	0,52±0,06 ^a	0,55±0,07 ^a
Acetato de 3-metil-1-butanol	1125	1117	Banana ¹	e	6,26±0,20 ^c	14,53±2,08 ^b	20,64±1,51 ^a	20,45±1,46 ^a

<u>Octanoato de etila</u>	1442	1436	fruta, gordura ¹¹	e	1,84±0,27 ^a	1,76±0,08 ^a	1,79±0,17 ^a	0,33±0,03 ^b
Acetato de amônio	1473	não		248,40±14,18	e	e	e	e
Etilbenzenoacetato	1796	1793		e	e	e	2,33±0,31 ^b	4,91±0,90 ^a
Total				363,07	401,70	598,85	659,49	792,48
Cetonas (µg/L)								
1-Octen-3-um	1303	1313	cogumelo, metal ₁₂	0,72±0,07	e	e	e	e
6-Metil-5-hepten-2-ona	1343	1336	pimenta, cogumelo, borracha ¹³	1,07±0,06	e	e	e	e
Damascenona	1830	1829		0,51±0,08	e	e	e	e
6,10-dimetil-5,9-Undecadieno-2-ona	1863	1838		e	e	e	0,71±0,12 ^a	0,48±0,06 ^b
Desidro-β-ionona	1950	1945		e	e	e	e	0,45±0,08
Total				5,66	2,54	2,65	3,22	3,38
Outros (µg/L)								
Carvomentol	1644	1651		e	0,63±0,10 ^b	0,51±0,05 ^b	2,20±0,20 ^a	0,38±0,04 ^c

<u>α-terpineol</u>	1703	1688	óleo, anis, hortelã ^{1,3}	0,73±0,09 ^c	2,14±0,22 ^b	2,68±0,17 ^b	e	4,32±0,85 ^a
Neodihidrocarveol	1733	1732		e	0,24±0,03	0,24±0,02	0,24±0,00	e
<u>(+)-carvona</u>	1741	1639	Cominho ⁶	0,57±0,05	e	e	e	e
1-metileno-1H-Indeno	1748	1763		e	1,14±0,16 ^c	1,44±0,13 ^{ab}	1,36±0,20 ^{aC}	1,72±0,20 ^a
<u>4-etil-guaiacol</u>	2044	2031	especiarias, cravo ⁵	e	0,91±0,09 ^a	0,97±0,15 ^a	1,01±0,12 ^a	1,01±0,19 ^a
<u>p-hidroetilbenzeno</u>	2188	2195	fenol, tempero ⁵	e	1,37±0,18 ^b	1,58±0,29 ^b	1,97±0,29 ^a	2,08±0,21 ^a
3,5-bis(1,1-dimetiletil)- Fenol	2317	2310		e	0,41±0,03 ^b	0,57±0,05 ^a	e	e
Total				13h30	6,85	7,98	6,78	9,52

*Os valores fornecidos são áreas médias seguindo desvios padrão de triplicados; ^{abc,d,e} letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística entre colunas a 5% de significância pelo teste de Tukey.

LRI_{exp}: índices de retenção linear calculados

LRI_{lit}: índices de retenção linear na literatura

ni: não identificado com base na coluna utilizada

nd: não detectado

¹Rychlik et al., 1998; ²Ong e Acree (1999); ³Adedeji et al. (1991); ⁴Chung et al. (1994); ⁵Lee e Noble (2003); ⁶Blank et al. (1991); ⁷Jirovetz et al. (2002); ⁸Bravo et al. (1992); ⁹Siegmund, Derler e outros. (2001); ¹⁰Fuhrmann e Grosch (2002); ¹¹Cunningham et al. (1986); ¹²López et al. (2003); ¹³Jordan et al. (2002)

Os resultados mostraram grande efeito na composição do composto ativo do aroma devido à fermentação SCOBY. No início do processo, 3 ácidos, 6 álcoois, 3 aldeídos, 2 ésteres, 4 cetonas e 2 outros compostos estavam presentes na amostra, enquanto durante a fermentação, novos 4 ácidos, 4 álcoois, 1 aldeído, 8 ésteres, 2 cetonas e 6 outros compostos foram formados. Além disso, a quantidade total de ácidos, álcoois, ésteres e outros compostos aumentou devido ao crescimento da associação de microorganismos. Salles et al. (2023) observaram na kombucha de chá preto o aumento de 22 compostos voláteis após 9 dias de fermentação, sendo principalmente ácidos, álcoois superiores e ésteres, que foram creditados ao metabolismo SCOBY e Tran et al. (2022) identificaram 32 compostos na kombucha de chá preto e no chá verde fermentados por 12 dias.

Os ácidos voláteis são compostos aromáticos importantes em bebidas fermentadas, pois contribuem para sabores estranhos, uma vez que podem apresentar notas rançosas, suadas e de queijo (Adedeji et al., 1991; Rychlik et al., 1998). Os resultados da kombucha de chá verde contribuem para esses fenômenos, uma vez que os ácidos isobutírico, isovalérico, capróico, octanóico e n-decanóico são formados ou aumentados durante o tempo de fermentação. Os ácidos capróico e isovalérico foram identificados na kombucha de chá preto e foram relacionados à fermentação do SCOBY, enquanto o ácido n-decanóico foi apresentado desde o tempo zero da fermentação até 9 dias (Sales et al., 2023). O ácido isobutírico não estava presente na kombucha de chá preto e foi formado na bebida. O ácido octanóico foi identificado na kombucha de chá verde após 11 dias de fermentação (Savary et al., 2021). O ácido acético também foi detectado pelo HS-SPME e a evolução de sua formação foi semelhante ao comportamento discutido anteriormente (Figura 3). Em pouco tempo, a parte volátil do ácido acético não foi observada na bebida inicial e sua quantidade aumentou até o 10º dia de fermentação e

permaneceu estável do 10º ao 14º dia. A maioria dos ácidos é formada durante a fermentação microbiana dos carboidratos e, portanto, são apresentados em quantidades elevadas, embora os ácidos carboxílicos de cadeia linear também possam ser derivados da hidrólise lipídica (Wang et al., 2022), enquanto os ácidos de cadeia ramificada são originados principalmente a partir de seus respectivos aldeídos derivados de aminoácidos (Ramírez e Cava, 2007). Entre os ácidos voláteis aqui identificados, o limiar de odor varia de 200,00 µg/L e 1900 µg/L (Moreno et al., 2005; Pino e Quijano, 2012), que é muito superior aos valores encontrados na kombucha, indicando que individualmente apresentam pouco efeito no aroma da bebida.

Álcoois voláteis, que são produzidos principalmente durante a fermentação, e podem ser formados pelo metabolismo de leveduras e bactérias por descarboxilação de cetoácidos e são intermediários de alterações bioquímicas de leucina, isoleucina, valina e treonina (Hazelwood et al., 2008) e formado devido a metabólitos de oxidação lipídica e precursores glicosilados (Narváez-Rivas et al., 2012). Entre os álcoois observados na kombucha, apenas o 1-octen-3-ol apresentou-se em quantidade superior ao limite de odor indicado na literatura (1 µg/L; Juan et al., 2012). Os resultados da Tabela 2 mostram a formação de compostos com odor de vinho/solvente (2-metil-propanol) (Rychlik et al., 1998), uísque/malte (3-metil-1-butanol) (Chung et al., 1994) , odores de flor/rosa/verde/lavanda (1-hexanol, 2- etil-1-hexanol, linalol e 1-nonanol) (Blank et al., 1991 ; Rychlik et al., 1998; Adedeji et al., 1991; Lee e Noble, 2003); contribuindo para o bouquet da bebida, como observado nos vinhos. O linalol foi formado durante a fermentação em quantidades na faixa de 8,27 µg/L e 10,83 µg/L, que é superior ao seu limite (6 µg/L (Moreno et al., 2005)). Foi identificado na kombucha de chá preto desde o início da fermentação até 9 dias (Sales et al., 2023). Tran et al. (2022) observaram que a formação de nonanol estava relacionada à presença de *Hanseniaspora valbyensis*, mas

não de *B. bruxellensis*. *H. valbyensis* não foi observada no SCOBY utilizado no presente estudo, mas houve grande presença de *B. bruxellensis* (Figura 7). As quantidades de 2-Metil-propanol e 3-metil-1-butanol aumentaram até o sétimo dia de fermentação ($p < 0,05$) e decaíram após este período ($p < 0,05$). Isto contrasta com os resultados de Sales et al. (2023) que observaram em kombucha de chá preto que o 3-metil-1-butanol se formou após 6 dias de fermentação e permaneceu no 9º dia. O 1-hexanol e o 1-nonanol apresentaram maiores concentrações nas kombuchas no décimo dia de fermentação, enquanto o 2-etil-1-hexanol e o linalol foram maiores no quarto dia. Hexanal e nonanol foram observados anteriormente em kombucha de chás verde e preto e foram relacionados à presença de *H. valbyensis*, mas não de *B. bruxellensis* (Tran et al., 2022). Octen-3-ol foi observado apenas na amostra inicial, mas Tran et al. (2022) observaram no 7º dia de fermentação e relacionaram a formação ao metabolismo tanto de *Hanseniaspora valbyensis*, quanto de *Hanseniaspora valbyensis*. *B. bruxelensis*. 2-Metilpropanol e 1-hexanol, que apresenta aromas de vinho/solvente/amargo e aromas de resina/flor/verde, respectivamente, não foram identificados na kombucha.

Os aldeídos são compostos com sabor ativo e geralmente são considerados sabores estranhos em bebidas fermentadas como cerveja (De Francesco et al., 2015), uma vez que apresentam aromas de grama, sebo e gordura (Bravo et al., 1992; Rychlik et al., 1998). Na kombucha de chá verde, aldeídos (hexanal, octanal, (E)-2-heptenal e nonanal) foram detectados no início da fermentação e depois degradados nos primeiros dias de fermentação. Apresentam limiar de odor de 4,5 µg/L, 640 µg/L, 13 µg/L e 1 µg/L, respectivamente (Moreno et al., Juan et al., 2012; Pino e Quijano, 2012), que é superior à quantidade aqui observada. Tu et al. (2019) observaram aumento na concentração da maioria dos aldeídos (nonanal, cis, cis-7,10-hexadecadienal e undecanal), exceto 2,4-dimetil-benzaldeído, durante a fermentação do soro de soja, indicando que a complexa

rede de reações do aroma depende da cultura *starter* e da matéria-prima utilizada para a fermentação. Além disso, isso contrasta com os resultados de Sales et al. (2023) em kombucha de chá preto que identificaram nonanal e octanal durante todos os 9 dias de fermentação, indicando a alta complexidade da produção do aroma da kombucha.

Os ésteres são indicadores críticos de qualidade porque são produtos químicos fundamentais para compor as notas frutadas e florais do produto final. Sua formação está intimamente relacionada ao metabolismo de ácidos graxos e aminoácidos pelo metabolismo intracelular das células de levedura em fermentação e devido às características apolares dos ésteres etílicos eles podem se difundir através da membrana celular para o meio de fermentação (Saerens et al., 2008). Os resultados nas amostras de kombucha mostraram que a quantidade de acetato de etila, que apresenta odor de abacaxi (Chung et al., 1993), aumentou significativamente ($p < 0,05$) desde o início (T0) até o final do tempo de fermentação (T14). 2-metilpropanoato de etila (odor de frutas), acetato de 2-metil-propila (odores de maçã/banana), 3-metilbutanoato de etila e octanoato de etila (odor frutado) e acetato de 3-metil 1-butanol (odor de banana) não foram apresentados na amostra inicial (T0) e foram formados durante a fermentação (Siegmond e Derler, 2001; Fuhrmann e Grosch, 2002). Entre os ésteres identificados no presente trabalho, a literatura indica que o acetato de etila apresenta limiar de odor de 7.500 $\mu\text{g/L}$, octanoato de etila de 2 $\mu\text{g/L}$ e 2-metilpropanoato de etila de 15 $\mu\text{g/L}$ (Juan et al., 2012; Pino e Quijano, 2012), valores superiores aos aqui observados. No análogo da kombucha produzido a partir do soro de soja, Tu et al. (2019) observaram um aumento nos ésteres individuais devido à fermentação. O acetato de etila foi previamente identificado em kombuchas de chá preto e chá pu-erh (Sales et al., 2023; Yao et al., 20223), enquanto o octanoato de etila em kombucha de chá preto e verde (Tran et al., 2022; Sales et al. 2023). Por outro lado, 2-metil-propanoato de etila, acetato de 2-metil-propila, 3-metil-butanoato de etila, acetato

de 3-metil-1-butanol, que apresentam aroma de fruta/banana, não foram identificados na kombucha.

