

**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
CAMPUS REGIONAL II - ENCANTADO**

ROCHELE LUANE TREVISO

ELABORAÇÃO DE PRODUTO ANÁLOGO À KOMBUCHA COM ERVA-MATE

**ENCANTADO
2023**

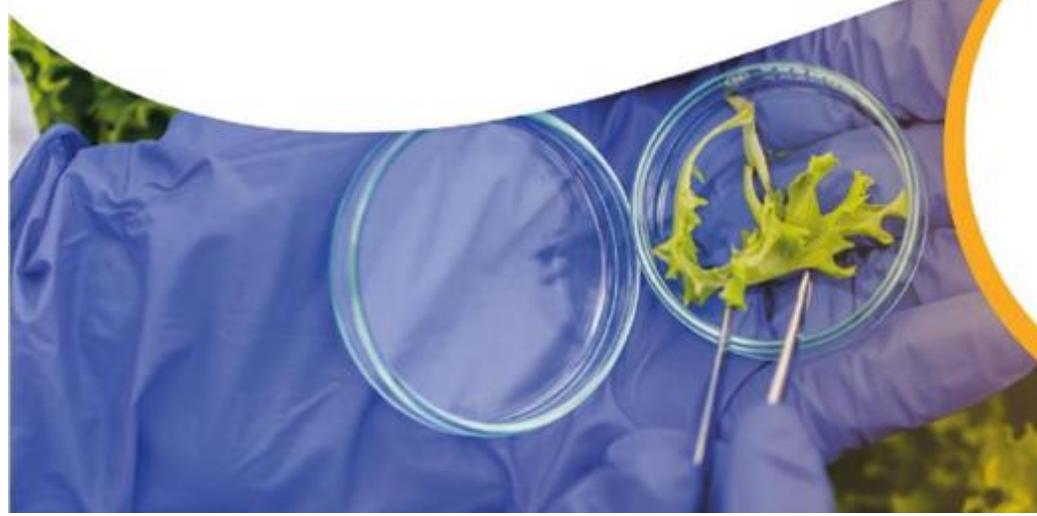


uergs

Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

PPGCTA

Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos



ROCHELE LUANE TREVISO

ELABORAÇÃO DE PRODUTO ANÁLOGO À KOMBUCHA COM ERVA-MATE

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

Orientadora: Prof^ª Lilian Raquel Hickert

Coorientadora: Prof^ª Rosiele L. Padilha

ENCANTADO - RS

2023

Catálogo de publicação na fonte (CIP)

T814e Treviso, Rochele Luane

Elaboração de produto análogo à kombucha com erva-mate/
Rochele Luane Treviso. – Encantado: Uergs, 2023.

58 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Rio
Grande do Sul, Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de
Alimentos, Unidade em Encantado, 2023.

Orientadora: Prof.^a. Dra. Lilian Raquel Hickert

Coorientadora: Prof.^a. Dra. Rosiele L. Padilha

1. Análise sensorial. 2. Bebida fermentada. 3. Etagenômica.
4. Dissertação. I. Hickert, Lilian Raquel. II. Padilha, Rosiele L. III.
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Mestrado
Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Unidade em
Encantado, 2023. IV. Título.

Bibliotecário Marcelo Bresolin CRB 10/2136

ROCHELE LUANE TREVISO

ELABORAÇÃO DE PRODUTO ANÁLOGO À KOMBUCHA COM ERVA-MATE

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

Orientadora: Prof^ª Lilian Raquel Hickert

Coorientadora: Prof^ª Rosiele L. Padilha

Aprovado em: / /

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^ª Lilian Raquel Hickert
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

Coorientadora: Prof^ª Rosiele L. Padilha
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

Profa. Fernanda Cortez Lopes
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

Prof^ª Karla Joseane Perez
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

Prof^ª Voltaire Sant'Anna
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero agradecer a Deus, por nunca ter me faltado força para continuar, e fé para vencer, sou grata pela saúde e proteção.

Aos meus pais, Claudir e Aldanir, que são meus exemplos, a base de tudo em minha vida, obrigada por estarem ao meu lado em todos os momentos, pelo incentivo que ambos me deram e as orações nas situações em que mais precisei.

A minha irmã, que esteve presente em todos os momentos.

A minha orientadora, pelos ensinamentos e dedicação. Aos professores, que contribuíram com seus conhecimentos, dedicação e amizade.

Agradeço também à Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS, RS, Brasil), pelo suporte financeiro, e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil), pela bolsa de estudos (número 21/2551-0000531-9).

Enfim, gostaria de agradecer a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para que este trabalho alcançasse os objetivos propostos.

Muito obrigada!

“O que sabemos é uma gota, o que ignoramos é um oceano”.
(Isaac Newton)

RESUMO

A utilização da erva-mate como base de chá para a produção de kombucha é uma importante alternativa para valorizar uma planta tradicional da América do Sul. O presente trabalho teve como objetivo avaliar as características da kombucha de erva-mate durante a fermentação, monitorando as mudanças de pH, acidez, polifenóis, etanol, ácido acético, perfil sensorial e aceitação até 7 dias de fermentação a 25°C e 30°C. Além disso, foram identificadas culturas simbióticas da microbiota ativa de bactérias e leveduras (SCOBY) no início e no final do bioprocesso. As kombuchas de erva-mate fermentadas a 25°C por 5 dias ou 30°C por 4 dias foram aptas para consumo de acordo com as normas brasileiras. Os teores de ácido acético, etanol e clorofila foram dependentes do tempo e da temperatura de fermentação, ao contrário do teor de fenólicos totais. As principais leveduras e bactérias no SCOBY foram *Brettanomyces bruxellensis* e *Komagataeibacter rhaeticus*, respectivamente, que permaneceram dominantes quando a fermentação foi conduzida por até 7 dias a 25°C ou 30°C. A fermentação da infusão de erva-mate levou a produtos caracterizados por acidez, amargor de vinagre e sabores/aromas fermentados, tornando a aceitação da kombucha de erva-mate não fermentada maior do que infusões fermentadas. Assim, o tempo e as condições de fermentação durante a produção da kombucha de erva-mate devem ser controlados, pois podem afetar negativamente o perfil sensorial e a aceitação da bebida.

Palavras-chave: *Ilex paraguariensis*; Bebida fermentada; Etagenômica; Análise sensorial.

ABSTRACT

The utilization of yerba-mate as a tea base for kombucha production is an important alternative to value a traditional plant in Southern America. The present work aimed to evaluate the features of kombucha yerba-mate during fermentation, monitoring the changes in pH, acidity, polyphenols, ethanol, acetic acid, sensory profile, and acceptance up to 7 days of fermentation at 25°C and 30°C. Moreover, symbiotic culture of active bacteria and yeasts (SCOBY) microbiota at the beginning and the end of the bioprocess were identified. yerba-mate kombuchas fermented at 25°C for 5 days or 30°C for 4 days were suitable for consumption according to Brazilian standards. Acetic acid, ethanol, and chlorophyll contents were dependent on fermentation time and temperature, unlike the total phenolic content. The main yeast and bacteria in SCOBY were *Brettanomyces bruxellensis* and *Komagataeibacter rhaeticus*, respectively, which remained dominant when fermentation was conducted for up to 7 days at 25°C or 30°C. Fermentation of yerba-mate kombuchas infusion led to products characterized by sourness, vinegar bitter, and fermented flavors/aromas, making the acceptance of non-fermented yerba-mate kombuchas higher than fermented infusions. Thus, the time and fermentation conditions during the production of yerba-mate kombucha must be controlled as they may affect negatively the sensory profile and acceptance of the beverage.

Keywords: *Ilex paraguariensis*; Fermented beverage; Metagenomics; Sensory analysis.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Diagrama de fluxo do processo para a produção da bebida kombucha.....20
-
- Figura 2 - Amostras de kombucha de erva-mate T0.....26
- Figura 3 - Abundância relativa das espécies de bactérias (A) e fungos (B) identificadas no início (inicial) e no final da produção de kombucha (7 dias) fermentado a 25°C (T25C) e 30°C (T30C).....33
- Figura 4 - Mapas sensoriais percebidos com base nos atributos da amostra e diferentes tratamentos (A) e aceitação (B), elaborados pela metodologia CATA, de kombucha não fermentada (T0) e fermentada por 4 dias a 25°C (T4d25C) e 30°C (T4d30C) e por 5 dias a 25°C (T5d25C) e 30°C (T5d30C). Os atributos em vermelho são sabores; em verde, aroma; em azul, aparência.....39

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Avaliação das alterações de pH, acidez, turbidez, álcool, ácido acético, glicerol, polifenóis totais e clorofila no análogo de erva-mate kombucha durante o tempo de fermentação a 25°C e 30°C.....31
- Tabela 2 - Perfil dos voluntários envolvidos na análise sensorial (n=74).....35
- Tabela 3 - Tabela de contingência dos atributos da kombucha não fermentada (T0) e fermentada por 4 dias a 25°C(T4d25C) e 30°C (T4d30C) e por 5 dias a 25°C (T4d30C) avaliados pelo método CATA.....36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
±	Desvio Padrão
<	Menor
>	Maior
≤	Menor ou igual
≥	Maior ou igual
°C	Graus Celsius
pH	Potencial hidrogeniônico
mL	Mililitros
cm	Centímetros
g	Gramas
L	Litros
min	Minutos
n°	Número
μL	Microlitro
μm	Micrómetro
m/v	Massa por volume
v/v	Volume por volume
UFC	Unidade Formadora de Colônias
UFC/mL	Unidade Formadora de Colônias por mililitros
UFC/g	Unidade Formadora de Colônias por gramas
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
PCR	Proteína C Reativa
HDL	Lipoproteínas de alta densidade
ppm	Partes por milhão
a.C	Antes de Cristo
d.C	Depois de Cristo
ABKOM	Associação Brasileira de Kombucha
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ANOVA	Análise de Variância
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior

CATA	<i>Check-All-That-Apply</i>
HPLC	<i>High-performance Liquid Chromatography</i>
IN	Instrução Normativa
KBI	<i>Kombucha Brewers International</i>
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mEq/L	Miliequivalentes molares de ácido acético por litro
C ₂₀ H ₁₄ O ₄	Fenolftaleína
NaOH	Hidróxido de sódio
CO ₂	Dióxido de carbono
NTU	Unidades de turbidez nefelométrica
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
SCOBY	<i>Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts</i>
SIPEAGRO	Sistema Integrado de Produtos e Estabelecimentos Agropecuários
UERGS	Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS	16
3.2 KOMBUCHA	17
3.2.1 História	17
3.2.2 Definição	18
3.2.3 A matéria-prima	19
3.2.4 Método de Fabricação	21
3.3 ERVA-MATE	23
3.2.1 Estudos	24
3.3 ALIMENTOS FUNCIONAIS	25
4 METODOLOGIA	27
4.1 MATERIAIS	27
4.2 MÉTODOS	27
4.2.1 Elaboração da kombucha	27
4.2.2 Acidez Total Titulável, pH e Turbidez	28
4.2.3 Quantificação do etanol, ácido acético e glicerol	29
4.2.4 Polifenólicos totais e clorofila	29
4.2.5 Análise de bactérias e fungos em SCOBY por análise metagenômica	30
4.2.6 Análise sensorial	30
4.2.6 Análise estatística	31
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E TECNOLÓGICA.....	32
5.2 CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA	35
5.3 ANÁLISE SENSORIAL	37
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	44
REFERÊNCIAS	45
APÊNDICE 1	52

1 INTRODUÇÃO

Ilex paraguariensis St. Hil. é uma árvore perene sul-americana, cujas folhas e caules secos e moídos resultam na erva-mate. Produto tradicional e cultural no Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentina, a erva-mate é tipicamente usada como uma bebida semelhante ao chá, consumida como *chimarrão*, quando as folhas secas são misturadas com água quente; como *mate*, quando as folhas torradas são misturadas com água quente; e *tererê*, quando as folhas secas são misturadas com água fria (IOMMI, 2021).

Vários estudos ligaram a erva-mate a uma variedade de benefícios para a saúde, incluindo propriedades antioxidantes, função vasodilatadora, proteção do DNA contra danos induzidos por estresses oxidativos, efeitos hiperglicêmicos, inibição da glicose e aterosclerose, conforme relatado recentemente na revisão crítica de Vasconcellos *et al.* (2023). Essas características estão intimamente relacionadas ao perfil fenólico, embora a presença de minerais, vitaminas, aminoácidos, xantinas, saponinas e ácidos orgânicos também seja importante para os benefícios da erva-mate à saúde (ZIELINSKI *et al.*, 2021).