As cetonas podem ser produzidas pelo metabolismo microbiano de carboidratos ou pela oxidação de ácidos graxos livres (Pastorello et al., 2003; Petričević et al., 2018). Cetonas e aldeídos podem contribuir para atributos negativos em bebidas fermentadas, uma vez que apresentam odor de erva, manteiga, resina, pimenta, cogumelo, borracha e/ou metal (Jirovetz et al., 2002). Os resultados das amostras de kombucha mostraram que a 3-octanona (sabores de erva, manteiga, resina) reduziu ($p < 0,05$) durante a fermentação, enquanto a 1-octen-3-ona (aroma de cogumelo/metal) e 6-metil-5-hepten-2-um (odor pimenta/cogumelo/borracha) foram totalmente consumidos antes do quarto dia de fermentação. 1-octen-3-ona apresenta limiar de odor de $4 \mu\text{g/L}$ (Peinado et al., 2004) e não foi identificado em outros estudos com kombucha.

Entre outros compostos, a quantidade de α -terpineol, um composto de odor ativo com óleo, erva-doce, hortelã (Adedeji et al., 1991; Rychlik et al., 1998) aumentou ($p < 0,05$) até o décimo quarto dia de fermentação ($p < 0,05$); A (+)-carvona, que apresenta odor de cominho, esteve presente apenas na amostra T0; O 4-etil-guaiacol, que apresenta aroma de especiarias/cravo e limiar de odor de $33 \mu\text{g/L}$ (Moreno et al., 2005), formou-se nos primeiros quatro dias do metabolismo SCOBY e permaneceu constante ($p > 0,05$) até o final dos experimentos, embora Sales et al. (2023) observaram o composto desde o início da fermentação de kombucha de chá preto; e o p-hidroetilbenzeno (aroma de fenol/especiaria) foi formado nos primeiros quatro dias, atingindo a produção máxima no décimo dia de fermentação ($p < 0,05$) e permanecendo constante ($p > 0,05$) até o 14º dia de fermentação. *B. bruxellensis* é conhecido por estragar os produtos vinícolas, devido aos sabores indesejáveis que produzem, principalmente cravo, notas

fenólicas/medicinais, terrosas, de curral ou de cavalo (Wedral et al., 2010), o que está em linha com compostos voláteis identificados nas kombuchas no presente trabalho.

Para explorar profundamente os resultados dos compostos voláteis, foi realizada uma análise de PCA, cujo resultado é apresentado na Figura 8. A redução da dimensão explicou 75,96% da variância (F1, 54,31%; F2, 21,86%), indicando boa adequação da técnica multivariada.

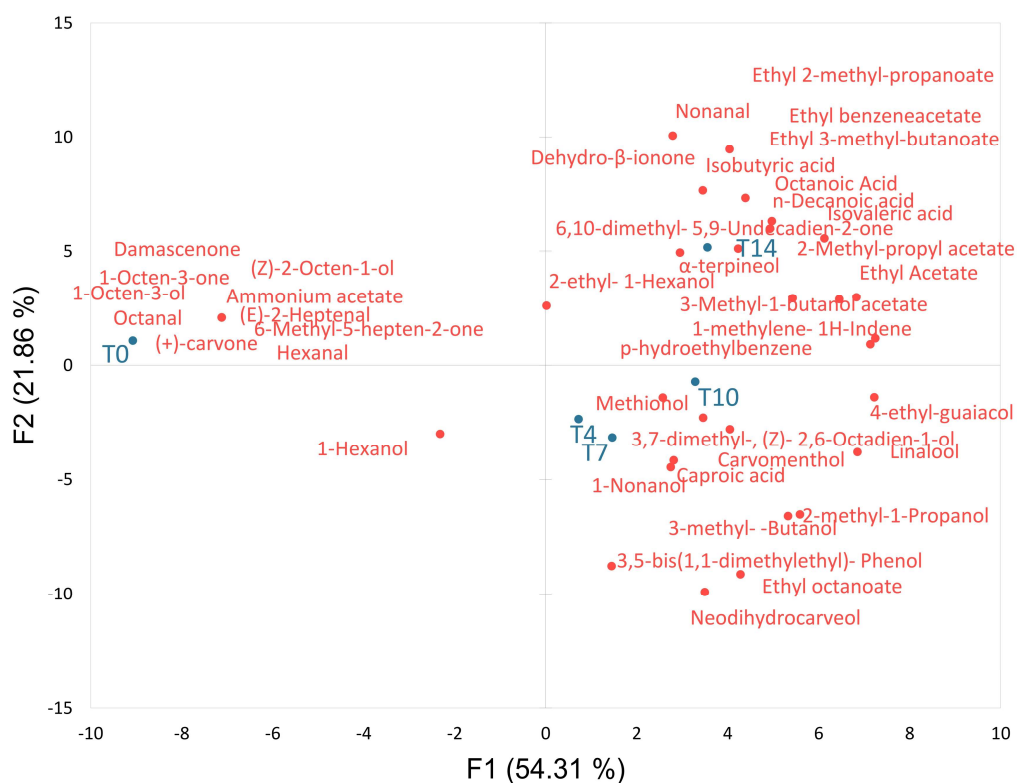


Figura 8. Análise PCA de compostos voláteis e kombuchas aos 0 (T0), 4 (T4), 7(T7), 10 (T10) e 14 dias (T14) de fermentação a 25°C.

PCA apresentou alto impacto da fermentação na infusão de chá verde: amostra não fermentada foi colocada no lado negativo de F1, enquanto T4, T7, T10 e T14 no lado positivo, indicando perfil oposto da infusão e das amostras fermentadas. A amostra T0 foi relacionada a 1-octen-3-ona, 1-octen-3-ol, octanal, hexanal, (+) -carvona , que

apresentam aromas de ervas, ervas e cogumelos. A kombucha de chá verde fermentada por 4, 7 e 10 dias a 25 °C apresentou perfil de compostos voláteis semelhante, relacionado principalmente à presença principalmente de álcoois superiores (metionol, linanool, 3-metil-butanol, 2-metil-propanol, 1-nonanol), mas também ácido capróico e 4-etil-guaiacol, levando a aromas de lavanda, verde/grama, doce/batata, suor. Kombucha de chá verde fermentado por 14 dias esteve relacionado aos demais compostos identificados (Tabela 7) principalmente aos ácidos voláteis, ésteres e aldeídos.

7.4.4 Análise sensorial

Juntamente com a análise instrumental, os atributos percebidos e a aceitação dos consumidores são dados importantes para compreender melhor como os processos impactam as características dos alimentos. A análise sensorial de ambas as amostras dentro dos limites legais brasileiros (T0 e T4) foi realizada por 60 voluntários, cujo perfil é apresentado na Tabela Suplementar S1. Para amostras com características diferentes, 60 indivíduos são amostrais suficientes para discriminar amostras pela metodologia CATA (Ares et al., 2014). A maioria dos acessadores eram homens (55,00%, n=33); ter concluído o ensino médio ou superior (65,00%, n=39 e 23,33%, n=14, respectivamente); apresentaram idade entre 21 e 40 anos (63,33%, n=38) e renda mensal entre 1 e 3 salários-mínimos (65,00%, n=39); a maioria dos indivíduos não consumia kombucha com frequência (58,33%, n=35, bebem menos de uma ou duas vezes por ano).

As diferenças estatísticas para os atributos entre as duas amostras são mostradas na Tabela 8.

Tabela 8. Tabela de contingência de atributos da kombucha não fermentada (T0) e fermentada por 4 dias (T4) avaliada pelo método CATA.

Produtos\Dimensões		T0	T4	valor p
Aceitação †		5,95±2,15 ^a	5,43± 2,51 ^a	0,068
Aparência	Turbidez	4b -	17a -	0,002
	Cor amarela	26a -	21h -	0,297
	Cor verde	12h -	1b -	0,001
	Cor brilhante	39a -	31a -	0,144
	Gaseificado	3b -	11h -	0,033
Aroma	Vinagre	4b -	27a -	<0,0001
	Frutas cítricas	10b -	23a -	0,007
	Ácido	1b -	15h -	0,000
	Aroma suave	35 ^a	12b -	0,000
	Fermentado	11h -	16a -	0,251
	Gramma	10h -	1b -	0,007
	Chá verde	18h -	5b -	0,002
	Alcoólico	0b -	7a -	0,008
Textura	Consistente	40 ^a	6b -	<0,0001
Sabor	Doce	23a -	2 ^{uma}	<0,0001
	Azedo	6b -	27a -	<0,0001
	Ácido	16a -	13a -	0,549
	Amargo	1b -	27a -	<0,0001
	Vinagre	11b -	29a -	0,001
	Suave	17a -	4b -	0,002
	Chá verde	4b -	15h -	0,008
	Fermentado	2 ^{uma}	3a -	0,564

Alcoólico	0b -	10h -	0,002
-----------	------	-------	-------

^{a,b} Letras sobrescritas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre kombuchas pelo teste *Q de Cochran*.

[†] análise estatística realizada por ANOVA e teste de Fisher.

Os resultados do teste de aceitação não mostraram diferenças entre as amostras ($p > 0,05$), o que contrasta com os achados de Ivanišová et al. (2019). Porém, no presente trabalho foi avaliado kombucha de chá verde, enquanto Ivanišová et al. (2019) utilizaram chá preto como infusão e compararam bebidas fermentadas com bebidas não fermentadas adoçadas. Salles et al. (2023) observaram que a fermentação de 3 a 9 dias do café brasileiro cascara não influenciou significativamente a preferência dos consumidores.

A frequência de verificação dos atributos de aparência turva e gaseificada aumentou ($p < 0,05$) na amostra fermentada. Os atributos de aroma e sabor de vinagre, frutas cítricas, ácido, alcoólico, azedo, amargo, vinagre, chá verde e alcoólico também aumentaram nesta amostra. Os resultados obtidos nas análises instrumentais para turbidez, ácido acético e etanol estão de acordo com os resultados dos testes sensoriais para turbidez e aromas de vinagre e alcoólico (Tabela 6).

O aumento do aroma de frutas cítricas na kombucha fermentada pode estar relacionado à presença de acetato de etila, acetato de 3-metil-1-butanol e octanoato de etila (Tabela 7), que apresentam aromas de abacaxi, banana e frutas, respectivamente. O aumento do aroma ácido na kombucha fermentada também acompanhou os resultados de ácidos voláteis totais na metodologia de microextração em fase sólida headspace (Tabela 7). Os resultados dos compostos voláteis (Tabela 7) mostraram que apenas o 1-octen-3-ol, com aromas de castanha/flor/cogumelo e o linalol com aromas de flor/lavanda, estavam em maior quantidade na kombucha do que o limiar de odor indicado na literatura. Porém, a análise sensorial (Tabela 8) mostrou que os consumidores perceberam aromas

de vinagre, ácidos e alcoólicos principalmente no T4; aromas de frutas cítricas e fermentados em ambas as amostras e aromas de grama e chá verde em T0, indicando que individualmente os compostos voláteis apresentam pouco efeito no aroma da bebida, e sua combinação compõe o perfil aromático da bebida.

A maior citação de acidez e amargor nas amostras T4 pode estar relacionada ao maior teor de álcool e ácido acético (Tabela 6), mas também devido às maiores quantidades de polifenólicos totais e taninos condensados (Tabela 6) (Ma et al., 2014; Soares e outros, 2017). Neffe-Skocinska et al. (2017), em kombuchas de chá verde-preto, observaram que as bebidas fermentadas destacavam o cheiro de limão e azedo, enquanto o cheiro de fermento era pouco detectável, o que está de acordo com os resultados do presente trabalho.

A amostra não fermentada apresentou maior citação ($p < 0,05$) em cor verde e brilhante (atributos de aparência), suave, aromas de chá verde e grama (atributos de aroma), doçura e sabores suaves. A kombucha não fermentada também foi considerada mais consistente ($p < 0,05$). A redução da doçura na amostra fermentada era esperada à medida que o açúcar adicionado é consumido durante a fermentação do kombucha. A maior citação de aroma de grama no T0 pode estar relacionada à redução de compostos aldeídos que apresentam odores de grama e verde durante a fermentação, como hexanal e octanal (Tabela 7) e também à presença de 1-octen-3-ona, 1 -octen-3-ol, (+)-carvona como mostrado na Figura 8.