Além disso, a erva-mate é popular por seu efeito estimulante, devido à alta concentração de cafeína (IOMMI, 2021). A clorofila é outro composto importante na erva-mate, principalmente do ponto de vista tecnológico, uma vez que é a principal responsável pela cor verde vívida, e sua degradação leva a tons marrom-esverdeados indesejáveis (ZAIONS *et al.*, 2014).

A kombucha é uma bebida antiga produzida pela fermentação de infusões de *Camellia sinensis* (chás verdes e/ou pretos) por uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras ativas (SCOPY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts*)). É considerada uma bebida funcional devido a suas propriedades anticancerígenas, anti-inflamatórias e antibacterianas, entre outras importantes propriedades promotoras da saúde (VILLARREAL-SOTO *et al.*, 2019; CARDOSO *et al.*, 2020; MIRANDA *et al.*, 2022). Os microrganismos em SCOPY são responsáveis pela produção de compostos importantes, como os ácidos glucurônico, lático e acético, que apresentam habilidades de desintoxicação e proteção hepática e atividade antimicrobiana (HYUN *et al.*, 2016).

As propriedades funcionais das kombuchas aumentaram a demanda dos consumidores pelo produto e, portanto, estima-se que o mercado global de bebidas cresça 3,5% ao ano até 2026 (MORDOR INTELLIGENCE, 2023). Buscando diferenciação de mercado, diversas plantas têm sido utilizadas para valorizar as culturas locais e a biodiversidade, como hortelã,

tília, sálvia (KAYISOGLU; COSKUN, 2021), zijuan (ZOU *et al.*, 2021), entre outras (MIRANDA *et al.*, 2022).

Usar a familiaridade do consumidor com o perfil sensorial das plantas em kombuchas parece ser uma estratégia interessante para valorizar a biodiversidade local, como mostraram Zou *et al.* (2021), que observaram que o zijuan kombucha apresentou maior aceitação do que o chá preto e o chá verde. Além disso, maior aceitação da kombucha de chá de tília do que da kombucha de chá verde foi relatada por um painel sensorial de participantes voluntários locais (KAYISOGLU; COSKUN, 2021).

O tempo e a temperatura são parâmetros críticos para os bioprocessos, embora estudos atuais tenham usado uma ampla gama de valores para avaliar o perfil da kombucha. Neffe-Skocińska *et al.* (2017) estudaram a fermentação de uma combinação de kombucha de chá verde e preto na faixa de 20-30°C por até 10 dias e avaliaram mudanças nos teores de açúcares, pH, bactérias, leveduras, ácidos e etanol. Değirmencioğlu *et al.* (2021) fermentaram chá branco, chá verde, chá oolong, chá preto e chá pu-erh a 30°C por até 15 dias e avaliaram mudanças no teor de polifenóis e nas atividades antioxidantes da bebida. No entanto, informações mais amplas e profundas sobre a fermentação da kombucha são importantes para padronizar melhor o processo e entender o efeito de diferentes condições nas características da bebida.

A caracterização sensorial de alimentos pelos consumidores é uma tendência nas ciências sensoriais, uma vez que várias ferramentas têm sido propostas para avaliar mapas percebidos, fornecendo uma resposta rápida e compreensão de como os consumidores percebem e descrevem alimentos e bebidas (JAEGER *et al.*, 2020). Check-All-That-Apply (CATA) é um método baseado no consumidor e um método descritivo rápido construído sobre atributos específicos (VARELA; ARES, 2018). É uma ferramenta importante para diferenciar e caracterizar diversas bebidas (JAEGER *et al.*, 2020), vinhos (ALENCAR *et al.*, 2018), entre outras.

Neste contexto, mais pesquisas são necessárias para entender profundamente a fermentação da kombucha usando diferentes chás e o efeito de importantes parâmetros de processo nas características do produto. Embora alguns estudos tenham relatado as propriedades antibacterianas e antioxidantes da kombucha de erva-mate (SANTOS JÚNIOR *et al.*, 2009; LOPES *et al.*, 2021), o perfil sensorial e microbiológico não foi relatado. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de duas temperaturas sobre o pH da kombucha de erva-mate, acidez, polifenóis, etanol, ácido acético, perfil sensorial e aceitação através do tempo de fermentação. Além disso, o perfil microbiano SCOBY foi avaliado no

início e no final do bioprocesso. Com base nisso, as propriedades físico-químicas das amostras foram relacionadas e discutidas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo tem como objetivo principal a avaliação da possibilidade de desenvolver um produto análogo a kombucha, com a substituição do chá verde/preto na sua fabricação por erva-mate e, avaliar as características da kombucha de erva-mate durante a fermentação, monitorando sua composição, sua estabilidade físico-química e microbiológica, além de sua aceitação através da análise sensorial.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para a conclusão do objetivo geral deste projeto, seguem os seus objetivos específicos:

- Elaboração da kombucha com erva-mate;
- Análise da estabilidade físico-química;
- Análise da estabilidade microbiológica;
- Análise sensorial e de aceitação da kombucha com erva-mate.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS

A ideia de que alguns alimentos podem ter benefícios além de sua função nutricional básica é antiga e está presente em diversas culturas. No entanto, o conceito moderno de alimentos funcionais surgiu na década de 1980, com o trabalho do cientista japonês Dr. Toshio Shibata. Em 1984, Shibata propôs a ideia de "alimentos para saúde" como uma nova categoria de alimentos que poderiam ajudar a prevenir doenças crônicas. Ele estudou as propriedades benéficas de diferentes alimentos e nutrientes e, com base nesses estudos, criou uma lista de alimentos funcionais (SHIBATA, 1991).

A partir daí, a pesquisa em alimentos funcionais cresceu rapidamente e hoje em dia há uma grande variedade de alimentos que são considerados funcionais, incluindo frutas, vegetais, grãos, lácteos, carnes e peixes. A regulamentação de alimentos funcionais varia de país para país, mas muitos governos têm programas de incentivo à pesquisa e desenvolvimento de alimentos funcionais (SHIBATA, 2000).

No Brasil, a regulamentação de alimentos funcionais é feita pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), que estabelece normas e critérios para o registro, produção e comercialização desses alimentos. A principal norma que trata de alimentos funcionais é a Resolução RDC nº 24/2015, que define os requisitos para a rotulagem, alegações de propriedades funcionais e de saúde desses alimentos (BRASIL, 2015).

Segundo a legislação brasileira, alimentos funcionais são definidos como aqueles que possuem componentes capazes de promover benefícios à saúde além de sua função nutricional básica. Esses componentes podem ser vitaminas, minerais, fibras, ácidos graxos, probióticos, prebióticos, entre outros. Esses alimentos devem ser seguros para o consumo humano e seus benefícios à saúde devem estar comprovados cientificamente (BRASIL, 2005).

A kombucha é reconhecida como um alimento funcional devido à presença de probióticos e outras substâncias bioativas que podem trazer benefícios para a saúde, como a melhora do sistema imunológico e digestivo. Além disso, contém polifenóis e outros antioxidantes que ajudam a combater radicais livres e reduzir o risco de doenças crônicas. Esses benefícios tornam a kombucha uma opção saudável para incluir na dieta, de acordo com estudos sobre alimentos funcionais (MORO, 2019).

Outrossim, de acordo com estudo realizado por Kapp e Sumner (2019), foram revisados 310 artigos na língua inglesa de 1945 a 2018, mostrando que perante à literatura não foi

identificado nenhum estudo controlado em seres humanos que confirmem sua eficiência como um alimento funcional.

Por fim, destaca-se que, da fermentação da kombucha, são obtidos ácido glucurônico, ácido acético, polifenóis, fenóis e vitaminas do complexo B. Estudos feitos *in vitro* e *in vivo* (animais) relatam os benefícios à saúde diante da ingestão da bebida, como o poder antimicrobiano, melhora na funções hepáticas e gastrointestinais, estimulação imunológica, desintoxicação, efeitos antioxidantes, presença de propriedades antitumorais, efeitos profiláticos para a saúde e de recuperação por meio da estimulação imunológica; inibição do desenvolvimento e progressão do câncer, diabetes e doenças cardiovasculares e neurodegenerativas; e função normal do sistema nervoso central (BASCHALI, *et al.*, 2017).

3.2 KOMBUCHA

3.2.1 História

Os primeiros registros indicam que a kombucha tenha sido inicialmente consumida no leste da Ásia, mas foi durante a dinastia Tsin (Ling Chi), em 220 a.C., que a bebida fermentada se originou, sendo consumida devido às suas propriedades energizantes e desintoxicantes (JAYABALAN *et al.*, 2016).

Em 414 d.C., o médico japonês Kombu utilizou o chá para tratar o imperador Inkyo de problemas digestivos, dando origem ao nome kombucha. Com as rotas comerciais, a bebida foi ganhando espaço e começou a ser consumida na Rússia e no leste europeu, ganhando popularidade durante a segunda guerra mundial, onde eram feitas de maneira artesanal (JAYABALAN *et al.*, 2014).

A *Kombucha Brewers International* (KBI), é uma associação comercial sem fins lucrativos que representa a comunidade global de produtores de kombucha. Fundada em 2014, a KBI tem como objetivo promover a indústria de kombucha, fornecer educação e recursos para produtores da bebida e ajudar a estabelecer padrões de qualidade e segurança para a infusão (KBI, 2023).

Já, no Brasil, temos a Associação Brasileira de Kombucha (ABKOM), que desde 2018 tem como missão promover ações de educação, pesquisa, inovação e regulamentação relacionadas ao setor de kombucha no país, trabalhando arduamente para incluir a kombucha na legislação brasileira (ABKOM, 2023a).

3.2.2 Definição

Em 2019, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou a Instrução Normativa nº 41, a qual estabelece os padrões de identidade e qualidade da Kombucha (BRASIL, 2019).

Brasil (2019), por meio da Instrução Normativa nº 41/2019, define a kombucha como:

[...] bebida fermentada obtida através da respiração aeróbia e fermentação anaeróbia do mosto obtido pela infusão ou extrato de *Camellia sinensis* e açúcares por cultura simbiótica de bactérias e leveduras microbiologicamente ativas (SCOBY - *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* - Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras).

A kombucha é obtida por meio da fermentação de um meio doce (sacarose) e da infusão das folhas do chá preto ou verde (*Camellia sinensis*), sendo adicionado com o chá já fermentado conhecido como *starter* e o SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts*) (ZHANG *et al.*, 2021). 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).

O processo de obtenção da kombucha pelo método caseiro leva em torno de 7 a 10 dias, sendo que da fermentação resulta a produção de ácido acético e, em alguns casos, pequenas quantidades de etanol e CO² (FILIPPIS *et al.*, 2018). Este produto é uma bebida funcional sem ou com baixo teor alcoólico, levemente ácida e gaseificada (MAGALHÃES *et al.*, 2018). A kombucha pode ser produzida em casa, de forma artesanal, em pequenas empresas ou em larga escala de forma industrial (ANTOLAK, *et al.*, 2021).

A associação simbiótica de leveduras e bactérias acéticas, conhecida popularmente como "cogumelo do chá" ou "kombucha", recebeu o nome botânico formal de *Medusomyces gisevii* por Lindau. Embora popularmente seja chamado de cogumelo, cientificamente a kombucha não é um cogumelo ou um fungo, mas sim uma rede de fibras de celulose sintetizada pelas bactérias do ácido acético, que se conectam com células bacterianas e de levedura durante a fermentação (JAYABALAN *et al.*, 2014).

3.2.3 A matéria-prima

Devido à matéria-prima utilizada para a fermentação (infusões de chá e extratos vegetais), bem como à variedade de microrganismos, a kombucha é caracterizada pelas suas características funcionais, que incluem o seu poder anti-inflamatório e antioxidante (KAPP; SUMNER, 2019).

Kombucha é uma bebida popular e possui uma variedade de compostos bioativos, incluindo polifenóis, vitaminas, minerais, lipídios, proteínas e diversos produtos metabólicos de leveduras e bactérias. A presença desses compostos bioativos, especialmente os polifenóis, confere à kombucha múltiplas bioatividades, como antioxidante, imunomodulador, anti-hipertensivo, hipoglicemiante, redutor de colesterol, hepatoprotetor, antiproliferativo e antimicrobiano (ZHOU *et al.*, 2022).