Essas características podem explicar o escore de aceitação das amostras T0, uma vez que Dartora et al. (2023) observaram que doçura e sabores suaves são impulsionadores do gosto pelas kombuchas. Por outro lado, Salles et al. (2023) observaram que menor acidez e compostos voláteis com notas doces, florais e frutadas

no café cascara implicaram no destaque da percepção do açúcar e conseqüentemente na aceitação dos consumidores, o que pode explicar os resultados das pontuações de gosto para T4 no presente trabalho.

7.5 CONCLUSÕES

Conclui-se que a fermentação do chá verde pela cultura da kombucha a 25 °C altera rapidamente as características da infusão. Acidez, turbidez, quantidades de ácido acético, etanol e polifenóis aumentaram devido à fermentação, mas ao longo de 4 dias a bebida ficou fora dos padrões legais de consumo e conseqüentemente de segurança.

A fermentação resultou em um produto com alta diversidade de ácidos voláteis, álcoois, ésteres e cetonas, enquanto os compostos aldeídos foram degradados. A fermentação durante 4 dias não teve impacto na aceitação, mas teve grande impacto no perfil sensorial percebido. A infusão de chá verde apresentou aromas de ervas, e cogumelos, o que estava de acordo com o perfil de compostos voláteis e tarefas CATA, enquanto a fermentação por 4, 7 e 10 dias produziu uma bebida relacionada principalmente a álcoois superiores, o que foi observado pelos consumidores na análise sensorial.

Como limitações, o presente trabalho avaliou uma temperatura de fermentação, sendo normalmente estudadas outras faixas. Porém, nas condições propostas (temperatura, consórcio SCOBY e quantidade de açúcar adicionado no início da fermentação), os resultados sustentam que o bioprocessamento deve ser controlado criticamente em escala industrial e em nível caseiro, caso contrário a kombucha pode apresentar parâmetros inseguros para consumo. Além disso, a análise sensorial foi realizada principalmente com consumidores não habituados a kombucha. Este resultado traz informações importantes para futuros lançamentos no mercado, mas pode sofrer

alterações em estudos longitudinais. No entanto, a incapacidade não poderia negar o valor intrínseco deste trabalho e a importância desta bebida funcional da moda nos países ocidentais. Assim, futuros trabalhos deverão explorar gamas mais amplas de parâmetros de processo, a fim de compreender a produção de kombucha e seu impacto nas características da bebida.

Declaração de interesse concorrente

Os autores declaram que não têm interesses financeiros concorrentes ou relações pessoais conhecidas que possam ter influenciado o trabalho relatado neste artigo.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS, RS, Brasil) pelo apoio financeiro e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil) pela bolsa de estudos concedida ao primeiro autor (Processo número 21 /2551-0000531-9).

Aprovação ética

O procedimento experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade do Estado do Rio Grande do Sul (certificado de aprovação número 67630423.8.0000.8091).

Disponibilidade de dados

Os dados experimentais obtidos no presente estudo estão disponíveis no autor correspondente mediante solicitação razoável.

Declaração de inteligência artificial generativa na redação científica

Os autores declaram que não utilizaram nenhum tipo de IA ou tecnologia assistida por IA no processo de escrita.

Referências

- Adedeji, J., Hartman, TG, Rosen, RT, Ho, CT (1991). Compostos aromáticos livres e glicosidicamente ligados em ameixa suína (*Spondias mombins* L.). *Jo urnal de Química Agrícola e Alimentar*, 39(8), 1494-1497. Faça: 10.1021/jf00008a025
- Aguilar Uscanga, MG, Délia, ML, Strehaiano, P. (2003). Brettanomyces bruxellensis: efeito do oxigênio no crescimento e na produção de ácido acético. *Microbiologia Aplicada e Biotecnologia*, 61(2), 157–162. faça: 10.1007/s00253-002-1197-z
- Agnolucci, M., Tirelli, A., Cocolin, L., & Toffanin, A. (2017). Leveduras *Brettanomyces bruxellensis*: impacto no vinho e na vinificação. *Jornal Mundial de Microbiologia e Biotecnologia*, 33(10), 180. doi:10.1007/s11274-017-2345-z
- Ares, G., Tárrega, A., Izquierdo, L., Jaeger, SR (2014). Investigação do número de consumidores necessários para obter configurações estáveis de amostras e descritores a partir de perguntas check-all-that-apply (CATA). *Qualidade e Preferência Alimentar*, 31, 135-141. Doi: 10.1016/j.foodqual.2013.08.012
- Bernardi, G., Vendruscolo, RG, dos Santos Ferrão, T., Barin, JS, Cichoski, AJ, Wagner, R. (2014). Vinho de Geléia de Palmeira (*Butia odorata*): Caracterização de Compostos Voláteis Responsáveis pelo Aroma. *Métodos Analíticos de Alimentos*, 7(10), 1982–1991. doi:10.1007/s12161-014-9835-5
- Blank, I. e Grosch, W. (1991). "Avaliação de odorantes potentes em sementes de endro e erva de endro (*Anethum graveolens* L.) por análise de diluição de extração de aroma". *Jornal de Ciência Alimentar*, 56, 63–67. Doi: 10.1111/j.1365-2621.1991.tb07976.x
- Bortolomedi BM, Paglarini CS e Brod FCA (2022) Compostos bioativos no kombucha: uma revisão do efeito do substrato e das condições de fermentação. *Química Alimentar*, 385, 132719. Doi: 10.1016/j.foodchem.2022.132719
- Bravo, A., Hotchkiss, JH, Acree, TE (1992). Identificação de compostos odoríferos resultantes da oxidação térmica do polietileno. *Jornal de Química Agrícola e Alimentar*, 40, 1881-1885. Doi: 10.1021/jf00022a031
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2019). Instrução Normativa nº 41, de 17 de setembro de 2019. <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-41-de-17-de-setembro-de-2019-216803534> acessado em 10 de dezembro de 2022
- Cemin, P., Ribeiro, SR, Oliveira, FC, Leães, FL, Nunes, MRS, Wagner, R., Sant'Anna, V. (2022). Chocolates com cacau brasileiro: Rastreamento compostos voláteis de acordo com a preferência do consumidor. *Food Research International*, 159, 111618. Doi: 10.1016/j.foodres.2022.111618

Cardoso, RR, Neto, RO, dos Santos D'Almeida, CT, do Nascimento, TP, Pressete, CG, Azevedo, L., Martino, HSD, Cameron, LC, Ferreira, MSL, & Barros, FAR (2020). As kombuchas dos chás verde e preto possuem perfis fenólicos diferentes, o que impacta suas capacidades antioxidantes, atividades antibacterianas e antiproliferativas. *Food Research International*, 128, 108782. doi:10.1016/j.foodres.2019.108782

Chong, AQ, Lau, SW, Chin, NL, Talib, RA e Basha RK (2023). Benefícios de bebidas fermentadas: uma revisão abrangente e comparação do microbioma kombucha e Kefir. *Microorganismos*, 11(5), 1344. DOI: 10.3390/microorganismos11051344.

Chung, TY, Eiserich, JP, Shibamoto, T. (1993). "Compostos voláteis isolados de chamchwi coreano comestível (*Aster scaber* Thunb)" . *Jornal de Química Agrícola e Alimentar*, 41(10), 1693-1697. Doi: 10.1021/jf00034a033

Cunnigham, DG, Acree, TE, Barnard, J., Butts, RM, Braell, PA (1986). Análise de charme de voláteis de maçã. *Química Alimentar*, 19 (2), 137-147. Telefone: 10.1016/0308-8146(86)90107-X

Dartora, B., Crepalde, LT, Hickert, LR, Fabricio, MF, Ayub, MAZ, Veras, FF, Brandelli, A., Perez, KJ, Sant'Anna, V. (2023). Kombuchas de chá preto, chá verde e decocções de erva-mate: mapa sensorial percebido, emoções e parâmetros físico-químicos. *Revista Internacional de Gastronomia e Ciência Alimentar*, 33, 100789. Doi: 10.1016/j.ijgfs.2023.100789

De Francesco, G., Turchetti, B., Sileoni, V., Marconi, O., & Perretti, G. (2015). Triagem de novas cepas de *Saccharomyces ludwigii* e *Zygosaccharomyces rouxi* para produzir cerveja com baixo teor alcoólico. *Jornal do Instituto de Cerveja*, 121(1), 113–121. doi:10.1002/jib.185

Değirmencioğlu, N., Yıldız, E., Sahan, Y., Güldas, M., & Gürbüz, O. (2021). Impacto dos tipos de folhas de chá nas propriedades antioxidantes e na bioacessibilidade do kombuchá. *Jornal de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 58, 2304-2312. doi: 10.1007/s13197-020-04741-7

Fabricio, MF, Mann, MB, Kothe, CI, Frazzon, J., Tischer, B., Flôres, SH, Ayub, MAZ (2022). Efeito da cultura liofilizada de kombuchá na composição microbiana e avaliação da dinâmica metabólica durante a fermentação. *Microbiologia de Alimentos*, 101, 103889. doi: 10.1016/j.fm.2021.103889

Fuhrmann, E., W. Grosch (2002). Odores de impacto de caráter das cultivares de maçã Elstar e Cox Orange. *Nahrung*, 46(3), 187-193. Doi: 10.1002/1521-3803(20020501)46:3<187:AID-FOOD187>3.0.CO;2-5

Gaggia F., Baffoni L., Galiano M., Nielsen DS, Jakobsen RR, Castro-Mejía JL, Bosi S., Truzzi F., Musumeci F., Dinelli G., Di Gioia, G. (2018). Bebida kombucha de chás verde, preto e rooibos: um estudo comparativo analisando microbiologia, química e atividade antioxidante. *Nutrientes*, 11, 1. doi: 10.3390/nu11010001

Goh, WN, Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim, AA e Bhat, R. (2012). Fermentação do caldo de chá preto (kombuchá): I. efeito da concentração de sacarose e do tempo de fermentação no rendimento de celulose microbiana. *Revista Internacional de Pesquisa Alimentar*, 19(1), 109-117. [http://www.ifrj.upm.edu.my/19%20\(01\)%202011/\(15\)IFRJ-2011-105%20Rajeev.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/19%20(01)%202011/(15)IFRJ-2011-105%20Rajeev.pdf) Acessado em 31^{de março} de 2023.

Harrison, K., & Curtin, C. (2021), Composição microbiana de culturas iniciais SCOBY usadas por fabricantes comerciais de kombucha na América do Norte. *Microorganismos*, 9, 1060. Doi: 10.3390/microorganismos9051060

Hazelwood, LA, Daran, J.-M., van Maris, AJA, Pronk, JT e Dickinson, JR (2008) A via de Ehrlich para a produção de álcool fusel: um século de pesquisa sobre o metabolismo de *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiologia Aplicada e Ambiental*, 74, 2259–2266. doi: 10.1128/AEM.02625-07

Ivanišová, E., Meňhartová, K., Terentjeva, M., Harangozo, L., Kántor, A., & Kačániová, M. (2019). Avaliação das propriedades químicas, antioxidantes, antimicrobianas e sensoriais da bebida de chá de kombuchá. *Jornal de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 57, 1840–1846. doi: 10.1007/s13197-019-04217-3

Jakubczyk, K., Kałduńska, J., Kochman, J. e Janda, K. (2020). Perfil químico e atividade antioxidante da bebida kombuchá derivada de chá branco, verde, preto e vermelho. *Antioxidantes*, 9, 447. doi: 10.3390/antiox9050447

Jang, SS, McIntyre, L., Chan, M., Brown, PN, Finley, J., & Chen, SX (2021). Concentração de etanol em chás de Kombuchá na Colúmbia Britânica, Canadá. *Jornal de Proteção Alimentar*, 84(11), 1878-1883. Doi: 10.4315/JFP-21-130

Jayabalan, R., Malbasa, RV, Loncar, ES, Vitas, JS e Sathishkumar, M. (2014). Uma revisão sobre o chá de kombuchá – Microbiologia, composição, fermentação, efeitos benéficos, toxicidade e fungos do chá. *Revisões Abrangentes em Ciência Alimentar e Segurança Alimentar*, 13, 538–550. 10.1111/1541-4337.12073

Jirovetz, L., Smith, D., Buchbauer, G. (2002). Análise de compostos de aroma de amostras de folhas de *Eruca sativa* (Brassicaceae) *SPME Headspace usando GC, GC-MS e olfatometria*. *Jornal de Química Agrícola e Alimentar*, 50(16), 4643-4646. Faça: 10.1021/jf020129n

Jordan, MJ, Margaria, CA, Shaw, PE, Goodner, K. (2002). Componentes Ativos Aroma em Essência Aquosa de Kiwi e Purê de Kiwi por GC-MS e GC/GC-O Multidimensional. *Jornal de Química Agrícola e Alimentar*, 50(19), 5386-5390. Doi: 10.1021/jf020297f

Juan, SF, Cacho, J., Ferreira, V., & Escudero, A. (2012). Composição química aromática de vinhos tintos de diferentes categorias de preço e sua relação com a qualidade. *Jornal de Química Agrícola e Alimentar*, 60, 5045–5056. Doi: 10.1021/jf2050685

- Laureys, D., Britton SJ, De Clippeleer J. (2020). Fermentação do cháKombuchá:umarevisão. *Jornal da Sociedade Americana de Químicos Cervejeiros*, 78(3), 165-174. doi: 10.1080/03610470.2020.1734150
- Lee, SJ., Nobre, AC (2003). Caracterização de compostos odorativos em vinhos Chardonnay californianos usando GC-olfatometria e GC-espectrometria de massa *Jornal de Química Agrícola e Alimentar*, 51(27), 8036-8044 doi: 10.1021/jf034747v
- Li, S., Zhang, Y., Gao, J., Li, T., Li, H., Mastroyannis, A., He, S., Rahaman, A., & Chang, K. (2022), "Efeito do tempo de fermentação nas propriedades físico-químicas do kombucha produzido a partir de diferentes chás e frutas: estudo comparativo". *Journal of Food Quality*, 2022, 2342954. Doi: 10.1155/2022/2342954
- Lopez, R., Ortin, N., Pérez-Trujillo,JP, Cacho, J., Ferreira, V. (2003). Odorantes de Impacto de Diferentes Vinhos Brancos Jovens das Ilhas Canárias. *Jornal de Química Agrícola e Alimentar*, 51(11), 3419-3425. Doi: 10.1021/jf026045w
- Ma, W., Guo, A., Zhang, Y., Wang, H., Liu, Y., Li, H. (2014). Uma revisão sobre a percepção de adstringência e amargor dos taninos no vinho. *Tendências em Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 40(1), 6-19. Doi: 10.1016/j.tifs.2014.08.001
- Mordor (2023). Mercado Kombucha. Disponível em <https://www.mordorintelligence.com/pt/industry-reports/kombucha-market> . Acessado em 21 de março de 2023
- Moreno, JA, Zea, L., Moyano, L., Medina, M. (2005). Compostos aromáticos como marcadores das alterações em vinhos xerez submetidos a agentes biológicos. *Controle Alimentar*, 16, 333-338. Doi: 10.1016/j.foodcont.2004.03.013
- Narváez-Rivas, M., Gallardo, E., & Leon-Camacho, ' M. (2012). Análise de compostos voláteis de presuntos ibéricos: uma revisão. *Gras Aceites*, 63, 432–452. <https://doi.org/10.3989/gya.070112>
- Neffe-Skocińska, K., Sionek, B., Ścibisz, I., & Kołożyn-Krajewska, D. (2017). Conteúdo ácido e efeito das condições de fermentação das bebidas de chá Kombuchá nas propriedades físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. *CyTA Journal of Food*, 15, 601–607. doi: 10.1080/19476337.2017.1321588
- Nurgel, C. e Pickering, G. (2005). Contribuição do glicerol, etanol e açúcar na percepção de viscosidade e densidade induzida por vinhos brancos modelo. *Journal of Texture Studies*, 36(3), 303-323, 10.1111/j.1745-4603.2005.00018.x
- Oliveira, PV, Júnior, AHS, Oliveira, CRS, Assumpção, CF, Ogeda, CH (2023). Benefícios, riscos e marcos regulatórios do Kombuchá: uma revisão. *Avanços em Química Alimentar*, 2, 100288. Doi: 10.1016/j.focha.2023.100288

- Ong, PKC, Acree, TE, 1999. Semelhanças na química do aroma de vinhos da variedade gewuerztraminer e frutas de lichia (*Litchi chinensis* Sonn.). *Jornal de Química Agrícola e Alimentar*, 47, 665–670. Doi: 10.1021/jf980452j
- Pastorelli, G., Magni, S., Rossi, R., Pagliarini, E., Baldini, P., Dirinck, P., Corino, C. (2003). Influência da gordura dietética na composição de ácidos graxos e nas propriedades sensoriais do presunto de Parma curado. *Ciência da Carne*, 65, 571–580. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00250-4](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00250-4)
- Peinado, RA, Moreno, JA, Muñoz, D., Medina, M., & Moreno, J. (2004). Quantificação cromatográfica gasosa dos principais compostos voláteis e polióis no vinho por injeção direta. *Jornal de Química Agrícola e Alimentar*, 52, 6389–6393. Doi: 10.1021/jf049369o
- Petričević, S., Radovčić, NM, Lukić, K., Listeš, E. & Medić, H. (2018). Diferenciação de presuntos curados provenientes de diferentes métodos de processamento através de compostos voláteis, análises físico-químicas e sensoriais. *Ciência da Carne*, 137, 217–227. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.12.001>
- Phong, WN, Sung, B., Cao, Z., Gibberd, MR, Dykes, GA, Payne, AD, Coorey, R. (2022). Impacto de diferentes técnicas de processamento no principal perfil volátil, sensorial e aceitação do consumidor da trufa negra (*Tuber melanosporum* Vittadini). *Jornal de Ciência Alimentar*, 87(9), 4174-4187. Doi: 10.1111/1750-3841.16275
- Pino, JA e Quijano, CE (2012). Estudo dos compostos voláteis da ameixa (*Prunus doméstica* L. cv. Horvin) e estimativa da sua contribuição no aroma do fruto. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 32, 76–82. Doi: 10.1590/S0101-20612012005000006
- Pinto, L., Baruzzi, F., Cocolin, L., & Malfeito-Ferreira, M. (2020). Tecnologias emergentes para controlar *Brettanomyces* spp. no vinho: Avanços recentes e tendências futuras. *Tendências em Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 99, 88–100. Doi: 10.1016/j.tifs.2020.02.013
- Pires, EJ, Teixeira, JA, Brányik, T. (2014). Levedura: a alma do aroma da cerveja - uma revisão dos ésteres com sabor ativo e álcoois superiores produzidos pela levedura cervejeira. *Microbiologia Aplicada e Biotecnologia*, 98, 1937–1949. doi:10.1007/s00253-013-5470-0
- Price, ML, Van Scoyok, S., & Butler, LG (1978) Uma avaliação crítica da reação da vanilina como um ensaio para tanino no sorgo. *Jornal de Química Agrícola e Alimentar*, 26, 1214–1218. Doi: 10.1021/jf60219a031
- Ramírez, R. & Cava, R. (2007). Perfis voláteis de produtos cárneos curados a seco de três diferentes genótipos Ibéricos X Duroc. *Jornal de Química Agrícola e Alimentar*, 55, 1923–1931. <https://doi.org/10.1021/jf062810l>.

Rychlik, M., Schieberle, P., Grosch, W. (1998). *Compilação de limites de odor, qualidades de odor e índices de retenção dos principais odores alimentares*. Editora Garching (Universidade de Munique), 68p. Lichtenbergstraße, Alemanha.

Saerens, SMG, Delvaux, F., Verstrepen, KJ, Van Dijck, P., Thevelein, JM, & Delvaux, FR (2007). Parâmetros que afetam a produção de éster etílico por *Saccharomyces cerevisiae* durante a fermentação. *Microbiologia Aplicada e Ambiental*, 74(2), 454–461. doi:10.1128/aem.01616-07

Sales, AL, Cunha, SC, Morgado, J., Cruz, A., Santos, TF, Ferreira, IMPLVO, Fernandes, JO, Miguel, MA, Farah, A. (2023). Perfis volátil, microbiano e sensorial e aceitação do consumidor de café cascara kombuchas. *Alimentos*, 12(14), 2710. Doi: 10.3390/foods12142710

Savary, O., Mounier, J., Thierry, A., Poirier, E., Jourden, J., Maillard, MB. -B., Penland, M., Decamps, C., Coton, M. (2021) . Consórcio microbiano sob medida para fermentação de Kombuchá: alterações bioquímicas induzidas pela microbiota e formação de biofilme. *Food Research International*, 147, 110549. doi:10.1016/j.foodres.2021.110549

Siegmund, B., Derler, K. e Pfannhauser, W. (2001). *Mudanças no aroma de uma bebida de morango durante o armazenamento*. *Jornal de Química Agrícola e Alimentar*, 49(7), 3244–3252. doi:10.1021/jf010116u

Singleton, VL e Rossi, JA (1965). Colorimetria de fenólicos totais com reagentes ácidos fosfomolibdico-fosfotúngstico. *Jornal Americano de Enologia e Viticultura*, 20, 144–158. Disponível em <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144> . Acessado em 25^{de} dezembro de 2022.

Soares, S., Brandão, E., Mateus, N., & de Freitas, V. (2017). Propriedades sensoriais dos polifenóis do vinho tinto: Adstringência e amargor. *Revisões Críticas em Ciência Alimentar e Nutrição*, 57, 937–948. doi: 10.1080/10408398.2014.946468

Suhre T., Mann MB, Kothe CI, Rocha ALG, Celso PG, Varela APM, Frazzon APG, & Frazzon J. (2021). Comunidade microbiana e caracterização físico-química de kombuchas produzidas e comercializadas no Brasil. *Jornal de Ciência Alimentar e Pesquisa Nutricional*, 4, 302-316. Doi: 10.26502/jfsnr.2642-11000082

Talebi, M., Frink, LA, Patil, RA e Armstrong, DW (2017). Exame do conteúdo variado e mutável de etanol em produtos comerciais de kombucha. *Métodos Analíticos de Alimentos*, 10(12), 4062-4067. Doi: 10.1007/s12161-017-0980-5

Tu, C., Tang, S., Azi, F., Hu, W., Dong, M. (2019). Uso do consórcio de kombucha para transformar soro de soja em uma nova bebida funcional. *Jornal de Alimentos Funcionais*, 52, 81-89. Doi: 10.1016/j.jff.2018.10.024

Tran, T., Billet, K., Torres-Cobos, B., Vichi, S., Verdier, F., Martin, A., Alexandre, H., Grandvalet, C., Tourdot-Maréchal, R. (2022). Uso de um agrupamento microbiano

mínimo para determinar a origem do sabor do kombucha. *Fronteiras em Microbiologia*, 13, 836617. Doi: 10.3389/fmicb.2022.836617

Varela, P. e Ares, G. (2018). Avanços recentes na ciência do consumo. In: *Métodos em Pesquisa do Consumidor, V.1*, G. Ares & PA Varela (Eds.). Duxford, Reino Unido, Woodhead Publishing, pp.

Vargas, BK, Fabricio, MF, & Záchia Ayub, MA (2021). Efeitos na saúde e potencial probiótico e prebiótico do kombucha: uma revisão bibliométrica e sistemática. *Biociência Alimentar*, 44, p. 101332. Doi: 10.1016/j.fbio.2021.101332

Villarreal-Soto, SA, Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J.-P., Renard, T., Rollan, S., & Taillandier, P. (2019). Impacto das condições de fermentação na produção de compostos bioativos com propriedades anticancerígenas, antiinflamatórias e antioxidantes em extratos de chá de kombucha. *Bioquímica de Processos*, 83, 44–54. doi: 10.1016/j.procbio.2019.05.004

Yao, L., Zhang, J., Lu, J., Chen, D., Song, S., Wang, H., Sun, M., Feng, T. (2023). Revelando a influência da microbiota no sabor do kombucha durante o processo de fermentação natural por meio de análise metagenômica e GC-MS. *Food Research International*, 169, 112909. Doi: 10.1016/j.foodres.2023.112909

Wang, Y., Wang, H., Wu, Y., Xiang, H., Zhao, Y., Chen, S., Qi, B., Li, L. (2022). Insights sobre oxidação lipídica e perfis de ácidos graxos livres para o desenvolvimento de compostos orgânicos voláteis em pomfret dourado fermentado tradicional com base em análise multivariada. *LWT*, 171, 114112. Doi: 10.1016/j.lwt.2022.114112

Wedral, D., Shewfelt, R., Frank, J. (2010). O desafio da *Brettanomyces* no vinho. *LWT*, 43(10), 1474–1479. Doi: 10.1016/j.lwt.2010.06.010

Zhao, X., Procópio, S., & Becker, T. (2015). Impactos do sabor do glicerol no processamento de bebidas fermentadas com levedura: uma revisão. *Jornal de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 52, 7588-7598. doi: 10.1007/s13197-015-1977-y

LEGENDA DA FIGURA

Figura 1. Abundância relativa de espécies de fungos (barras cinzas) e bactérias (barras pretas) identificadas na associação de microrganismos do kombucha utilizada no presente trabalho.