A composição dos microrganismos presentes na kombucha varia de região para região, dependendo da disponibilidade de bactérias e leveduras simbióticas. Algumas das bactérias predominantes relatadas em kombucha incluem *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Acetobacter aceti* e *Gluconobacter oxydans*. Novas espécies de bactérias, como *Acetobacter intermedium*, *Acetobacter nitrogenifigens* e *Gluconoacetobacter kombuchae*, também foram isoladas a partir da kombucha. As bactérias presentes em amostras de kombucha foram encontradas em várias partes do mundo, incluindo Canadá, Irlanda, Estados Unidos e Reino Unido (JAYABALAN *et al.*, 2014).

Para poder fazer a comercialização de bebidas, o estabelecimento deve estar registrado junto ao MAPA, devendo também estar de acordo com a lei nº 8.918, de 14 de Julho de 1994 (BRASIL, 1994), e com o decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, o qual dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Os produtores devem estar cadastrados no Sistema Integrado de Produtos e Estabelecimentos Agropecuários (SIPEAGRO), da mesma forma que os produtos também devem estar registrados na plataforma (BRASIL, 2019).

Não há dados precisos sobre o número exato de empresas que produzem kombucha no Brasil, uma vez que se trata de um mercado em expansão e em constante mudança. No entanto, é possível afirmar que existem diversas marcas que comercializam a bebida no país, tanto em lojas físicas como *online*. Algumas dessas marcas são nacionais e outras internacionais, que também atuam no mercado brasileiro. Além disso, muitas pessoas têm produzido kombucha em casa, o que tem popularizado ainda mais a bebida (ABKOM, 2023b).

A produção de kombucha tem aumentado em todo o mundo nos últimos anos, impulsionada pelo crescente interesse em alimentos e bebidas naturais e saudáveis. No entanto, não há dados precisos sobre a produção global de kombucha, já que se trata de um mercado fragmentado e ainda em desenvolvimento em muitos países. O segmento tem um caminho próspero, tendo um crescimento contínuo de 30% no canal natural e 50% (ou mais) no canal convencional, ano após ano, sendo a categoria de bebidas funcionais que mais cresce no mundo (KBI, 2023).

De acordo com um relatório de 2020 da empresa de pesquisa de mercado *Zion Market Research*, o mercado global de kombucha deve crescer a uma taxa anual composta de cerca de 25,1% entre 2021 e 2028, alcançando um valor de cerca de 12,2 bilhões de dólares em 2028. Os principais produtores e consumidores de kombucha incluem os Estados Unidos da América, Europa, Rússia, China e Japão. Além disso, a produção e o consumo de kombucha estão crescendo em países como Brasil, Austrália, Nova Zelândia e África do Sul.

Da mesma forma, não se tem dados precisos sobre o consumo mundial de kombucha, já que a bebida pode ser produzida em casa e não ser registrada em nenhuma estatística oficial. No entanto, o mercado de kombucha tem crescido significativamente nos últimos anos com o aumento da postura social acerca da saúde física por meio da ingestão de produtos naturais, deixando de lado o consumo de bebidas industrializadas. Segundo um relatório de 2020 da *Grand View Research*, espera-se que o mercado global de kombucha cresça a uma taxa composta anual de 23% de 2020 a 2027.

A Instrução Normativa nº 41/2019, do MAPA, estabelece os padrões de identidade e qualidade para a produção e comercialização de bebidas não alcoólicas fermentadas, incluindo a kombucha. De acordo com a normativa, os padrões físico-químicos e microbiológicos da kombucha são os seguintes (BRASIL, 2019):

Padrões físico-químicos:

- pH: entre 2,5 e 4,6;
- Acidez total: mínimo de 0,5 g/100 mL;
- Álcool: máximo de 0,5% em volume;
- Açúcares redutores: máximo de 10 g/100 mL; e
- Extrato seco: mínimo de 0,6 g/100 mL.

Padrões microbiológicos:

- *Coliformes totais*: ausência em 100 mL;
- *Salmonella spp.*: ausência em 25g;

- *Staphylococcus aureus*: ausência em 1 g;
- *Listeria monocytogenes*: ausência em 25g; e
- Bolores e leveduras: máximo de 100 UFC/mL ou 100 UFC/g.

A kombucha ainda deve conter como ingredientes obrigatórios água, infusão ou extrato aquoso de *Camellia sinensis*, açúcares e cultura simbiótica de bactérias e leveduras (SCOBY) adequadas para a fermentação alcoólica e acética, desde que garantida a sua inocuidade à saúde humana. Ainda de acordo com o MAPA, a Kombucha pode ser classificada como bebida alcoólica quando seu teor alcoólico for maior que 0,5% v/v e menor que 8% v/v (BRASIL, 2018). Vale ressaltar que esses padrões são os mínimos exigidos pela normativa e que as empresas tem a liberdade para adotar padrões mais rigorosos para garantir a qualidade e segurança do produto. Além disso, é importante seguir boas práticas de higiene na produção da kombucha para prevenir a contaminação por microrganismos indesejáveis (BRASIL, 2018).

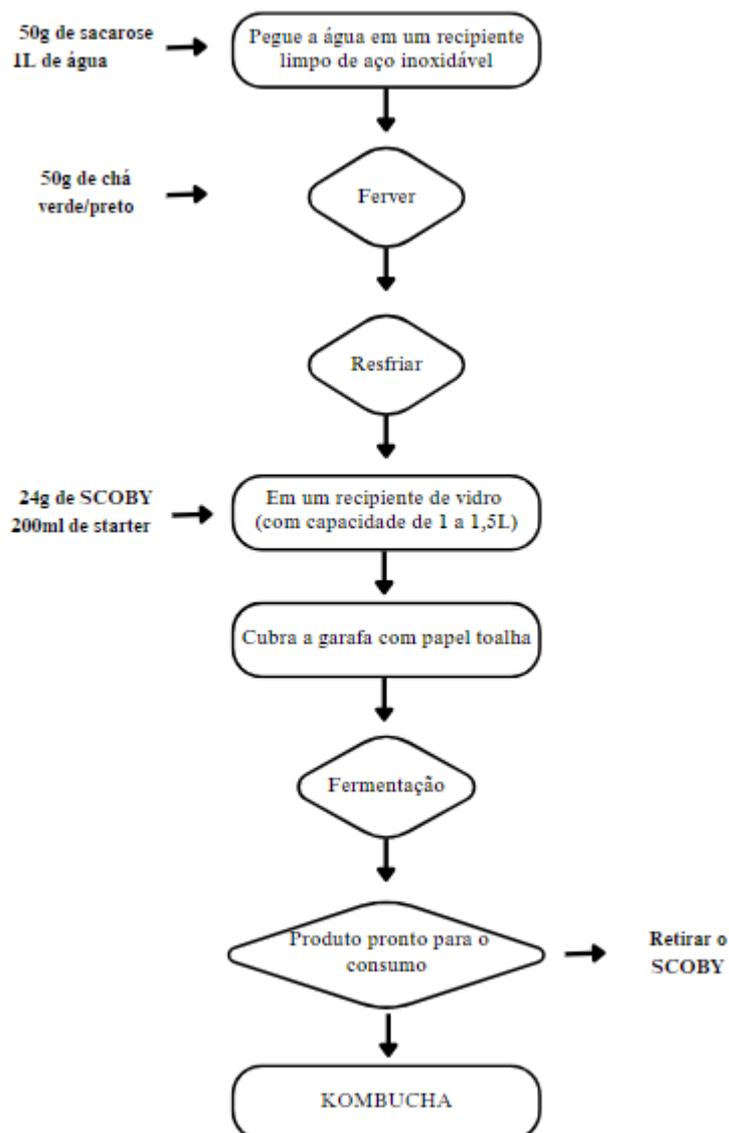
A kombucha é uma bebida que apresenta propriedades nutricionais e sensoriais interessantes, mas sua composição pode variar significativamente em função dos fatores envolvidos na sua produção. Essas variações podem afetar diretamente as possíveis potencialidades nutricionais e terapêuticas da bebida. Portanto, é importante considerar as diferentes formulações e preparos de kombucha ao avaliar seus possíveis benefícios para a saúde (PEREIRA *et al.*, 2021).

Segundo estudo publicado na revista *Food Research International*, as propriedades nutricionais e funcionais da kombucha variam consideravelmente em função dos fatores envolvidos em sua produção, como a linhagem do microrganismo envolvido na fermentação, o tempo de fermentação, a temperatura e os ingredientes adicionados, tais como frutas e ervas. Portanto, a composição química da kombucha pode variar bastante, o que pode afetar suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (WANG *et al.*, 2018).

3.2.4 Método de Fabricação

A kombucha pode ser feita com chá preto ou verde, um método padrão foi descrito por Jayabalan *et al.*, (2014), sendo apresentado na Figura 01.

Figura 01 - Diagrama de fluxo do processo para a produção da bebida kombucha.



Fonte: Autor (2023).

O processo de fabricação começa com a infusão do chá, onde deve ser levado ao fogo em um recipiente de aço inoxidável 1 litro de água e 50g de sacarose. Após levantar fervura, adicionar 5g de chá verde/preto e deixar ferver por 5 minutos, devendo ser peneirado ao final do processo, para facilitar o processo, o chá utilizado pode ser de sachê. A infusão deve ser resfriada até a temperatura ambiente, entre 20°C a 22°C (MORSHEDI; DASHTI-RAHMATABADI, 2010; JAYABALAN *et al.*, 2014).

Em um recipiente de vidro esterilizado, com capacidade para 1L/1,5L, deve-se adicionar a infusão, o SCOBY e o *starter* (chá onde estava o scoby por um período de 14 dias, também conhecido como chá de arranque) (JAYABALAN *et al.*, 2014). Segundo Dutta e Paul (2019),

a utilização do *starter* se faz para ter um melhor controle do crescimento de microrganismos contaminantes indesejáveis, já que o mesmo possui um pH baixo. O recipiente deve ser coberto com papel toalha para evitar a entrada de insetos, uma vez que o produto chama atenção das moscas da espécie *Tephritidae*, popularmente conhecidas como moscas das frutas, e *Drosophila*, que são atraídas pela solução ácida adoçada e acabam contaminando o meio.

O processo de fermentação ocorre em um período de 7 a 10 dias em temperatura ambiente. Todavia, se a fermentação continuar além dos 10 dias, a acidez pode chegar a níveis que são potencialmente prejudiciais à saúde (GREENWALT *et al.*, 2000; NUMMER, 2013).

O próximo passo é a retirada do SCOBY, que pode ser utilizado em uma nova fermentação, o produto final é a kombucha, uma bebida levemente carbonatada composta por ácidos orgânicos, vitaminas, minerais e componentes do chá, lembrando o sabor da sidra. Ela pode ser consumida de forma “natural” ou pode ser saborizada (GREENWALT *et al.*, 2000).

3.3 ERVA-MATE

A erva-mate, cientificamente conhecida como *Ilex paraguariensis*, é uma árvore perene da família *Aquifoliaceae*, nativa da região subtropical da América do Sul, principalmente do Paraguai, Argentina e Brasil. Ela pode atingir até 15 metros de altura e possui folhas verdes escuras, coriáceas e brilhantes, com bordas serrilhadas. Suas flores são pequenas, brancas e perfumadas, e seus frutos são drupas vermelhas ou pretas, comestíveis e muito apreciados por algumas aves e mamíferos (LORENZI, 2002).

Ela é conhecida por suas propriedades estimulantes, e é amplamente utilizada na forma de infusão, chamada de chimarrão ou tereré, especialmente no sul do Brasil, onde é considerada uma bebida tradicional. A erva-mate é consumida há séculos pelas populações indígenas da América do Sul, e atualmente é uma importante *commodity* para os países produtores, sendo exportada para diversos lugares do mundo (ARAÚJO, 2006).

De acordo com Guariento *et al.*, (2017), a composição da erva-mate pode variar dependendo do tipo de planta e do processo de produção, mas, em geral, a erva-mate contém:

- Cafeína: um estimulante natural que pode melhorar a disposição e aumentar a energia.
- Teobromina: um alcaloide que também está presente no chocolate e tem efeito estimulante e diurético.
- Teofilina: uma substância com propriedades broncodilatadoras, que pode ajudar a melhorar a respiração.