Figura 2. Análise PCA de compostos voláteis e kombuchas aos 0 (T0), 4 (T4), 7(T7), 10 (T10) e 14 dias (T14) de fermentação a 25°C.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises estatísticas mostraram que o rendimento de kombucha, o pH e o crescimento de SCOBY são influenciados pela massa de SCOBY utilizada no início da fermentação. A acidez é afetada pela composição do chá; enquanto isso, a turbidez é afetada pela concentração de sacarose e pela interação do teor de açúcar e composição do chá.

As kombuchas à base de chá verde, chá preto e erva-mate caracterizaram-se como bebida alcoólica dentro dos padrões da regulamentação brasileira nas condições avaliadas. A kombucha de chá verde apresentou maiores valores de acidez, ácido acético e atividade anti-hipertensiva e menores valores de pH e etanol. A kombucha de chá preto apresentou maior turbidez e polifenóis totais. Kombucha de erva-mate apresentou maiores valores de pH e menores valores de atividade anti-hipertensiva.

A kombucha de chá verde destacou-se pela acidez e aroma e sabores ácidos; a bebida de chá preto, pela cor amarela, cheiro de erva-mate e sabor intenso; enquanto isso, a de erva-mate para cores vivas. A kombucha ideal foi descrita por apresentar cheiro e sabor suaves e ser doce.

Conclui-se que a fermentação do chá verde pela cultura de kombucha a 25 °C altera rapidamente as características da infusão. Acidez, turbidez, quantidades de ácido acético, etanol e polifenóis aumentaram devido à fermentação, mas ao longo de 4 dias a bebida ficou fora dos padrões legais de consumo e conseqüentemente de segurança.

A fermentação resultou em um produto com alta diversidade de ácidos voláteis, álcoois, ésteres e cetonas, enquanto os compostos aldeídos foram degradados. A fermentação durante 4 dias não teve impacto na aceitação, mas teve grande impacto no

perfil sensorial percebido. A infusão de chá verde apresentou aromas de ervas, e cogumelos, o que estava de acordo com o perfil de compostos voláteis e tarefas CATA, enquanto a fermentação por 4, 7 e 10 dias produziu uma bebida relacionada principalmente a álcoois superiores, o que foi observado pelos consumidores na análise sensorial.

Apesar de ser uma bebida ancestral, a produção de kombucha em escala industrial nos países ocidentais é recente. Mais estudos sobre a complexa interação entre micro-organismos para a fermentação do produto, os diferentes chás que o compõem e outros parâmetros do processo são necessários para permitir sua adequada aplicação em nível industrial, visando um produto de maior qualidade e padronizado, pois pequenas mudanças fazem kombuchas muito diferentes.

Dentre as limitações, o presente trabalho utilizou uma amostra de conveniência na população universitária, que não é representativa para os consumidores brasileiros. No entanto, esta abordagem é amplamente utilizada na ciência sensorial e fornece insights interessantes, porém sugere-se que para trabalhos futuros a análise sensorial seja realizada com consumidores de kombucha. Também não foram avaliadas diferentes condições de fermentação, o que pode levar a bebidas com perfis diferentes, embora a fermentação tenha sido realizada dentro dos principais valores de faixa utilizados na literatura recente. No entanto, essas incapacidades não anulam o valor intrínseco desse trabalho e a erva-mate é uma planta tradicional da América do Sul e se mostra uma alternativa para a produção de kombucha.,

Além disso, no experimento III avaliou-se uma temperatura de fermentação. Porém, nas condições propostas (temperatura, consórcio SCOBY e quantidade de açúcar adicionado no início da fermentação), os resultados sustentam que o bioprocessamento deve ser controlado criticamente em escala industrial e em nível caseiro, caso contrário a

kombucha ficará fora de parâmetros seguros. Importante salientar que durante todo o processo não foram identificadas nenhuma bactéria patogênica. Bactérias lácticas também não foram identificadas. Assim, futuros trabalhos deverão explorar gamas mais amplas de parâmetros de processo, a fim de compreender a produção do kombucha e seu impacto nas características da bebida.

REFERÊNCIAS

- ABACI, N., SENOL DENIZ, FS, & ORHAN, IE (2022). **Kombucha - Uma antiga bebida fermentada com bioatividades desejadas: uma revisão restrita.** Food Chemistry X, 14, 100302. doi: 10.1016/j.fochx.2022.100302
- AGUIAR, L.A., RODRIGUES, D.B., QUEIROZ, V.A.V., MELO, L., & PINELI, L.L.O. (2020). **Comparison of two rapid descriptive sensory techniques for profiling and screening of drivers of liking of sorghum breads.** Food Research International, 131, 108999. doi:10.1016/j.foodres.2020.108999.
- AGUIAR, P.D.; GOMES, M.A. **Processo artesanal para produção de kombucha como opção de bebida fermentada.** Anais do Evento: XVII Encontro de Iniciação Científica, XV Mostra de Pós-Graduação, VII Mostra de Extensão e I Mostra de Iniciação Científica Jr. Publicado em 08/12/2020 - ISSN 8599-1890. Edição: 17. Centro Universitário Teresa D'Ávila – UNIFATEA.
- ALCÂNTARA, M., & FREITAS-SÁ, D.G.C. (2018). **Metodologias sensoriais descritivas mais rápidas e versáteis – Uma atualidade na ciência sensorial.** Brazilian Journal of Food Technology, 21, e2016179.
- ALLIED MARKET RESEARCH. (2022). **Functional beverages market.** <https://www.alliedmarketresearch.com/functional-beverages-market-A13087> Accessed in October 2022.
- AMARASINGHE, H., WEERAKKODY, NS, & WAISUNDARA, VY (2018). **Avaliação das propriedades físico-químicas e atividades antioxidantes da kombucha “Tea Fungus” durante longos períodos de fermentação.** Food Science and Nutrition, 6, 659–665. doi: 10.1002/fsn3.605
- ANZALDÚA-MORALES, A. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Zaragoza: Acribia SA, 1994. 198 p.
- ARAÚJO, F. B.; SILVA, P. H. A.; MINIM, V. P. R. **Perfil sensorial e composição físico química de cervejas provenientes de dois segmentos do mercado brasileiro.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, n. 23, v. 2, p. 121-128, 2003.

ARES, G., VIDAL, L., & JAEGER, SR (2021). **Como os consumidores usam emoji em um contexto relacionado à comida? Insights para o design e interpretação de questionários emoji.** *Journal of Sensory Studies*, 36, e12663. doi: 10.1111/joss.12663

BASSETE, F. **Kombucha: o chá milenar que promete emagrecer e dar energia.** In: VEJA.com. 2016. Disponível em<<http://veja.abril.com.br/saude/kombucha-o-cha-milenar-que-prometeemagrecer-e-dar-energia/>> Acesso em 07 abr.2019.

BATISTA, P., PENAS, MR, PINTADO, M., & OLIVEIRA-SILVA, P. (2022). **Kombucha: Percepções e perspectivas futuras.** *Foods* , 11 , 1977. doi: 10.3390/foods11131977

BATTIKH, H., BAKHROUF, A., & AMMAR, E. **Antimicrobial effect of kombucha analogues.** *LWT – Food Science and Technology*, 47, 71– 77. doi:10.1016/j.lwt.2011.12

BEHRENS, J. H.; SILVA M. A. A. P. **Perfil sensorial de vinhos brancos varietais brasileiros através de análise descritiva quantitativa.** *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, n. 1, v. 20, p. 60-67, 2000.

BENASSI, M.T.; DAMÁSIO, M.H.; CECCHI, H.M.; **Avaliação sensorial de vinhos riesling itálico nacionais utilizando perfil livre.** *Food Sci. Technol* 18 (3) • Ago 1998 • <https://doi.org/10.1590/S0101-20611998000300003>.

BORTOLOMEDI, BM, PAGLIARINI, CS, & BROD, FCA (2022). **Compostos bioativos em kombucha: uma revisão sobre o efeito do substrato e as condições de fermentação.** *Food Chemistry*, 385, 132719. Doi: 10.1016/j.foodchem.2022.132719

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, ME, & BERSET, C. (1995). **Uso de um método de radicais livres para avaliar a atividade antioxidante.** *LWT Food Science and Technology*, 28 , 25-30. doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2019). Instrução Normativa Nº 41, de 17 de setembro de 2019.** <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-41-de-17-de-setembro-de-2019-216803534> acessado em 10 de dezembro de 2022.

CALADO, V., & MONTGOMERY, D.C. (2003). **Planejamento de Experimentos usando Statistica.** Editora Epapers, Rio de Janeiro.

CARDOSO L.T.; **Análise da atividade antimicrobiana e das propriedades físico químicas de bebidas fermentadas a partir de grãos de kefir.** UERGS Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (2019).

CARDOSO, R.R., OLIVEIRA NETO, R., THOMAZ DOS SANTOS D'ALMEIDA, C., PIMENTA DO NASCIMENTO, T., GIROTTO PRESSETE, C., AZEVEDO, L., MARTINO, H.S.D., CAMERON, L.C., FERREIRA, M.S.L., & BARROS, F.A.R. (2020). **Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities.** *Food Research International*, 128, e108782. doi: 10.1016/j.foodres.2019.108782

CARVALHO, S.; PRISTA, C. **Desenvolvimento de vinagres a partir de chás e infusões**. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Alimentar (Mestrado). Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa 2017.

CHAVES, G., BRITZ, N., OVIEDO, G., GONZALEZ, G., ITALIANO, C., BLANES, M., SANDOVAL, G., & MERELES, D. (2018). **Bebedores pesados de bebidas *Ilex paraguariensis* apresentam perfis lipídicos mais baixos, mas maior peso corporal**. *Phytotherapy Research*, 32, 1030–1038. doi:10.1002/ptr.6041

CHAVES, J. B. P. **Análise sensorial: glossário**. Viçosa: Editora UFV, 1998. 28 p, (caderno 31).

CHAVES, J. B. P. **Análise sensorial: histórico e desenvolvimento**. Viçosa: Editora UFV, 1998. 31 p, (caderno 32).

CHAVES, J. B. P. **Análise sensorial: introdução a psicofísica**. Viçosa: Editora UFV, 1995. 27 p, (caderno 358).

CHAVES, J. B. P. **Avaliação sensorial de alimentos: métodos de análise**. Viçosa: Editora UFV, 1980. 69p. (caderno 37).

CHAVES, J. B. P. **Métodos de diferença em avaliação sensorial de alimentos e bebidas**. Viçosa: Editora UFV, 2001. 91p. (caderno 33).

COELHO, RMD, ALMEIDA, AL, AMARAL, RQG, MOTA, RN, & SOUSA, PHM (2020). **Kombucha: revisão**. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 22, 100272. Doi: 10.1016/j.ijgfs.2020.100272

COTON, M., PAWTOWSKI, A., TAMINIAU, B., BURGAUD, G., DENIEL, F., COULLOUMME-LABARTHE, L., FALL, A., DAUBE, G., & COTON, E. (2017). **Desvendando a ecologia microbiana de fermentações de kombucha em escala industrial por metabarcoding e métodos baseados em cultura**. *FEMS Microbiology Ecology*, 93 (5), 1 – 16. doi: 10.1093/femsec/fix048.

CUSHMAN, DW, & CHEUNG, HS (1971). **Ensaio espectrofotométrico e propriedades da enzima conversora de angiotensina de pulmão de coelho**. *Biochemical Pharmacology*, 20, 1637-1648. doi: 10.1016/0006-2952(71)90292-9

DEĞIRMENCIOĞLU, N., YILDIZ, E., SAHAN, Y., GÜLDAS, M., & GÜRBÜZ, O. (2021). **Impacto dos tipos de folhas de chá nas propriedades antioxidantes e bioacessibilidade do kombucha**. *Journal of Food Science and Technology*, 58, 2304-2312. doi: 10.1007/s13197-020-04741-7

DUFRESNE, C; FARNWORTH, E. **Tea, kombucha, and health: a review**. *Food Research International* 33 (2000) 409±421

FARIA, E. V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de análise sensorial**. Campinas: Ital/Lafise, 2002.

FAYAD, E., EL-SAWALHI, S., AZIZI, L., BEYROUTHY, M., & ABDEL-MASSIH, RM (2020). **Erva-mate (*Ilex paraguariensis*) um potencial agente antibacteriano**

alimentar e ensaios de combinação com diferentes classes de antibióticos. LWT, 125, 109267. doi: 10.1016/j.lwt.2020.109267

FERREIRA, V. L. P. et al. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos.** Campinas: SBCTA, 2000.

GAMBOA-GÓMEZ, C.I., GONZÁLEZ-LAREDO, R.F., GALLEGOS-INFANTE, J.A., PÉREZ, M.M.L., MORENO-JIMÉNEZ, M.R., FLORES-RUEDA, A.G., & ROCHA-GUZMÁN, N.E. (2016). **Antioxidant and angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of Eucalyptus camaldulensis and Litsea glaucescens infusions fermented with kombucha consortium.** Food Technology and Biotechnology, 54, 367–373. doi: 10.17113/ftb.54.03.16.4622

GIRELLI, A., SANT'ANNA, V., & KLEIN, MP (2023). **Secagem da polpa de butiá pelo método da camada de espuma e caracterização do pó.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, 58, e03050. doi: 10.1590/S1678-3921.pab2023.v58.03050

GOH, WN, ROSMA, A., KAUR, B., FAZILAH, A., KARIM, AA & BHAT, R. (2012). **Fermentação do caldo de chá preto (kombucha): I. efeito da concentração de sacarose e do tempo de fermentação no rendimento de celulose microbiana.** International Food Research Journal, 19(1), 109-117. Acessado em 31 de março de 2023.

GONZALEZ- MUNOZ, B., GARRIDO-VARGAS, F., PAVEZ, C., OSORIO, F., CHEN, J., BORDEU, E., O'BRIEN, JA, & BROSSARD, N. (2022). **Adstringência do vinho: Mais do que apenas interação tanino-proteína.** Journal of the Science of Food and Agriculture, 102, 1771-1781. doi: 10.1002/jsfa.11672

GRIGIONI, G., CARDUZA, F., IRURUETA, M., & PENSEL, N. (2004). **Características de sabor de Ilex paraguariensis infusão, um produto típico argentino, avaliado por avaliação sensorial e nariz eletrônico.** Journal of the Science of Food and Agriculture, 84, 427–432. doi: 10.1002/jsfa.1670

HOLOWATY, SA, THEA, AE, ALEGRE, C., & SCHMALKO, ME (2018). **Diferenças nas propriedades físico-químicas da erva-mate (Ilex paraguariensis) obtidas por métodos de fabricação tradicionais e alternativos.** Journal of Food Process Engineering, 41, e12911. doi: 10.1111/jfpe.12911

HUI, Y. H. **Sensory evaluation of dairy products.** In: Dairy science and technology handbook. New York: VCH publishers, v. 1, 1992.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Yogurt: enumeration of characteristic microorganisms colony count technique at 37°C.** IDF Standard 117A. Brussels: IDF, 1988. 4p.

IVANIŠOVÁ, E., MEŇHARTOVÁ, K., TERENTJEVA, M., HARANGOZO, E., KÁNTOR, A., & KAČÁNIOVÁ, M. (2019). **A avaliação das propriedades químicas, antioxidantes, antimicrobianas e sensoriais da bebida de chá kombucha.** Journal of Food Science and Technology, 57, 1840–1846. doi: 10.1007/s13197-019-04217-3

JAEGER, SR, VIDAL, L., & ARES, G. (2020). **Os emojis devem substituir as palavras de emoção em pesquisas de consumo relacionadas a alimentos baseadas em**

questionários? Qualidade e Preferência Alimentar, 92, 104121. doi: 10.1016/j.foodqual.2020.104121

JAKUBCZYK, K., KAŁDUŃSKA, J., KOCHMAN, J., & JANDA, K. (2020). **Perfil químico e atividade antioxidante da bebida kombucha derivada dos chás branco, verde, preto e vermelho**. *Antioxidantes*, 9, 447. doi : 10.3390/antiox9050447

JAYABALAN, R., MARIMUTHU, S., & SWAMINATHAN, K. **Changes in content of organics acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation**. *Food Chemistry*, 102, 392–398. doi:10.1016/j. foodchem.2006.05.032 (2007).

JAYABALAN, R.; MALBAŠA, R. V.; LONČAR, E. S.; VITAS, J. S.; SATHISHKUMAR, M. **A Review on kombucha Tea-Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus**. *Compr. Rev. Food Sci. Food. Saf.* 2014, 13, 538–550. DOI: 10.1111/1541-4337.12073.

JAYABALAN, R., SUBATHRADEVI, P., MARIMUTHU, S., SATHISHKUMAR, M., & SWAMINATHAN, K. (2008). **Alterações na capacidade de eliminação de radicais livres do chá de kombucha durante a fermentação**. *Food Chemistry*, 109, 227–234. doi: 10.1016/j. foodchem.2007.12.037

JOHNSON, A. (2016). **Microbiologia de alimentos artesanais**. *Nature Microbiology*, 1, 16039. Doi 10.1038/nmicrobiol.2016.39

JUNIOR, ELC, & MORAND, C. (2016). **Interesse do mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) como um novo alimento funcional natural para preservar a saúde cardiovascular humana – Uma revisão**. *Journal of Functional Foods*, 21, 440–454. doi: 10.1016/j.jff.2015.12.010

KAEWKOD, T., BOVONSOMBUT, S., & TRAGOOLPUA, Y. (2019). **Eficácia do kombucha obtido dos chás verde, oolong e preto na inibição de bactérias patogênicas, antioxidante e toxicidade na linha celular de câncer colorretal**. *Microorganismos*, 7, 700. doi: 10.3390/microorganisms7120700

KALLEL, L., DESSEAUX, V., HAMDI, M., STOCKER, P., AJANDOUZ, EH (2012). **Insights sobre a bioquímica da fermentação dos chás de kombucha e os impactos potenciais do consumo de kombucha na digestão do amido**. *Food Research International*, 49, 226-232. Doi: 10.1016/foodres.2012.08.018

KALTBACH, P., BALLERT, S., GILLMEISTER, M., KABROLDT, K., & SCHELLENBERG, I. (2022). **Preparações de chá mate (*Ilex paraguariensis*): Compreendendo a extração de compostos voláteis e não voláteis mediante variações das tradicionais infusões consecutivas**. *Food Chemistry*, 374, 131756. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.131756

KAPP, JM, & SUMMER, W. (2019). **Kombucha: uma revisão sistemática da evidência empírica do benefício para a saúde humana**. *Annals of Epidemiology*, 30, 66-70. doi: 10.1016/j.annepidem.2018.11.001

KATARZYNA NEFFE-SKOCIŃSKA, BARBARA SIOŃEK, IWONA ŚCIBISZ & DANUTA KOŁOŻYŃKRAJEWSKA. **Acid contents and the effect of fermentation condition of kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and**

sensory properties, *CyTA - Journal of Food*, DOI: 10.1080/19476337.2017.132158. (2017).

KIM, J., & ADHIKARI, K. (2020). **Tendências atuais em kombucha: perspectivas de marketing e a necessidade de pesquisa sensorial aprimorada**. *Bebidas*, 6, 15. doi: 10.3390/beverages6010015

KING, SC E MEISELMAN, HL (2010). **Desenvolvimento de um método para medir as emoções do consumidor associadas aos alimentos**. *Food Quality and Preference*, 21, 168-177. doi: 10.1016/j.foodqual.2009.02.005

KONIECZYNSKI, P., VIAPIANA, A., & WESOLOWSKI, M. (2017). **Comparação de infusões de chá preto e verde (Camellia sinensis L. Kuntze) e Erva -mate (Ilex paraguayensis A. St.- Hil com base no teor de elementos essenciais, metabólitos secundários e atividade antioxidante**. *Food Analytical Methos*, 10, 3063-3070. Doi: 10.1007/s12161-017-0872-8

KOTTA, S., MUBARAK ALDAWSARI, H., BADR-ELDIN, SM, ALHAKAMY, NA, & MD, S. (2021). **Nanoemulsão de resveratrol à base de óleo de coco: otimização usando metodologia de superfície de resposta, avaliação de estabilidade e avaliação farmacocinética**. *Food Chemistry*, 357, 129721. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.129721

KRAUJALYTĖ, V., PELVAN, E., & ALASALVAR, C. (2016). **Compostos voláteis e características sensoriais de vários chás instantâneos produzidos a partir do chá preto**. *Food Chemistry*, 194, 864-872. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.08.051

LOBO, RO, DIAS, FO, & SHENOY, CK (2017). **Kombucha para uma vida saudável: avaliação do potencial antioxidante e compostos bioativos**. *International Food Research Journal*, 24 (2), 541-546. [http://www.ifrj.upm.edu.my/24%20\(02\)%202017/\(10\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/24%20(02)%202017/(10).pdf) Acessado em outubro de 2022.

LOPES, D. R.; **Obtenção e avaliação de extratos de erva mate (Ilex paraguayensis) fermentados com a cultura simbiótica kombucha**. Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos. Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande 2019.

MA, W., GUO, A., ZHANG, Y., WANG, H., LIU, Y., LI, H. (2014). **Uma revisão sobre a percepção de adstringência e amargor dos taninos no vinho. Tendências em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 40(1), 6-19. Doi: 10.1016/j.tifs.2014.08.001

MALBASA, R.; LONC, E.; DJURIC, M. **Comparison of the products of kombucha fermentation on sucrose and molasses**. *Food Chemistry* 106 (2008)1039 –1045.

MILLERS, B., SCHWARTZ, A., & RITOV, I. (1999). **Escolha baseada na emoção**. *Journal of Experimental Psychology*, 128, 332-345. doi: 10.1037/0096-3445.128.3.332

MIRANDA, JF, RUIZ, LF, SILVA, CB, UEKANE, TM, SILVA, KA, GONZÁLEZ, AGM, FERNANDES, FD, & LIMA, AR (2022). **Kombucha: Uma revisão de substratos, regulamentos, composição e propriedades biológicas**. *Journal of Food Science*, 87, 503-527. doi: 10.1111/1750-3841.16029

MIR, MB, RASTOGI, S., & HARIPRIVA, S. (2021). **Otimização de variáveis de processo para a preparação de iogurte integral com goma de amêndoa usando o modelo de superfície de resposta Box-Behnken.** *Applied Food Research*, 1 (2), e100016. doi: 10.1016/j.afres.2021.100016

MOURA, A. B.; **Monitoramento do processo fermentativo da kombucha de chá mate.** Trabalho de Conclusão de Curso para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição. Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão 2019.

MORALES, D. (2020). **Atividades biológicas de bebidas kombucha: A necessidade de evidências clínicas.** *Trends in Food Science and Technology*, 1 05 323-333. doi: 10.1016/j.tifs.2020.09.025

MURUGESH, CS, MANOJ, JB, HAWARE, DJ, RAVI, R., & SUBRAMANIAN, R. (2017). **Influência da qualidade da água nas características nutricionais e sensoriais da infusão de chá verde.** *Journal of Food Process Engineering*, 40, e12532. doi: 10.1111/jfpe.12532

NEFFE-SKOCIŃSKA, K., SIONEK, B., ŚCIBISZ, I., & KOŁOŻYN-KRAJEWSKA, D. (2017). **Teor de ácidos e o efeito da condição de fermentação de bebidas à base de chá kombucha nas propriedades físico-químicas, microbiológicas e sensoriais.** *CyTA Journal of Food*, 15, 601–607. doi: 10.1080/19476337.2017.1321588

NEFFE-SKOCIŃSKA K., SIONEK, B., ŚCIBISZ, I., KRAJEWSKA, D. K.; **Acid contents and the effect of fermentation condition of kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties.** *CyTA - Journal of Food*, DOI: 10.1080/19476337.2017.1321588. (2017).

NG, M., CHAYA, C., & HORT, J. (2013). **Além de gostar: comparando a medição da resposta emocional usando o Perfil EsSense e as metodologias de verificação de tudo o que se aplicam definidas pelo consumidor.** *Qualidade e Preferência Alimentar*, 28, 193–205. doi: 10.1016/j.foodqual.2012.08.012

NGUYEN, K.N., NGUYEN, P.B., NGUYEN, H.T., & LE, P.H. **Screening the optimal ratio of symbiosis between isolated yeast and acetic bacteria strain from traditional kombucha for high-level production of glucuronic acid.** *LWT – Food Science and Technology*, 64, 1149–1155. doi:10.1016/j.lwt.2015.07.018. (2015).