- Vitaminas e minerais: a erva-mate contém vitaminas A, B1, B2, B3, C e E, além de minerais como cálcio, ferro, magnésio e potássio.
- Antioxidantes: a erva-mate é rica em compostos antioxidantes, como os ácidos fenólicos e as catequinas, que podem ajudar a combater os radicais livres e proteger o corpo contra danos celulares.
- Ácido clorogênico: uma substância com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, que pode ajudar a melhorar a saúde cardiovascular e a regular os níveis de glicose no sangue.

3.2.1 Estudos

O estudo de Boaventura *et al.* (2019) investigou a relação entre o consumo de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e a densidade mineral óssea em mulheres pós-menopáusicas. As participantes, que totalizaram 146 mulheres com idade média de 61 anos, tiveram a densidade mineral óssea da coluna lombar e do quadril medida, além de terem seu consumo de erva-mate avaliado. Os resultados indicaram que o consumo regular de erva-mate estava associado a uma maior densidade mineral óssea na coluna lombar e no quadril. Com base nesses achados, os autores sugerem que o consumo de erva-mate pode ser uma abordagem fácil e acessível para prevenir a perda óssea em mulheres pós-menopáusicas.

Estudo realizado por de Moraes *et al.* (2019) teve como objetivo avaliar o efeito da ingestão de erva-mate sobre os parâmetros lipídicos e marcadores inflamatórios em mulheres com sobrepeso. Os resultados mostraram que a ingestão de erva-mate levou a uma redução significativa nos níveis de colesterol total, colesterol LDL, triglicerídeos e PCR (proteína C Reativa), um marcador de inflamação. Além disso, houve um aumento significativo no colesterol HDL (conhecido como "bom colesterol"). Os autores concluíram que a ingestão de erva-mate pode ter um efeito benéfico na melhora dos parâmetros lipídicos e na redução da inflamação em mulheres com sobrepeso.

Gambero e Ribeiro (2015) realizaram uma revisão de vários estudos que demonstravam que a erva-mate pode ter um efeito positivo na prevenção e tratamento da obesidade. Os autores destacam que a erva-mate contém compostos bioativos, como cafeína, teobromina e ácido clorogênico, que podem ter efeitos benéficos na regulação do peso corporal, incluindo a redução do apetite, aumento da oxidação de gordura e melhora da sensibilidade à insulina. Além disso,

a erva-mate também pode ajudar a reduzir o estresse oxidativo, a inflamação e o risco de doenças cardiovasculares associados à obesidade.

O artigo "The effects of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) on the cardiovascular, respiratory and central nervous systems: A systematic review", de Souza e colaboradores, publicado em 2020 no *Journal of Ethnopharmacology*, realizou uma revisão sistemática dos estudos que investigaram os efeitos da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) no sistema cardiovascular, respiratório e nervoso central. Os resultados mostraram que o consumo de erva-mate pode ter efeitos benéficos sobre a saúde cardiovascular, incluindo a redução da pressão arterial e dos níveis de colesterol. Além disso, a erva-mate também demonstrou efeitos positivos sobre a função pulmonar e a atividade cerebral (SOUZA *et al.*, 2020).

Para Mazzafera (2013), a erva-mate é uma das plantas medicinais mais importantes do Brasil e de países vizinhos, sendo utilizada principalmente como estimulante do sistema nervoso central e diurético.

3.3 ALIMENTOS FUNCIONAIS

A ideia de que alguns alimentos podem ter benefícios além de sua função nutricional básica é antiga e está presente em diversas culturas. No entanto, o conceito moderno de alimentos funcionais surgiu na década de 1980, com o trabalho do cientista japonês Dr. Toshio Shibata. Em 1984, Shibata propôs a ideia de "alimentos para saúde" como uma nova categoria de alimentos que poderiam ajudar a prevenir doenças crônicas. Ele estudou as propriedades benéficas de diferentes alimentos e nutrientes e, com base nesses estudos, criou uma lista de alimentos funcionais (SHIBATA, 1991).

A partir daí, a pesquisa em alimentos funcionais cresceu rapidamente e hoje em dia há uma grande variedade de alimentos que são considerados funcionais, incluindo frutas, vegetais, grãos, lácteos, carnes e peixes. A regulamentação de alimentos funcionais varia de país para país, mas muitos governos têm programas de incentivo à pesquisa e desenvolvimento de alimentos funcionais (SHIBATA, 2000).

No Brasil, a regulamentação de alimentos funcionais é feita pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), que estabelece normas e critérios para o registro, produção e comercialização desses alimentos. A principal norma que trata de alimentos funcionais é a Resolução RDC nº 24/2015, que define os requisitos para a rotulagem, alegações de propriedades funcionais e de saúde desses alimentos (BRASIL, 2015).

Segundo a legislação brasileira, alimentos funcionais são definidos como aqueles que possuem componentes capazes de promover benefícios à saúde além de sua função nutricional básica. Esses componentes podem ser vitaminas, minerais, fibras, ácidos graxos, probióticos, prebióticos, entre outros. Esses alimentos devem ser seguros para o consumo humano e seus benefícios à saúde devem estar comprovados cientificamente (BRASIL, 2005).

A kombucha é reconhecida como um alimento funcional devido à presença de probióticos e outras substâncias bioativas que podem trazer benefícios para a saúde, como a melhora do sistema imunológico e digestivo. Além disso, contém polifenóis e outros antioxidantes que ajudam a combater radicais livres e reduzir o risco de doenças crônicas. Esses benefícios tornam a kombucha uma opção saudável para incluir na dieta, de acordo com estudos sobre alimentos funcionais (MORO, 2019).

Outrossim, de acordo com estudo realizado por Kapp e Sumner (2019), foram revisados 310 artigos na língua inglesa de 1945 a 2018, mostrando que perante à literatura não foi identificado nenhum estudo controlado em seres humanos que confirmem sua eficiência como um alimento funcional.

Por fim, destaca-se que, da fermentação da kombucha, são obtidos ácido glucurônico, ácido acético, polifenóis, fenóis e vitaminas do complexo B. Estudos feitos *in vitro* e *in vivo* (animais) relatam os benefícios à saúde diante da ingestão da bebida, como o poder antimicrobiano, melhora na funções hepáticas e gastrointestinais, estimulação imunológica, desintoxicação, efeitos antioxidantes, presença de propriedades antitumorais, efeitos profiláticos para a saúde e de recuperação por meio da estimulação imunológica; inibição do desenvolvimento e progressão do câncer, diabetes e doenças cardiovasculares e neurodegenerativas; e função normal do sistema nervoso central (BASCHALI, *et al.*, 2017).

4 METODOLOGIA

4.1 MATERIAIS

Para a preparação de bebida de chá kombucha para esta pesquisa, todos os produtos químicos utilizados eram de grau analítico e estavam disponíveis no laboratório de química da Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS), unidade em Encantado-RS.

A cultura SCOBY foi adquirida de um pequeno produtor de kombucha local da cidade de Encantado-RS.

O restante dos ingredientes, como açúcar, água, erva-mate foram adquiridos em um mercado local da cidade de Guaporé-RS.

A erva mate utilizada era do tipo moída grossa, sem açúcar - marca Amizade, lote dezembro de 2022 - validade: 05 abril de 2023.

Água mineral - marca Hortênsias, 5 L., lote 28/02/22.

Açúcar cristal - marca União, lote 041122, validade 04/11/24.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Elaboração da kombucha

Por ser um produto com ausência de chá preto ou verde, o presente trabalho não pode ser chamado de kombucha segundo a legislação atual, sendo assim um produto análogo.

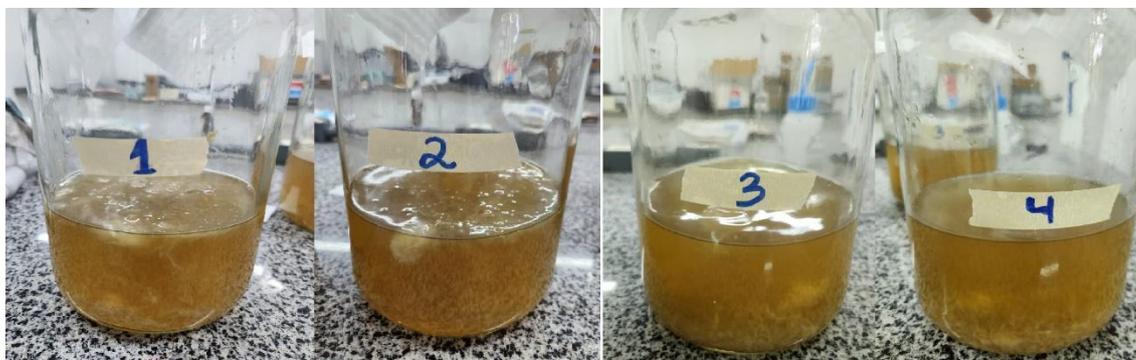
Para a elaboração do nosso produto análogo a kombucha, foi utilizado 7g de erva-mate por 1,6% de SCOBY, 6% de açúcar e 10% de base.

O chá foi preparado fervendo 1L de água destilada, após a fervura, foi adicionado 28,03g de erva-mate e deixado em infusão por 10 min. O chá foi filtrado para separação dos sólidos e transferido para um frasco de vidro estéril (5L), onde foi adicionado mais 3L de água destilada e deixado resfriar. Enquanto isso, foi feita a pesagem em balança analítica (SHIMADZU) do SCOBY e do açúcar, 60g de cada, mais 100 ml da base, sendo este processo feito 4 vezes, colocados em 4 frascos de vidro estéril (5 L).

Após, foi realizada a colocação de 1 L de chá em cada frasco, sendo coberto com uma toalha de papel. Cada frasco foi numerado, cada um recebendo um número de 1 a 4 (Figura 2), onde os frascos 1 e 2 ficaram em temperatura controlada de 32°C e os frascos 3 e 4 ficaram em

uma temperatura de 25°C, ao longo de 7 dias, sendo feita a retirada de 10ml de cada frasco todos os dias para análises posteriores.

Figura 2 - Amostras de kombucha de erva-mate no T0



Fonte: Autor (2023).

4.2.2 Acidez Total Titulável, pH e Turbidez

A acidez total titulável foi feita por volumetria com indicador, conforme descrito em Brasil (1981), onde 5 ml da amostra foram adicionados em um erlenmeyer juntamente com 10 ml de água destilada e 5 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína (C₂₀H₁₄O₄) a 1% (m/v), que foi utilizada como indicador. Realizou-se a homogeneização seguindo para a titulação com a solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N até aparecimento de coloração rosada persistente por aproximadamente 30 segundos. Seguindo para o cálculo % de ácido:

$$\% \text{ de ácido} = \frac{n \cdot f \cdot N \cdot 1000}{V}$$

Onde:

V = volume da solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação, em mL;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 N (normalidade real dividida por 0,1);

1000 = fator de conversão do ácido;

m = massa da amostra na alíquota, em gramas ou em mL

A determinação do pH foi feito de acordo com a metodologia descrita em Brasil (1981), onde foram pipetados 5 mL de cada amostra e colocadas em béquers de 50 mL, sendo feita a leitura do pH em aparelho pHmetro digital de bancada (PHOX P1000, Colombo, PR, Brasil), calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0.

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

4.2.3 Quantificação do etanol, ácido acético e glicerol

As concentrações de etanol, glicerol e ácido 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 e uma taxa de fluxo de 0,6 mL/min. As 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. Os produtos químicos para HPLC foram obtidos da Sigma-Aldrich (Saint Louis, Missouri, EUA).

4.2.4 Polifenólicos totais e clorofila

Os polifenólicos totais foram medidos pela reação de 40mL das amostras com 4,5mL de água destilada, 600mL do reagente Folin-Ciocalteau (Êxodo Científica, Sumaré, SP, Brasil) e 200µL de solução saturada de carbonato de sódio (SINGLETON; 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 de ácido gálico equivalente por mL (mg GAE/L). A análise da clorofila total foi realizada de acordo com Lichtenthaler (1987). A amostra foi diluída em água destilada (1:1 v/v) e as absorvâncias foram lidas em um espectrofotômetro UV-Vis nos comprimentos de onda de 647 e 663 nm. As clorofilas totais foram calculadas de acordo com a Equação 1 e expressas em mg/L.

$$Total\ Chl = 7.15 \times A_{663} + 18.71 \times A_{647} \quad (1)$$

Onde: A₆₆₃ e A₆₄₇ referem-se às absorvâncias de dados de comprimento de onda de 663 e 647 nm, respectivamente.

4.2.5 Análise de bactérias e fungos em SCOBY por análise metagenômica

Na análise de bactérias e fungos no SCOBY por análise metagenômica, amostras de 100g de SCOBY foram coletadas antes da inoculação e após 7 dias a 25°C ou 30°C. A identificação das bactérias foi realizada por meio do sequenciamento de alta performance das regiões v3/v4 do gene 16S rRNA. As bibliotecas foram preparadas de acordo com um protocolo da Neoprosecta Microbiome Technologies, e à amplificação foi realizada com primers para a região v3-v4 do gene 16S rDNA, 341f (CCTACGGGRSGCAGCAG) [16] e 806r (GGACTACHVGGGTWTCTAAT). As bibliotecas foram sequenciadas com o equipamento MiSeq Sequencing System (Illumina Inc., EUA) e as sequências analisadas com o pipeline Sentinel.

Para as análises de fungos, foram realizadas as identificações taxonômicas com blastn v.2.6.0+ [18], utilizando como referência um banco de dados da empresa Neoprosecta®. Para identificar as espécies de microrganismos presentes nas amostras, as sequências de DNA obtidas foram comparadas com um banco de dados contendo outras sequências de DNA de espécies já caracterizadas. O sequenciamento foi realizado no equipamento MiSeq Sequencing System (Illumina).

4.2.6 Análise sensorial

Os testes sensoriais foram realizados no dia 06 de março de 2023 na Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS), localizada no município de Encantado-RS.

Antes da participação, todos os voluntários leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, concordando em participar e afirmando que não estavam dentro do grupo de risco (lactante e gestante). O procedimento experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética da UERGS (certificado de aprovação número 60158422.5.0000.8091).

Amostras padronizadas não identificadas da infusão não fermentada (T0), bebida fermentada por 4 dias a 25°C (T4d25C) e 30°C (T4d30C) e por 5 dias a 25°C (T5d25C) foram apresentadas em copos plásticos descartáveis para setenta e quatro (n=74) voluntárias (maiores de 18 anos, não grávidas, não lactantes e interessadas em participar).

Os painelistas foram instruídos a provarem as amostras da esquerda para a direita, tomando água entre cada amostra, e avaliarem os termos sensoriais que perceberam em cada bebida. A ficha da análise sensorial encontra-se no apêndice 01.

Para caracterização sensorial das amostras, utilizou-se a análise CATA e a aceitação global foi por meio de uma escala hedônica estruturada de 9 pontos, que representou variação de “gostei muitíssimo” (9) até “desgostei muitíssimo” (1). Os participantes também verificaram todos os termos sensoriais que perceberam em cada bebida, com base em 23 termos sensoriais levantados anteriormente por um grupo focal, conforme proposto por Varela e Ares (2018). Os termos foram agrupados em aparência (5 termos: turbidez, cor amarela, cor verde, cor clara, gaseificado), aroma (8 termos: vinagre, frutas cítricas, ácido, cheiro suave, fermentado, grama, chá verde e alcoólico), sabor (doce, azedo, ácido, amargo, vinagre, suave, chá verde, fermentado e alcoólico) textura (1 termo: consistente).

4.2.6 Análise estatística

As alterações estatísticas dos parâmetros físico-químicos através do tempo de fermentação foram realizadas por análise de variância two-way (ANOVA), seguida do teste de Tukey. Os valores para cada tempo de ensaio e temperaturas de fermentação foram comparados pelo teste t de Student. As diferenças foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$.

Para avaliar as diferenças estatísticas nas taxas de aceitação dos voluntários, as médias foram avaliadas por ANOVA two-way e teste de Fisher ($p \leq 0,05$). Na ANOVA, as amostras foram consideradas efeito fixo e os consumidores efeito aleatório. A normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias foram avaliadas pelos testes F máximo de Shapiro-Wilk e Hartley, respectivamente, e foram consideradas satisfatórias 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 verificaram para descrever cada amostra, e o teste Q de Cochran não paramétrico foi aplicado para detectar diferenças na percepção dos consumidores sobre as amostras avaliadas. As diferenças foram consideradas estatisticamente diferentes quando $p \leq 0,05$. O teste Q de Cochran e a AC foram realizados no software XLSAT (Addinsoft, Nova York, EUA, versão 2022.3.1 - <https://www.xlstat.com/en>) e análise ANOVA no software R, versão 4.0.5 (31-03-2021) (www.r-project.org/).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E TECNOLÓGICA

As amostras foram avaliadas quanto a alterações físico-químicas, tecnológicas, polifenóis totais e clorofilas durante a fermentação a 25°C e 30°C, e os resultados estão resumidos na Tabela 1.

O pH inicial foi de $3,34 \pm 0,01$ e foi diminuído até o final da fermentação em ambas as temperaturas. A fermentação a 30°C resultou em menor pH ($2,76 \pm 0,04$) em comparação com 25°C ($2,92 \pm 0,05$). Em um estudo preliminar, a kombucha erva-mate atingiu valores de pH próximos a 2,75 após 8 dias de fermentação e o decaimento mais rápido dos valores de pH foi associado a mudanças de temperatura de 20°C a 30°C (LOPES *et al.*, 2021).

O aumento da acidez durante a fermentação da kombucha está relacionado à formação de ácidos orgânicos (NEFFE-SKOCIŃSKA *et al.*, 2017). A temperatura influenciou a acidez das bebidas, pois a fermentação a 30°C apresentou valores mais elevados, e a acidez desta amostra está relacionada a maior produção de ácido acético. A produção deste tipo de ácido na kombucha depende do acúmulo de etanol. Lopes *et al.*, (2021) observaram um padrão semelhante, embora as mudanças na concentração de erva-mate tenham influenciado a taxa aumentada da acidez de ambos.

Durante o processo de fermentação, as leveduras hidrolisam a sacarose em glicose e frutose e usam esses monossacarídeos para produzir etanol e dióxido de carbono. O etanol produzido é oxidado em ácido acético por bactérias apresentadas em SCOBY, como *K. rhaeticus* e *K. hansenii* (GREENWALT *et al.*, 1998; NEFFE-SKOCIŃSKA *et al.*, 2017). Os resultados obtidos no presente trabalho indicam que o processo de fermentação é mais rápido em temperaturas mais elevadas (Tabela 1).

A regulamentação brasileira estabelece que a kombucha deve apresentar acidez volátil na faixa de 30-130 miliequivalentes molares de ácido acético por litro (mEq/L) e pH entre 2,5 e 4,2, enquanto o teor de etanol deve ser inferior a 0,5% para ser rotulado como bebida não alcoólica (BRASIL, 2019).

Tabela 1 - Avaliação das alterações de pH, acidez, turbidez, álcool, ácido acético, glicerol, polifenóis totais e clorofila no análogo de erva-mate kombucha durante o tempo de fermentação a 25°C e 30°C.

Tempo (dias)	Temperatura	pH	Acidez (mEq/L)	Turbidez	Alcool (g/L)	Ácido Acético (g/L)	Glicerol (g/L)	Polifenóis Totais (mg GAE/L)	Clorofila (mg/L)
0	25 °C	3.37±0,0 _{Aa}	26.9±1,40 ^{Af}	36.5±2,12 _{Ac}	0.141±0,1 _{9Ag}	0.549±0,03 _{Af}	nd	635.77± _{Aa}	14.00±1,88 _{Aa}
	30 °C	3.32±0,2 _{Aa}	26.9±4,22 ^{Ag}	37.0±7,07 _{Ac}	0.407±0,0 _{7Ag}	0.645±0,03 _{Ae}	nd	637.79 _{Aa}	13.21±1,29 _{Aa}
1	25 °C	3.26±0,2 _{Ab}	26.9±4,22 ^{Bf}	33.5±2,12 _{Ac}	0.361±0,0 _{3Bf}	0.582±0,0 ^{Af}	nd	636.27 _{Aa}	13.96±1,69 _{Aa}
	30 °C	3.24±0,0 _{7Aa}	30.9±1,40 ^{Af}	33.5±2,12 _{Ac}	0.530±0,0 _{7Af}	0.582±0,07 _{Ae}	nd	646.62 _{Aa}	12.89±1,13 ^{Aa}
2	25 °C	3.14±0,0 _{2Ac}	58.0±5,98 ^{Be}	32.5±0,70 _{Ac}	1.921±0,3 _{1Be}	0.687±0,12 _{Be}	0.216±0,03 _{Be}	636.27 _{Aa}	13.77±1,82 _{Aab}
	30 °C	3.03±0,0 _{2Bb}	64.7±7,03 ^{Be}	34.0±1,41 _{Ac}	2.442±0,0 _{3Ae}	1.764±0,04 _{Ad}	0.412±0,0 ^{Ae}	631.98 _{Aa}	12.83±1,65 _{Aab}
3	25 °C	3.01±0,0 _{Ad}	68.7±1,40 ^{Bd}	72.0±9,89 _{Bb}	2.078±0,5 _{8Bd}	0.812±0,25 _{Bd}	0.241±0,10 _{Bd}	636.27 _{Aa}	12.52±1,22 _{Ab}
	30 °C	2.89±0,0 _{Bc}	98.5±4,22 ^{Ad}	92.5±3,53 _{Ab}	2.526±0,0 _{6Ad}	1.599±0,03 _{Ad}	0.385±0,0 ^{Ad}	632.99 _{Aa}	12.78±1,71 _{Ab}
4	25 °C	2.95±0,0 _{Ae}	87.6±5,62 ^{Bc}	67.5±3,53 _{Bb}	3.297±0,0 _{6Ac}	1.446±0,62 _{Bc}	0.412±0,04 _{Bc}	644.60 _{Aa}	11.75±0,95 _{Ac}
	30 °C	2.84±0,1 _{Bd}	124.4±7,03 _{Ac}	86.0±5,65 _{Ab}	2.748±0,7 _{0Bc}	2.431±0,56 _{Ac}	0.436±0,10 _{Ac}	640.82 _{Aa}	11.77±1,27 _{Abc}
5	25 °C	2.93±0,0 _{3Af}	126.4±1,40 _{Bb}	83.5±7,77 _{Ba}	3.992±0,8 _{8Ab}	1.728±0,24 _{Bbc}	0.478±0,08 _{Bb}	639.05 _{Aa}	10.35±0,80 _{Ad}
	30 °C	2.78±0,0 _{2Be}	259.7±15,4 _{8Ab}	101.0±1,4 _{1Aa}	3.702±0,6 _{2Ba}	4.173±0,55 _{Ab}	0.610±0,10 _{Ab}	628.96 _{Aa}	10.93±1,04 _{Ac}
7	25 °C	2.92±0,0 _{2Ag}	254.8±19,7 _{0Ba}	82.5±3,53 _{Ba}	5.924±0,7 _{3Aa}	2.994±0,20 _{Ba}	0.678±0,04 _{Aa}	638.29 _{Aa}	10.19±0,91 _{Ad}
	30 °C	2.76±0,0 _{1Bf}	412.0±14,0 _{7Ba}	100.0±7,0 _{7Aa}	3.200±0,1 _{3Bb}	7.053±1,19 _{Aa}	0.691±0,07 _{Aa}	650.15± ^A	9.29±0,32 ^{Ad}

Fonte: Autor (2023).

Seguindo esses padrões, os valores de pH para ambos os ensaios estavam dentro da faixa legal. No entanto, a acidez do análogo da kombucha de erva-mate ficou acima dos limites legais no 5º dia de fermentação a 30°C e no 7º dia a 25°C (Tabela 2). Isso significa que a fermentação a 30 °C pode ser encurtada para 4 dias, o que tem um impacto econômico positivo. Outro motivo para terminar precocemente a fermentação da kombucha de erva-mate a 30°C seria o teor de etanol, que foi inferior a 0,5% no 4º dia, e, portanto, essa bebida é classificada como não alcoólica.