OLEGARIO, LS, ESTEVÉZ, M., GONZÁLEZ- MOHINO, A., MADRUGA, MS, & VENTANAS, S. (2021). **Resposta emocional transcultural a estímulos alimentares: influência do contexto de consumo.** *Pesquisa de Alimentos International*, 142, 110194. doi: 10.1016/j.foodres.2021.110194

OLIVEIRA, E., LIMA, NS, CONCEIÇÃO, EPS, PEIXOTO-SILVA, N., MOURA, EG, & LISBOA, PC (2018). **O tratamento com solução aquosa de *Ilex paraguariensis* (erva-mate) previne desequilíbrio redox hepático, triglicerídeos elevados e microesteatose em ratos adultos com sobrepeso desmamados precocemente.** *Revista Brasileira de Pesquisas Médicas e Biológicas*, 51, e7342. doi : 10.1590/1414-431X20187342

PALUDO, N. **Desenvolvimento e caracterização de kombucha obtida a partir de chá verde e extrato de erva-mate: processo artesanal e escala laboratorial.** Trabalho de

conclusão de curso (Graduação). Curso de Bacharel em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre 2017.

PHETXUMPHOU, K.; VICK, R.; BLANC, L.; LAHNE J.; **Efeitos da Condição de Processamento nos Perfis Sensoriais do kombucha através do Sensorial Análise Descritiva**, In:Journal of the American Society of Brewing Chemists, DOI: 10.1080/03610470.2021.2022879, 2022.

PIMENTEL, C. V. de M. B.; FRANCKI, V. M.; GOLLÜCKE, Andréa Pittelli Boiogo.**Alimentos Funcionais: Introdução às principais substâncias bioativas em alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2005. (p. 36-41).

POLAT, H., CAPAR, TD, INANIR, C., EKICI, L., & YALCIN, H. (2020). **Formulação de biscoitos funcionais enriquecidos com extrato de lentilha germinada: Uma Metodologia de Superfície de Resposta Box-Behnken Design**. LWT, 123, e109065. doi:10.1016/j.lwt.2020.109065

PREÇO, ML, VAN SCOYOK, S., & BUTLER, LG (1978) **Uma avaliação crítica da reação da vanilina como um ensaio para o tanino no sorgo**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 26, 1214–1218. Doi: 10.1021/jf60219a031

PESQUISA DE MERCADO ALIADA. (2022). <https://www.alliedmarketresearch.com/functional-beverages-market-A13087> Acessado em 10 de outubro de 2022.

REISS, JÜRGEN. **Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus**. *Zeitschrift Für Lebensmittel-untersuchung Und -forschung*, [s.l.], v. 198, n. 3, p.258-261, mar. 1994. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf01192606>.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., & RICE-EVANS, C. (1999). **Atividade antioxidante aplicando um ensaio aprimorado de descoloração de cátions radicais ABTS**. *Radicais Livres em Biologia e Medicina*, 26, 1231-1237.

RITA, P., ARRIAGA, P., MOURA, A., & GURERREIRO, J. (2022). **Respostas emocionais e motivacionais de locais versus estrangeiros em relação à comida tradicional e não tradicional**. *Revista Espanhola de Marketing - ESIC* , à frente da impressão. doi: 10.1108/SJME-11-2021-0213

ROSS J.; VUYST L. **Acetic acid bacteria in fermented foods and beverages**. *Current Opinion in Biotechnology* 2018, 49:115–119 This review comes from a themed issue on Food biotechnology. <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2017.08.007> 0958-1669/ã 2017.

RUSKOVSKA, T., MORAND, C., BONETTI, CI, GEBARA, KS, JUNIOR, ELC, & MILENKOVIC, D. (2023). **Modificações multigenômicas em células imunes circulantes humanas em resposta ao consumo de erva-mate (Ilex paraguaiensis A. St. - Hil.)** são sugestivas de efeitos protetores cardiometabólicos. *British Journal of Nutrition*, 129, 185-205. doi: 10.1017/S0007114522001027

SANTOS, M.; PRISTA, C. **Kombucha: caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração.** Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Gastronômicas (Mestrado). Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa 2016.

SANTOS, W.; BARBOSA, C.; LACERDA, I. **Obtenção e caracterização de kombucha de chá preto.** InSBPCNET.ORG.<Disponível em http://www.sbpcnet.org.br/livro/69ra/resumos/resumos/3112_197ceb2d1c03053d187fae353c9a8273d.pdf.>Acesso em 06 abr. 2019.

SCHOUTETEN, JJ, DE STEUR, H., DE PELSMAEKER, S., LAGAST, S., DE BOURDEAUDHUIJ, I., & GELLYNCK, X. (2015). **Impacto dos rótulos de saúde na percepção do sabor e no perfil emocional: um estudo do consumidor sobre o queijo.** *Nutrientes*, 7, 10251–10268. doi: 10.3390/nu7125533

SCHOUTETEN, JJ, DE PELSMAEKER, S., JUNIVAL, J., LAGAST, S., DEWETTINCK, K., & GELLYNCK X. (2018). **Influência dos atributos sensoriais nas emoções dos consumidores e gosto hedônico de chocolate.** *British Food Journal*, 120, 1489-1503. doi: 10.1108/BFJ-08-2017-0436

SILVA, M.P.; CAVALLI, D.r.; OLIVEIRA, T.C.R.M. **Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e Escherichia coli em alimentos.** *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, [S.l.], v. 26, n. 2, p.352-359, jun. 2006.

SINGLETON, VL, & ROSSI, JA (1965). **Colorimetria de compostos fenólicos totais com reagentes de ácido fosfomolibdico- fosfotungstico.** *American Journal of Enology and Viticulture*, 20, 144–158. <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144>

SOARES, S., BRANDÃO, E., MATEUS, N., & DE FREITAS, V. (2017). **Propriedades sensoriais dos polifenóis do vinho tinto: Adstringência e amargor.** *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 937–948. doi: 10.1080/10408398.2014.946468

SOUZA, L.; ESPÓSITO, E. **Determinação da atividade antibacteriana de kombucha preparado com quatro diferentes açúcares comerciais.** In: PANELA. MONITOR.ORG. Disponível em < <http://www.panelamonitor.org/media/docrepo/document/files/determinacao-da-atividade-antibacteriana-de-kombucha-preparado-com-quatro-diferentes-acucarez-comercias.pdf>> Acesso em 02 de abr.2019.

SPEDDING, G. (2015). **Então, o que é kombucha? Uma bebida alcoólica ou não alcoólica? Uma breve revisão de literatura selecionada e reflexão pessoal.** BDAS, LLC http://alcbvtesting.com/wpcontent/uploads/2015/06/WhatIsKombucha_BDASLLC_WPSPNo2_Out-4-2015.pdf Acessado em novembro de 2022.

SPINOSA, W. **Isolamento, seleção, identificação e parâmetros cinéticos de bactérias acéticas provenientes de indústrias de vinagre.** 2002. 203 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Unicamp, Campinas, 2002.

STOLZENBACH, S., BREDIE, WLP E BYRNE, DV (2013). **Conceitos de consumo no desenvolvimento de novos produtos de alimentos locais: méis tradicionais versus novos.** Food Research International, 52(1), 144–152. doi:10.1016/j.foodres .2013.02.030

TANAKA, TI, & KOUNO, I. (2003). **Oxidação das catequinas do chá: estruturas químicas e mecanismo de reação.** Food Science and Technology Research, 9, 128-133. doi: 10.3136/fstr.9.128

TANG, SZ, KERRY, JP, SHEEHAN, D., & BUCKLEY, DJ (2002). **Mecanismos antioxidantes das catequinas do chá em sistemas de carne de frango.** Food Chemistry, 76, 45-51. doi: 10.1016/S0308-8146(01)00248-5

TEIXEIRA, K.; SOUZA, J.; DOMINGUES, S.; HENRIQUES, L.; **O efeito dos alimentos funcionais na microbiota intestinal; o uso do kefir e da kombucha na dieta alimentar e saudável.** In:REVISTA. UNIVERSO. Disponível em <<http://www.revista.universo.edu.br/index.php?journal=1CAMPOSDOSGOYTACAZES2&page=article&op=viewFile&path%5B%5D=6063&path%5B%5D=3164>> Acesso em 25 de mar.2019.

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; BARBETTA, P. A. **Análise sensorial de alimentos.** Florianópolis: Ed. da UFSC, 1987. 180 p.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

VALIYAN, F., KOOHSARI, H., & FADAVI, A. (2021). **Uso da metodologia de superfície de resposta para investigar o efeito de várias condições de fermentação na atividade antibacteriana de várias bebidas de kombucha.** Journal of Food Science and Technology, 58, 1877-1891. doi: 10.1007/s13197-020-04699-6

VARGAS, BK, FABRICIO, MF, & AYUB, MAZ (2021). **Efeitos na saúde e potencial probiótico e prebiótico do kombucha: uma revisão bibliométrica e sistemática.** Food Bioscience, 44, 101332. doi: 10.1016/j.fbio.2021.101332

VARELA, P., & ARES, G. (2018). **Avanços recentes na ciência do consumidor. In: Methods in Consumer Research, V.1, G. Ares & PA Varela (Eds.).** Duxford, Reino Unido, Woodhead Publishing, pp. 3-21.

VÁZQUEZ-CABRAL, BD, LARROSA -PÉREZ, M., GALLEGOS-INFANTE, JA, MORENO-JIMÉNEZ, MR, GONZÁLEZ-LAREDO, RF, RUTIAGA -QUINONES, JG, GAMBOA -GÓMEZ, CI, & ROCHA-GUZMÁN, NE (2017). **Oak kombucha protege contra o estresse oxidativo e processos inflamatórios.** Chemical -Biological Interactions, 272, 1–9. doi: 10.1016/j.cbi.2017.05.001

VILLARREAL-SOTO, SA, BEAUFORT, S., BOUJILA, J., SOUCHARD, J.-P., RENARD, T., ROLLAN, S., & TAILLANDIER, P. (2019). **Impacto das condições de fermentação na produção de compostos bioativos com propriedades anticancerígenas, anti-inflamatórias e antioxidantes em extratos de chá de kombucha.** Process Biochemistry, 83, 44–54. doi: 10.1016/j.procbio.2019.05.004

VITAS, J., VUKMANOVIC, S., CAKAREVIC, J., POPOVIC, L., & MALBASA, R. (2020). **Fermentação de kombucha de seis ervas medicinais: perfil químico e**

atividade biológica. Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly, 26, 157–170. doi :10.2298/CICEQ190708034V

YANG, J.-E., & LEE, J. (2019). **Percepção e gosto do consumidor e características sensoriais de chás misturados.** Food Science and Biotechnology, 29, 63–74. doi:10.1007/s10068-019-00643-3

YEDDES, W., DJEBALI, K., WANNES, WA, HORCHANI-NAIFER, K., HAMMAMI, M., YOUNES, I., & TOUNSI, MS (2020). **Filmes de gelatina-quitosana-pectina incorporados com óleo essencial de alecrim: formulação otimizada usando design de mistura e metodologia de superfície de resposta.** Jornal Internacional de Macromoléculas Biológicas, 154, 92-103. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.03.092

ZAIONS, I., PICOLO, AP, GONÇALVES, IL, BORGES, ACP, & VALDUGA, AR (2014). **Caracterização físico-química de Ilex paraguariensis St. Hil. durante a maturação.** Arquivos Brasileiros de Biologia e Tecnologia, 57, 663-667. doi: 10.1590/S1516-8913201402076

ZHAO, X., PROCÓPIO, S., & BECKER, T. (2015). **Impactos do sabor do glicerol no processamento de bebidas fermentadas com levedura: uma revisão.** Journal of Food Science and Technology, 52, 7588-7598. doi: 10.1007/s13197-015-1977-y

ZHOU, DD, SAIMAITI, A., LUO, M., HUANG, SY, XIONG, RG, SHANG, A., GAN, RY, & LI, HB (2022). **A fermentação com resíduos de chá aumenta as atividades antioxidantes e o conteúdo de polifenóis em bebidas kombucha.** Antioxidantes, 11, 155. doi: 10.3390/antiox11010155

ZOFIA, NL, ALEKSANDRA, Z., TOMASZ, B., MARTYNA, ZD, MAGDALENA, Z., ZOFIA, HB, & TOMASZ, W. (2020). **Efeito do tempo de fermentação nas propriedades antioxidantes e antienvhecimento de fermentos de kombucha de café verde.** Molecules, 25 (22), 5394. doi: 10.3390/molecules25225394

ZOU, C., LI, R., CHEN, J., WANG, F., GAO, Y., FU, Y., XU, Y., & YIN, J. (2021). **Kombucha à base de chá Zijuan: perfil físico-químico, sensorial e antioxidante.** Food Chemistry, 363, 130322. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130322

APÊNDICE I

Você está recebendo 3 amostras codificadas de Kombucha. Prove as amostras da esquerda para a direita, entre uma amostra e outra, orienta-se o provador a beber a beber água entre cada amostra. Para cada amostra, indique o quanto você gostou da amostra conforme a escala

AMOSTRA 147

Desgostei
Muitíssimo

Gostei
muitíssimo

Agora, marque **todos os atributos** que você sente estar presente nesta amostra.