A produção de etanol aumentou durante a fermentação, e a temperatura influenciou na quantidade final deste metabólito. Em comparação com o processo realizado a 30°C, a fermentação a 25°C resultou em kombucha com maior concentração de etanol ($p<0,05$), acima de 0,5%, e menor concentração de ácido acético ($p<0,05$). Esses resultados reforçam que os níveis de etanol durante a fermentação devem ser cuidadosamente analisados para evitar erros

na rotulagem das bebidas e, conseqüentemente, evitar a desinformação para os consumidores, o que frequentemente acontece em kombuchas comerciais (TALEBI *et al.*, 2017; SUHRE *et al.*, 2021).

A produção de glicerol, um metabólito secundário da produção de etanol, foi observada em kombuchas. Este metabólito contribui para o corpo das bebidas e também pode melhorar o seu sabor, embora a quantidade de glicerol produzida neste trabalho (inferior a 1g/L) não seja suficiente para contribuir com essas características (ZHAO *et al.*, 2015).

A turbidez é uma característica industrial importante para bebidas e pode estar relacionada à celulose e ao crescimento microbiano em kombuchas. Neste trabalho, a turbidez aumentou durante o processo de fermentação e foi influenciada pela temperatura. A 30°C, a turbidez foi maior e pode estar relacionada ao maior crescimento microbiano e produção de celulose pelo gênero *Komagataeibacter*, altamente abundante em SCOBY (Figura 1).

O aumento da turbidez da kombucha tem sido observado durante a fermentação (ABACI *et al.*, 2022), no entanto, não há valores relatados na literatura. Comparado com os valores de sucos de romã e morango (29 NTU), observados por Deleri *et al.*, (2023), a kombucha de erva-mate produzida no presente trabalho foi mais turva. Assim, os resultados indicaram que, para aplicações práticas, uma etapa adicional de clareamento, como a filtração, seria interessante para alcançar um produto comercial com maior qualidade.

O teor de compostos fenólicos totais manteve-se constante durante a fermentação ($p > 0,05$) e os valores foram semelhantes a 25°C e 30°C ($p > 0,05$). A quantidade de fenólicos totais aumentou durante a fermentação de kombuchas preparadas com 0,5-1,0% (p/v) erva-mate, embora a taxa de aumento tenha variado de 6%-13% do tempo zero a 12 dias (LOPES *et al.*, 2021).

Değirmencioğlu *et al.* (2021) fermentaram kombucha de chá verde a 30°C por 15 dias e observaram que a fração extraível de polifenóis permaneceu constante por 3 dias, decaiu no 5º dia e permaneceu constante na faixa de período de 5-15 dias. No entanto, a fração hidrolisável foi aumentada nos primeiros onze dias de fermentação e deteriorou-se após esse período, mostrando um padrão semelhante ao observado por Jakubczyk *et al.* (2020).

A diminuição dos polifenóis durante a fermentação pode estar relacionada à oxidação dos compostos devido ao nível de oxigênio e redução do pH (JAYABALAN *et al.*, 2014; DEĞIRMENCIOĞLU *et al.*, 2021). Além disso, os polifenóis podem ser degradados por enzimas microbianas ou condições de acidez em kombuchas, levando à formação de compostos fenólicos de menor peso molecular que, conseqüentemente, aumentam a biodisponibilidade de substâncias fenólicas (CARDOSO *et al.*, 2020).

Fonte: Autor (2023).

Neste estudo, *Komagataeibacter* foi o gênero bacteriano predominante observado em todas as amostras (Figura 3(A)). A espécie de kombucha mais abundante no consórcio inicial de kombucha foi *Komagataeibacter rhaeticus* (84%), seguida por *Komagataeibacter hansenii* (15%). *Gluconobacter oxydans* e *Sphingomonas paucimobilis* representaram menos de 1% da abundância relativa na amostra inicial. Após 7 dias de fermentação a 25°C, *K. rhaeticus* permaneceu como a bactéria predominante (82%) e a população de *K. hansenii* diminuiu, representando 5% da microbiota bacteriana.

A fermentação a 25°C resultou em um perfil bacteriano diferente na kombucha, pois observamos a presença de *G. oxydans*, *Komagataeibacter sucrofermentans* e *Caulobacter sp.*, representando 6%, 2% e 2%, respectivamente. *Agrobacterium tumefaciens*, *Methylobacterium radiotolerans* e *S. paucimobilis* estiveram presentes nesta amostra, representando menos de 1% da abundância relativa. Ao contrário da amostra T7d25C, a fermentação a 30°C aumentou a população de *K. hansenii* para 33% da abundância relativa, e a presença de *G. oxydans* esteve ausente. *K. rhaeticus* permaneceu a espécie predominante nesta amostra (66%).

Entre as leveduras, *Brettanomyces bruxellensis* foi a espécie mais abundante no SCOBY inicial, representando 78% da população, permanecendo prevalente durante a fermentação e representando 86% e 92% de abundância relativa após 7 dias de fermentação a 25°C e 30°C, respectivamente (Figura 3(B)). Leveduras do gênero *Brettanomyces* têm sido relatadas como microrganismos importantes no consórcio kombucha devido à sua capacidade de produzir ácido acético (AGUILAR *et al.*, 2003; AGNOLUCCI *et al.*, 2017).

No entanto, para outras bebidas fermentadas, essas leveduras não-*Saccharomyces* são consideradas microrganismos de deterioração (AGNOLUCCI *et al.*, 2017) e, em relação a esse aspecto, deve-se prestar muita atenção ao perfil sensorial. *Aureobasidium pullulans*, *Myrmecridium schulzeri*, *Naganishia diffluens* e *Naganishia liquefaciens* foram apresentados inicialmente no consórcio de kombucha, no entanto, não foram identificados no final da fermentação. *Pichiaceae sp.* representou 6% da população de leveduras no SCOBY inicial e 1% e 2% após fermentação a 25°C e 30°C, respectivamente; enquanto *Pichia sp.* representou 2%, 7% e 3% no início e no final da fermentação a 25°C e 30°C, respectivamente.

No geral, os resultados sobre a composição da microbiota estavam de acordo com outros estudos. *Komagataeibacter* tem sido relatado como o gênero bacteriano predominante de SCOBY, juntamente com *Acetobacter* e *Gluconacetobacter*. Esses gêneros de bactérias são importantes para a geração da película celulósica em fase sólida do SCOBY e produção de

ácidos orgânicos essenciais ao perfil de sabor típico da kombucha (VILLARREAL-SOTO *et al.*, 2019; FABRÍCIO *et al.*, 2022).

Bactérias produtoras de celulose e leveduras dominantes foram isoladas e caracterizadas a partir de uma cultura de kombucha previamente adaptada ao meio de melaço de cana-de-açúcar. Todos os isolados bacterianos eram de gêneros relacionados, nomeadas, *Komagataeibacter. sp.*, *Komagataeibacter saccharivorans*, *Komagataeibacter xylinus* e *Gluconacetobacter saccharivorans*, enquanto uma única levedura isolada foi identificada como *B. bruxellensis* (ANGELA *et al.*, 2020).

A diversidade taxonômica de SCOBY utilizada por cervejeiros comerciais de kombucha foi investigada para 103 amostras, cuidadosamente coletadas das camadas superior e inferior de SCOBY, revelando que o gênero bacteriano *Komagataeibacter* e o gênero de levedura *Brettanomyces* foram os táxons mais prevalentes e abundantes (HARRISON; CURTIN, 2021). *Komagataeibacter species*, *B. bruxellensis* e *Zygosaccharomyces parabailli* também apresentaram taxas microbianas predominantes em kombuchas de chás verdes, pretos e rooibos (GAGGIÀ *et al.*, 2018).

5.3 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial de ambas as amostras dentro dos padrões regulatórios (4 dias a 25°C, 4 dias a 30°C e 5 dias a 25°C) foi realizada por 74 voluntários, cujo perfil é apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 - Perfil dos voluntários envolvidos na análise sensorial (n=74)
(continua)

	N	%
Gênero		
Masculino	34	45.9
Feminino	40	54.1
Escolaridade		
Ensino fundamental incompleto	7	9.5
Ensino fundamental completo	6	8.1
Ensino médio incompleto	43	58.1
Graduação	18	24.3
Idade		
Média		35.8 ± 14.3 anos
Máxima		75 anos
Mínima		20 anos
Faixa salarial		
Menos de R\$1.380,00	8	11%
Entre R\$1.380,00 e R\$2.760,00	27	36%
Entre R\$2.760,00 e R\$4.140,00	30	40%
<hr/>		
	N	%
Faixa Salarial		
Entre R\$4.140,00 e R\$6.900,00	6	8%
Entre R\$6.900,00 e R\$8.280,00	3	4%
Mais que R\$8.280,00	1	1%
Frequência de consumo		
Todos os dias ou quase todos os dias	0	0.0%
Várias vezes na semana, mas não todos os dias	2	2.7%
Uma vez por semana	0	0.0%
Várias vezes por mês, mas não todas as semanas	7	9.3%
Uma vez ao mês	0	0.0%
Várias vezes ao ano, mas não todos os meses	0	0.0%
Uma ou duas vezes ao ano	7	9.3%
Menos de uma vez ao ano ou nunca	59	78.7%

Fonte: Autor (2023).

Tabela 3 - Tabela de contingência dos atributos da kombucha não fermentada (T0) e fermentada por 4 dias a 25°C(T4d25C) e 30°C (T4d30C) e por 5 dias a 25°C (T5d25C) avaliados pelo método CATA

Atributos		T0	T4d25C	T5d25C	T4d30C	p-value
Apa-rência	Turbidez	11 ^b	26 ^a	22 ^{ab}	27 ^a	0.002
	Cor amarela	47 ^a	31 ^b	38 ^b	29 ^b	0.002
	Cor verde	2 ^a	8 ^a	4 ^a	7 ^a	0.148
	Cor clara	26 ^a	25 ^a	26 ^a	21 ^a	0.735
	Gaseificado	1 ^a	2 ^a	1 ^a	4 ^a	0.392
Aroma	Vinagre	9 ^c	21 ^{bc}	26 ^b	44 ^a	<0.0001
	Frutas cítricas	12 ^b	17 ^{ab}	24 ^a	14 ^{ab}	0.039
	Ácido	6 ^b	12 ^{ab}	20 ^a	22 ^a	0.000
	Cheiro suave	25 ^a	17 ^a	14 ^a	0 ^b	<0.0001
	Fermentado	11 ^a	22 ^a	12 ^a	19 ^a	0.055
	Gramma	2 ^a	2 ^a	2 ^a	1 ^a	0.925
	Chá verde	24 ^a	14 ^{ab}	12 ^b	4 ^b	0.000
	Alcoólico	0 ^a	4 ^a	4 ^a	4 ^a	0.088
Textura	Consistente	1 ^a	4 ^a	5 ^a	2 ^a	0.261
Sabor	Doce	24 ^a	14 ^{ab}	12 ^b	1 ^c	<0.0001
	Azedo	6 ^c	20 ^b	20 ^b	38 ^a	<0.0001
	Ácido	5 ^b	13 ^b	30 ^a	28 ^a	<0.0001
	Amargo	2 ^b	11 ^a	4 ^{ab}	10 ^{ab}	0.015
	Vinagre	4 ^b	12 ^{ab}	16 ^b	28 ^c	<0.0001
	Suave	35 ^a	17 ^b	9 ^{bc}	1 ^c	<0.0001
	Chá verde	23 ^a	10 ^b	8 ^b	6 ^b	<0.0001
	Fermentado	5 ^a	13 ^a	13 ^a	15 ^a	0.078
	Alcoólico	0 ^a	3 ^a	5 ^a	4 ^a	0.072

Fonte: Autor (2023).

A maioria dos consumidores era do sexo feminino (54,1%, n=40); tinha ensino médio completo (58,1%, n=43); média de idade de 35,8 anos (variando de 20 a 75 anos); e tinha renda mensal entre 1 e 3 salários mínimos brasileiros (76,0%, n=57). A maioria dos indivíduos não consumia kombucha com frequência (78,7%, n=59, bebia menos de uma vez por ano ou nunca). Os resultados apresentados na Tabela 3 mostraram que a fermentação tem alto impacto nas características das bebidas.

Em relação à aparência, a turbidez das amostras fermentadas não foi significativamente diferente ($p>0,05$), embora o T5d25C tenha apresentado frequência de citação semelhante ($p<0,05$) à infusão não fermentada (T0). A característica de cor amarela mudou da amostra não fermentada (T0) para amostras fermentadas, e a frequência de citação da cor amarela foi maior

na amostra T0 ($p < 0,05$). A cor verde, a cor clara e os atributos gaseificados não apresentaram diferenças significativas entre as amostras ($p > 0,05$).

Os resultados para análise sensorial contrastam com os resultados instrumentais observados para turbidez e teor de clorofila (Tabela 1), onde foram observadas diferenças estatísticas entre amostras T0 e fermentadas, indicando a importância de uma análise holística de produtos do tipo kombucha em estudos futuros. Uma combinação de chá verde e chá preto fermentado por 10 dias não mostrou diferenças no aspecto de clareza das kombuchas quando a fermentação foi realizada a 20°C, 25°C ou 30°C, embora a intensidade da cor tenha sido menor para a fermentação a 30°C (NEFFE-SKOCIŃSKA *et al.*, 2017).

Em relação ao aroma, o T4d30C apresentou maior ($p < 0,05$) citação do odor de vinagre e, na fermentação a 25°C, o atributo percebido não diferiu por 4 (T4d25C) e 5 dias (T5d25C) ($p > 0,05$). Por outro lado, a infusão não fermentada (T0) não diferiu do T4d25C ($p > 0,05$), mas apresentou menor citação ($p < 0,05$) que o T5d25C. Estes resultados são os mesmos para sabores de vinagre. Neffe-Skocińska, *et al.* (2017), por outro lado, observaram que a fermentação da kombucha de chá verde/preto por 10 dias apresentou menor intensidade de fermentação de odor de vinagre a 30°C do que a 25°C ou 20°C. Esses resultados estão de acordo com a quantidade de ácido acético relatada na Tabela 1, onde valores semelhantes foram observados para amostras fermentadas, embora tenha havido maior teor de ácido acético em T4d25C do que em T0 (Tabela 1).

As kombuchas fermentadas apresentaram aroma de frutos cítricos ($p > 0,05$) comparável, mas a fermentação a 25°C por 5 dias apresentou maior frequência de citação ($p < 0,05$) do que a infusão não fermentada. Resultado semelhante foi observado para odor ácido, mas neste caso, T5d25C e T4d30C apresentaram citações maiores que T0 ($p < 0,05$). O aumento dos odores cítricos, de vinagre e ácido é comum quando leveduras não-*Sacharomyces*, como *Bretanomyces*, são usadas em produtos fermentados, principalmente devido à formação de ácido acético, linalol, álcoois voláteis e ésteres (GSCHAEDLER, 2017).

Para o aroma do chá verde, os resultados mostraram que T0 e T4d25C não foram significativamente diferentes ($p > 0,05$), mas T5d25C e T4d30C apresentaram menor frequência de citação. Os aromas fermentados, de grama e alcoólicos, bem como a textura de consistência, não diferiram entre as amostras ($p > 0,05$). Os sabores fermentados e alcoólicos também não diferiram entre as amostras ($p > 0,05$).

Em relação aos atributos de sabor, a doçura foi maior em T0, mostrando diferenças significativas em relação a T5d25C e T4d30C ($p < 0,05$), mas não com T4d25C ($p > 0,05$). O consumo de açúcares durante o crescimento de SCOBY combinado com a produção de ácido

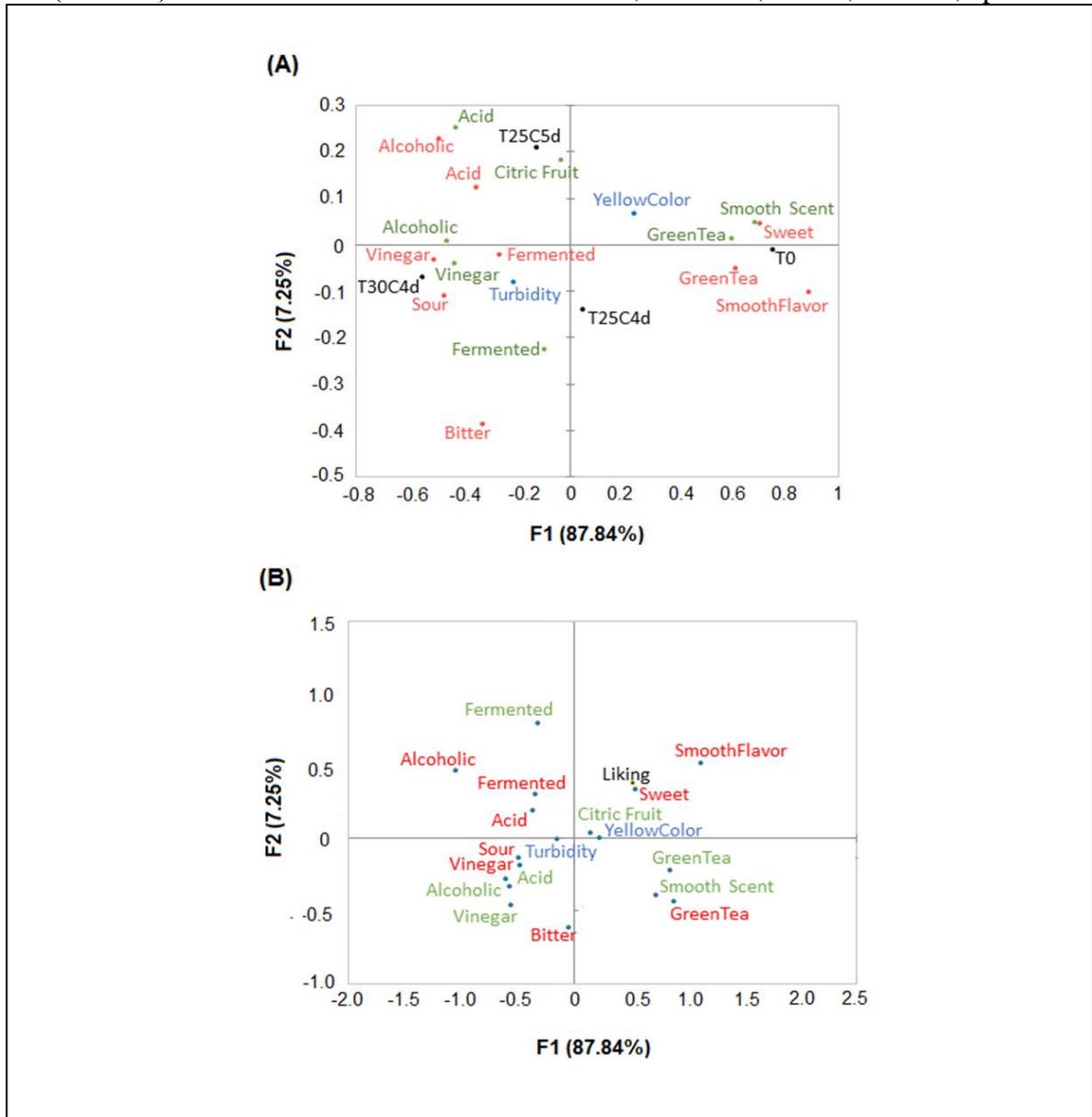
acético leva a uma menor percepção de doçura em kombuchas (NEFFE-SKOCIŃSKA *et al.*, 2017).

Já T4d30C e T0 apresentaram maior e menor citação para acidez ($p < 0,05$), respectivamente, enquanto não foram relatadas diferenças significativas para amostras fermentadas a 25°C ($p > 0,05$). O amargor não diferiu entre as amostras fermentadas ($p > 0,05$), mas T4d25C e T4d30C apresentaram maior percepção que T0 ($p < 0,05$). O sabor suave apresentou maior citação para infusão não fermentada ($p < 0,05$), enquanto T5d25C e T4d30C a menor citação. Os polifenóis podem trazer amargor e sabor adstringente aos alimentos (GONZÁLEZ-MUNÓZ *et al.*, 2022), embora diferenças entre as amostras não tenham sido detectadas na análise laboratorial (Tabela 1).

O sabor do chá verde não difere entre as amostras fermentadas ($p > 0,05$) e a frequência de citação decaiu significativamente ($p < 0,05$) em relação à amostra T0. Neffe-Skocińska *et al.* (2017) observaram nenhuma ou pouca alteração em vários atributos de sabores na kombucha de chá verde/preto fermentada por 10 dias a 20°C, 25°C ou 30°C, quando as intensidades foram medidas por um painel treinado sensorialmente.

Entender o perfil sensorial é importante para controlar a qualidade dos alimentos, mas a aceitação é o principal impulsionador para os consumidores. A ANOVA mostrou que as bebidas não fermentadas apresentaram o maior escore médio de aceitação ($p < 0,05$) ($6,1 \pm 1,1$, usando uma escala de 9 pontos), e as amostras fermentadas a 25°C apresentaram valores semelhantes (escore médio de $5,1 \pm 1,1$ e $4,7 \pm 1,0$ por 4 e 5 dias, respectivamente). A infusão fermentada a 30°C por 5 dias apresentou a maior rejeição ($p < 0,05$), com aceitação média de $3,7 \pm 1,3$. A relação entre os atributos percebidos e os escores de gostar é apresentada no mapa de preferências das amostras (Figura 4).

Figura 4 - Mapas sensoriais percebidos com base nos atributos da amostra e diferentes tratamentos (A) e aceitação (B), elaborados pela metodologia CATA, de kombucha não fermentada (T0) e fermentada por 4 dias a 25°C (T4d25C) e 30°C (T4d30C) e por 5 dias a 25°C (T4d30C). Os atributos em vermelho são sabores; em verde, aroma; em azul, aparência



Fonte: Autor (2023).

A análise de correspondência mostrou que a redução de dimensão explicou 94,17% da variância dos dados, assim como a primeira dimensão explicou 86,13% e a segunda dimensão, 8,04%. A aceitação do consumidor esteve intimamente relacionada à doçura, sabor suave, cor amarela, sabor e aroma do chá verde, aroma suave e odor cítrico de frutas, atributos altamente citados pelos consumidores em T0 (Tabela 3). Neffe-Skocińska *et al.* (2017) observaram que a fermentação da kombucha a 25°C apresentou maior qualidade global do que a 30°C. Uma maior

aceitação do sabor foi observada para a kombucha de chá preto doce em comparação com a bebida de chá de kombucha não fermentada (IVANIŠOVÁ *et al.*, 2019).

A kombucha ainda não é uma bebida popular no Brasil, e esse cenário é apresentado no perfil de consumo do presente trabalho (Tabela 2). Por outro lado, o *chimarrão* é amplamente consumido pelos mesmos consumidores, e esse comportamento pode explicar os resultados de aceitação. No entanto, os resultados do presente trabalho trazem insights interessantes para o desenvolvimento de um novo produto e mostram dados importantes para os principais impulsionadores para aumentar a aceitação da infusão erva-mate fermentada pela kombucha SCOBY.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em conclusão, a temperatura demonstrou ser um fator significativo na influência da fermentação da kombucha de erva-mate por cultura simbiótica de kombucha, observando-se variações no pH, acidez e velocidade de fermentação ao longo do tempo, sendo mais pronunciadas a 30°C do que a 25°C. Os teores de ácido acético, álcool e clorofila revelaram-se sensíveis tanto ao tempo quanto à temperatura de fermentação. No entanto, o conteúdo fenólico total manteve-se constante, apesar das flutuações nessas variáveis, indicando uma estabilidade notável.

É imperativo destacar, no entanto, que este estudo enfrentou algumas limitações. A principal delas foi a considerável redução na aceitação do consumidor durante a fermentação da infusão de kombucha de erva-mate. Tal redução foi atribuída ao desenvolvimento de aromas e sabores vinagrosos, fermentados, níveis acentuados de acidez e notas amargas, os quais foram produzidos pelo SCOBY (cultura simbiótica de bactérias e leveduras).

Além disso, a análise das populações de *B. bruxellensis* e *K. rhaeticus*, como principais leveduras e bactérias, respectivamente, evidenciou uma prevalência significativa a 25°C ou a 30°C. Contudo, é importante reconhecer que, devido à complexidade do ambiente de fermentação, outros fatores podem ter influenciado a dinâmica microbiana, limitando a generalização dos resultados.

Como perspectiva para futuras investigações, recomenda-se uma análise mais aprofundada das interações entre os componentes da cultura simbiótica de kombucha e os substratos específicos, visando uma compreensão mais completa dos processos fermentativos. Além disso, seria valioso explorar abordagens para minimizar os efeitos sensoriais indesejados, otimizando assim a aceitabilidade do produto final. Esses esforços contribuiriam para a evolução e aprimoramento contínuo na produção de kombucha de erva-mate, alinhando-se às expectativas e preferências dos consumidores.