- | | | | |
|-----------------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|
| () Amargor | () Cheiro suave | () Doce | () Vinagre |
| () Cor clara | () Cor amarela | () Cheiro de fermentado | () Sabor de erva |
| () Sabor ácido | () Azedo | () Sabor de chá verde | () Gaseificado |
| () Cheiro de erva mate | () Sabor intenso | () Secura | () Aroma ácido |
| () Cheiro de fruta cítrica | () Gosto suave | () Sabor de fermentado | () Sabor Cítrico |

AMOSTRA 539

Desgostei
Muitíssimo

Gostei
muitíssimo

Agora, marque **todos os atributos** que você sente estar presente nesta amostra.

- | | | | |
|-----------------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|
| () Amargor | () Cheiro suave | () Doce | () Vinagre |
| () Cor clara | () Cor amarela | () Cheiro de fermentado | () Sabor de erva |
| () Sabor ácido | () Azedo | () Sabor de chá verde | () Gaseificado |
| () Cheiro de erva mate | () Sabor intenso | () Secura | () Aroma ácido |
| () Cheiro de fruta cítrica | () Gosto suave | () Sabor de fermentado | () Sabor Cítrico |

AMOSTRA 642

Desgostei
Muitíssimo

Gostei
muitíssimo

Agora, marque **todos os atributos** que você sente estar presente nesta amostra.

- | | | | |
|-----------------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|
| () Amargor | () Cheiro suave | () Doce | () Vinagre |
| () Cor clara | () Cor amarela | () Cheiro de fermentado | () Sabor de erva |
| () Sabor ácido | () Azedo | () Sabor de chá verde | () Gaseificado |
| () Cheiro de erva mate | () Sabor intenso | () Secura | () Aroma ácido |
| () Cheiro de fruta cítrica | () Gosto suave | () Sabor de fermentado | () Sabor Cítrico |

E sobre uma kombucha ideal, quais os atributos você acha que devem estar presentes?

- | | | | |
|--------------------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Amargor | <input type="checkbox"/> Cheiro suave | <input type="checkbox"/> Doce | <input type="checkbox"/> Vinagre |
| <input type="checkbox"/> Cor clara | <input type="checkbox"/> Cor amarela | <input type="checkbox"/> Cheiro de fermentado | <input type="checkbox"/> Sabor de erva |
| <input type="checkbox"/> Sabor ácido | <input type="checkbox"/> Azedo | <input type="checkbox"/> Sabor de chá verde | <input type="checkbox"/> Gaseificado |
| <input type="checkbox"/> Cheiro de erva mate | <input type="checkbox"/> Sabor intenso | <input type="checkbox"/> Secura | <input type="checkbox"/> Aroma ácido |
| <input type="checkbox"/> Cheiro de fruta cítrica | <input type="checkbox"/> Gosto suave | <input type="checkbox"/> Sabor de fermentado | <input type="checkbox"/> Sabor Cítrico |

Você tomou kombuchas feitas de chá verde, chá preto e com erva-mate. Marque das opções abaixo todas as emoções que você sente quando pensa que consome cada uma das kombuchas especificamente. Marque quantas opções quiser.

CHÁ VERDE

- | | | | |
|------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Leve | <input type="checkbox"/> Nostálgico | <input type="checkbox"/> Amigável | <input type="checkbox"/> Amoroso |
| <input type="checkbox"/> Animado | <input type="checkbox"/> Preocupado | <input type="checkbox"/> Aventureiro | <input type="checkbox"/> Bondoso |
| <input type="checkbox"/> Calmo | <input type="checkbox"/> Carinhoso | <input type="checkbox"/> Completo | <input type="checkbox"/> Contente |
| <input type="checkbox"/> Ansioso | <input type="checkbox"/> Entusiasmado | <input type="checkbox"/> Feliz | <input type="checkbox"/> Frágil |
| <input type="checkbox"/> Generoso | <input type="checkbox"/> Livre | <input type="checkbox"/> Alegre | <input type="checkbox"/> Quente |
| <input type="checkbox"/> Prazeroso | <input type="checkbox"/> Satisfeito | <input type="checkbox"/> Seguro | <input type="checkbox"/> Sereno |
| <input type="checkbox"/> Tranquilo | <input type="checkbox"/> Entediado | <input type="checkbox"/> Ativo | <input type="checkbox"/> Agressivo |
| <input type="checkbox"/> Divertido | <input type="checkbox"/> Compreensivo | <input type="checkbox"/> Culpado | <input type="checkbox"/> Educado |
| <input type="checkbox"/> Estável | <input type="checkbox"/> Interessado | <input type="checkbox"/> Agradável | <input type="checkbox"/> Ousado |
| <input type="checkbox"/> Selvagem | <input type="checkbox"/> Silencioso | | |

CHÁ PRETO

- | | | | |
|------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Leve | <input type="checkbox"/> Nostálgico | <input type="checkbox"/> Amigável | <input type="checkbox"/> Amoroso |
| <input type="checkbox"/> Animado | <input type="checkbox"/> Preocupado | <input type="checkbox"/> Aventureiro | <input type="checkbox"/> Bondoso |
| <input type="checkbox"/> Calmo | <input type="checkbox"/> Carinhoso | <input type="checkbox"/> Completo | <input type="checkbox"/> Contente |
| <input type="checkbox"/> Ansioso | <input type="checkbox"/> Entusiasmado | <input type="checkbox"/> Feliz | <input type="checkbox"/> Frágil |
| <input type="checkbox"/> Generoso | <input type="checkbox"/> Livre | <input type="checkbox"/> Alegre | <input type="checkbox"/> Quente |
| <input type="checkbox"/> Prazeroso | <input type="checkbox"/> Satisfeito | <input type="checkbox"/> Seguro | <input type="checkbox"/> Sereno |
| <input type="checkbox"/> Tranquilo | <input type="checkbox"/> Entediado | <input type="checkbox"/> Ativo | <input type="checkbox"/> Agressivo |
| <input type="checkbox"/> Divertido | <input type="checkbox"/> Compreensivo | <input type="checkbox"/> Culpado | <input type="checkbox"/> Educado |
| <input type="checkbox"/> Estável | <input type="checkbox"/> Interessado | <input type="checkbox"/> Agradável | <input type="checkbox"/> Ousado |
| <input type="checkbox"/> Selvagem | <input type="checkbox"/> Silencioso | | |

ERVA-MATE

- | | | | |
|------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Leve | <input type="checkbox"/> Nostálgico | <input type="checkbox"/> Amigável | <input type="checkbox"/> Amoroso |
| <input type="checkbox"/> Animado | <input type="checkbox"/> Preocupado | <input type="checkbox"/> Aventureiro | <input type="checkbox"/> Bondoso |
| <input type="checkbox"/> Calmo | <input type="checkbox"/> Carinhoso | <input type="checkbox"/> Completo | <input type="checkbox"/> Contente |
| <input type="checkbox"/> Ansioso | <input type="checkbox"/> Entusiasmado | <input type="checkbox"/> Feliz | <input type="checkbox"/> Frágil |
| <input type="checkbox"/> Generoso | <input type="checkbox"/> Livre | <input type="checkbox"/> Alegre | <input type="checkbox"/> Quente |
| <input type="checkbox"/> Prazeroso | <input type="checkbox"/> Satisfeito | <input type="checkbox"/> Seguro | <input type="checkbox"/> Sereno |
| <input type="checkbox"/> Tranquilo | <input type="checkbox"/> Entediado | <input type="checkbox"/> Ativo | <input type="checkbox"/> Agressivo |
| <input type="checkbox"/> Divertido | <input type="checkbox"/> Compreensivo | <input type="checkbox"/> Culpado | <input type="checkbox"/> Educado |
| <input type="checkbox"/> Estável | <input type="checkbox"/> Interessado | <input type="checkbox"/> Agradável | <input type="checkbox"/> Ousado |
| <input type="checkbox"/> Selvagem | <input type="checkbox"/> Silencioso | | |

Agora, fale-me um pouco sobre você**Gênero:**

Masculino Feminino Outro Não quero responder

Qual sua idade?

menos de 20 anos entre 21 e 30 anos entre 31 e 40 anos
 entre 41 e 50 anos entre 51 e 60 anos mais que 60 anos

Qual sua escolaridade?

Ensino fundamental incompleto Ensino fundamental completo
 Ensino médio completo Ensino superior completo

Qual sua faixa salarial?

Menos de R\$ 1.212,00 Entre R\$1.212,00 e R\$3.636,00
 Entre R\$3.636,00 e R\$7.272,00 Entre R\$7.272,00 e R\$9.696,00
 Entre R\$9.696,00 e R\$12.120,00 Mais que R\$12.120,00

Se você consome kombucha, atualmente quais os motivos te levam a consumir (marque todas as opções que achar pertinente):

É um produto diferenciado É um produto artesanal É uma bebida fermentada
 Equilibra a flora intestinal É desintoxicante Substitui o refrigerante
 Sabor Faz bem à saúde Não apresenta álcool
 Outro: _____

Qual sabor de kombucha você prefere? (marque todas as opções que achar pertinente):

Uva Chá preto Chá verde Chá preto e chá verde Maracujá
 Abacaxi Hibisco Gengibre Mirtilo Guaraná
Outro: _____

Com que frequência você consome kombucha?

Todos os dias ou quase todos os dias
 Várias vezes na semana, mas não todos os dias
 Uma vez por semana
 Várias vezes por mês, mas não todas as semanas
 Uma vez ao mês
 Várias vezes ao ano, mas não todos os meses
 Uma ou duas vezes ao ano
 Menos de uma vez ao ano ou nunca

Em que situação você consome/consumiria kombucha?

De manhã em jejum
 Pré treino ou Pós treino
 30 minutos antes das principais refeições
 Happy hour

APÊNDICE II

Você está recebendo 2 amostras de Kombucha. Prove as amostras da esquerda para a direita, tomando água entre uma amostra e outra. Então, marque todos os atributos que estão presentes na amostra que você provou.

AMOSTRA 263

Aceitação Global

Desgostei
Muitíssimo

Gostei
muitíssimo

Agora, marque **todos os atributos** que você sente nesta amostra.

Aparência

() Turbidez () Cor amarela () Cor verde () Cor clara () Gaseificado

Cheiro

() Vinagre () Fruta cítrica () ácido () cheiro suave
() fermentado () grama () chá verde () alcoólico

Sabor

() doce () azedo () ácido () amargo () vinagre
() suave () chá verde () fermentado () consistente () alcoólico

AMOSTRA 593

Aceitação Global

Desgostei
Muitíssimo

Gostei
muitíssimo

Agora, marque **todos os atributos** que você sente nesta amostra.

Aparência

() Turbidez () Cor amarela () Cor verde () Cor clara () Gaseificado

Cheiro

() Vinagre () Fruta cítrica () ácido () cheiro suave
() fermentado () grama () chá verde () alcoólico

Sabor

() doce () azedo () ácido () amargo () vinagre
() suave () chá verde () fermentado () consistente () alcoólico

Agora, fale-me um pouco sobre você**Gênero:**

Masculino Feminino Outro Não quero responder

Qual sua idade?

menos de 20 anos entre 21 e 30 anos entre 31 e 40 anos
 entre 41 e 50 anos entre 51 e 60 anos mais que 60 anos

Qual sua escolaridade?

Ensino fundamental incompleto Ensino fundamental completo
 Ensino médio completo Ensino superior completo

Qual sua faixa salarial?

Menos de R\$ 1.212,00 Entre R\$1.212,00 e R\$3.636,00
 Entre R\$3.636,00 e R\$7.272,00 Entre R\$7.272,00 e R\$9.696,00
 Entre R\$9.696,00 e R\$12.120,00 Mais que R\$12.120,00

Com que frequência você consome kombucha?

Todos os dias ou quase todos os dias
 Várias vezes na semana, mas não todos os dias
 Uma vez por semana
 Várias vezes por mês, mas não todas as semanas
 Uma vez ao mês
 Várias vezes ao ano, mas não todos os meses
 Uma ou duas vezes ao ano
 Menos de uma vez ao ano ou nunca