REFERÊNCIAS

- ABACI, N. *et al.* Kombucha - an ancient fermented beverage with desired bioactivities: A narrowed review. **Food Chemistry**: X, ed. 14, 100302, 2022. Doi: 10.1016/j.fochx.2022.100302.
- AGNOLUCCI, M. *et al.* Brettanomyces bruxellensis yeasts: impact on wine and winemaking. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, p. 180-186, 2017. Doi: 10.1007/s11274-017-2345-z
- AGUILAR, U. M. G. *et al.* Brettanomyces bruxellensis: effect of oxygen on growth and acetic acid production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 61, n. 2, p. 157–162, 2003. Doi: 10.1007/s00253-002-1197-z
- ALENCAR, N. M. M. *et al.* Sensory profile and check-all-that-apply (cata) as tools for evaluating and characterizing syrah wines aged with oak chips. **Food Research International**, v. 124, p. 156-164, 2018. Doi: 10.1016/j.foodres.2018.07.052
- ANGELA, C. *et al.* Isolation and screening of microbial isolates from kombucha culture for bacterial cellulose production in sugarcane molasses medium. **KnE Life Sciences**, v. 5, n. 2, 6444, 2020. Doi: 10.18502/cls.v5i2.6444
- ANTOLAK, H. *et al.* A Double Power of Bioactive Compounds from Tea and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts (SCOBY). **Antioxidants**, v. 10, 1541, 2021. Doi: <https://doi.org/10.3390/antiox10101541>
- ARAÚJO, R. G. *Erva-Mate (Ilex paraguariensis A. St. Hil.)* – características, cultivo e usos. Embrapa Florestas, 2006. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/313779/1/doc166.pdf>. Acesso em: 31 de março 2023.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE KOMBUCHA - ABKOMa. **Sobre nós.** (2023a). Disponível em: <https://abkom.org.br/quem-somos/>. Acesso em: 29 de março de 2023.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE KOMBUCHA - ABKOM. **Blog.** (2023b). Disponível em: <https://abkom.org.br/blog/>. Acesso em: 29 de março de 2023.
- BASCHALI, A. *et al.* Traditional low-alcoholic and non-alcoholic fermented beverages consumed in European countries: a neglected food group. **Nutr Res Rev.**, v. 30, n. 1, 1e24. 2017.
- BOAVENTURA, B. C. *et al.* Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) consumption is associated with higher bone mineral density in postmenopausal women. **Nutrition**, v. 60, p. 173-178. 2019.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 269, de 22 de setembro de 2005. Dispõe sobre o regulamento técnico de alimentos para fins especiais. **Diário Oficial da União**, 23 de setembro de 2005. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/regulacao-sanitaria/alimentos/normas-tecnicas-para-alimentos-especiais/arquivos/rdc-269-2005-alimentos-para-fins-especiais.pdf/view>. Acesso em: 01 de abril de 2023.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 24, de 08 de junho de 2015. Dispõe sobre o recolhimento de alimentos e sua comunicação à Anvisa e aos consumidores. **Diário Oficial da União**, nº 107, Brasília-DF, 09 de junho de 2015. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/395656/Resolu%C3%A7%C3%A3o+RDC+n%C2%BA+24-2015/ab598660-1e7c-454f-b41d-01d0e32a18f8>. Acesso em: 01 de abril de 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Instrução Normativa nº 41, de 17 de setembro de 2019. Estabelece o Padrão de Identidade e Qualidade da Kombucha em todo o território nacional. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 181, seção 1, p. 13, 18 set. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 1981. v. II, cap. 18, p. 2. cap. 15, p. 4-5, cap. 21, p., p. 4-5, cap. 17, p. 5.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Lei Nº 8.918, de 14 de Julho de 1994. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, autoriza a criação da Comissão Intersectorial de Bebidas e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 14 de julho de 1994.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Portaria nº 103, de 20 de setembro de 2018. Instrução Normativa que visa estabelecer em todo território nacional o padrão de identidade e qualidade de kombucha. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 188, seção 1, p. 18, 28 de setembro de 2018.

CARDOSO, R. R. *et al.* Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. **Food Research International**, v. 128, 108782, 2020. Doi: 10.1016/j.foodres.2019.108782

DEĞIRMENÇIOĞLU, N. *et al.* Impact of tea leaves types on antioxidant properties and bioaccessibility of kombucha. **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, p. 2304-2312, 2021. Doi: 10.1007/s13197-020-04741-7

DELERI, B. O. *et al.* Clarification of pomegranate and strawberry juices: effects of various clarification agents on turbidity, anthocyanins, colour, phenolics and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 413, 135672, 2023. Doi: 10.1016/j.foodchem.2023.135672

DUTTA, H., PAUL, S. K. Kombucha Drink: Production, Quality, And Safety Aspects. **Production and Management of Beverage**, p. 259–288, 2019.

EMBRAPA. **Erva-mate**. 2019. Disponível em: <https://www.embrapa.br/florestas/erva-mate> acesso em 30/03/23.

FABRICIO, M. F. *et al.* Effect of freeze-dried kombucha culture on microbial composition and assessment of metabolic dynamics during fermentation. **Food Microbiology**, v. 101, 103889, 2022. Doi: 10.1016/j.fm.2021.103889

FILIPPIS, F. *et al.* Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during kombucha tea fermentation. **Food Microbiol**, v. 73, p. 11–16, 2018.

GAGGIÀ, F. *et al.* Kombucha beverage from green, black and rooibos teas: A comparative study looking at microbiology, chemistry and antioxidant activity. **Nutrients**, v. 11, n. 1, 2018. Doi: 10.3390/nu11010001

GAMBERO, A.; RIBEIRO, M. L. The positive effects of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) in obesity. **Nutrients**, v. 7, n. 2, p. 730-750, 2015.

GONZÁLEZ-MUÑOZ, B. *et al.* Wine adstringency: More than just tannin-protein interaction. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 102, p. 1771-1781, 2022. Doi: 10.1002/jsfa.11672

GRAND VIEW RESEARCH. **Kombucha Market Size, Share & Trends Analysis Report, 2020 - 2027**. 2020. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/kombucha-market>. Acesso em: 30 de março de 2023.

GREENWALT, C. J., *et al.* Determination and characterization of the antimicrobial activity of the fermented teakombucha. **LWT**, v. 31, n. 3, p. 291-296, 1998. Doi: 10.1006/fstl.1997.0354.

GREENWALT, C. J. *et al.* Kombucha, the Fermented Tea: Microbiology, Composition, and Claimed Health Effects. **Journal of Food Protection**, v. 63, n. 7, p. 976–981, 2000.

GSCHAEDLER, A. Contribution of non-conventional yeasts in alcoholic beverages. **Current Opinion in Food Science**, v. 13, p. 73-77, 2017. Doi: 10.1016/j.cofs.2017.02.004

GUARIENTO, R. D. *et al.* Composição química de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) e seus efeitos no organismo humano. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 9, n. 2, e377, 2017.

HARRISON, K.; CURTIN, C. Microbial Composition of SCOBY starter cultures used by commercial kombucha brewers in North America. **Microorganisms**, v. 9, n. 5, 1060, 2021. Doi: 10.3390/microorganisms9051060.

HYUN, J. *et al.* Kombucha tea prevents obese mice from developing hepatic steatosis and liver damage. **Food Science and Biotechnology**, v. 25, n. 3, p. 861–866, 2016. Doi: 10.1007/s10068-016-0142-3

IOMMI, C. Bioactive feature of Yerba-Mate infusions: alkaloids, phenolics and other stimulating compounds. In: IOMMI, C. **Chemistry and Safery of South American Yerba Mate Teas**. Springer Briefs in Molecular Science. Cham: Springer, 2021. Doi: 10.1007/978-3-030-69614-6_4.

IVANIŠOVÁ, E. *et al.* The evaluation of chemical, antioxidant, antimicrobial and sensory properties of kombucha tea beverage. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, p. 1840–1846, 2019. Doi: 10.1007/s13197-019-04217-3

JAEGER, S. R. *et al.* What does it mean to check-all-that-apply? Four case studies with beverages. **Food Quality and Preference**, v. 80, 103794, 2020. Doi: 10.1016/j.foodqual.2019.103794

JAKUBCZYK, K. *et al.* Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. **Antioxidants**, v. 9, 447, 2020. Doi: 10.3390/antiox9050447

JAYABALAN, R. *et al.* A review on kombucha tea – Microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, p. 538–550, 2014. Doi: 10.1111/1541-4337.12073

JAYABALAN, R. *et al.* Kombucha. **Reference Module in Food Science**, 2016. Doi:10.1016/b978-0-08-100596-5.03032-8

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

KAYISOGLU, S.; COSKUN, F. Determination of physical and chemical properties of kombucha teas prepared with different herbal teas. **Food Science and Technology**, v. 41 (Suppl. 1), p. 393-397, 2021. Doi: 10.1590/fst.12720

KOMBUCHA BREWERS INTERNATINAL-KBI. **The Kombucha Industry**. 2023. Disponível em: <https://kombuchabrewers.org/about-us/history-of-kombucha-brewing/>. Acesso em: 17 de março de 2023

LICHTENTHALER, H. L. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymology**, v. 148, n. 350-382, 1987. Doi: 10.1016/0076-6879(87)48036-1.

LOPES, D. R. *et al.* Antioxidant and antibacterial activity of a beverage obtained by fermentation of yerba-mate (*Ilex paraguariensis*) with symbiotic kombucha culture. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 2, e15101, 2021. Doi: 10.1111/jfpp.15101

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**, v. 1. Instituto Plantarum, 2002.

MAGALHÃES, V. *et al.* Kombucha fermentation: microbial and biochemical dynamics. **Food Microbiology**, v. 73, p. 84-92, 2018. Doi: 10.1016/j.fm.2018.01.008.

MAZZAFERA, P. Maté (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In: YAMAGUCHI, L. F. (Ed.). **Plantas medicinais brasileiras: conhecimentos populares e científicos**. São Paulo: Editora UNESP,. 2013. pp. 315-323

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Mapa define padrões de qualidade e identidade da Kombucha**. 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/mapa-define-padroes-de-qualidade-e-identidade-da-kombucha>. Acesso em: 11 de março de 2023.

MIRANDA, J. F. *et al.* Kombucha: A review of substrates, regulations, composition, and biological properties. **Journal of Food Science**, v. 87, p. 503-527, 2022. Doi: 10.1111/1750-3841.16029.

MORAIS, E. C. *et al.* Yerba mate intake improves lipid parameters and inflammation markers in overweight women. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 38, n. 8, p. 712-719, 2019.

MORDOR INTELIGENCE. **Mercado de Kombucha - Crescimento, Tendências e Previsão (2023 - 2028)**. 2023. Disponível em: <https://www.mordorintelligence.com/pt/industry-reports/kombucha-market>. Acesso em: 11 de março de 2023.

MORO, T. *et al.* Kombucha: um alimento funcional produzido a partir da fermentação do chá. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 18, n. 3, p. 266-276, 2019.

MORSHEDI, A.; DASHTI-RAHMATABADI, M. H. Chronic consumption of Kombucha and black tea prevents weight loss in diabetic rats. **Iran. J. Diabetes Obes.**, v. 2, n. 2, p. 23–26, 2010.

MOYANO, M. J. *et al.* A comprehensive study on the colour of virgin olive oils and its relationship with their chlorophylls and carotenoids indexes (II): CIELUV and CIELAB uniform colour spaces. **Food Research International**, v. 41, n. 5, p. 513–521, 2008. Doi:10.1016/j.foodres.2008.03.006

NEFFE-SKOCIŃSKA, K. *et al.* Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. **CyTA Journal of Food**, v. 15, p. 601–607, 2017. Doi: 10.1080/19476337.2017.1321588

NUMMER, B. A. Kombucha brewing under the Food and Drug Administration model Food Code: risk analysis and processing guidance. **J. Environ Health**, v. 76, n. 4, p. 8-11, Nov. 2013.

PEREIRA, D. M. *et al.* Kombuchas: uma bebida milenar que vem novamente ganhando destaque nos dias atuais. **II ENCONTRO ON-LINE DO TÉCNICO EM NUTRIÇÃO DIETÉTICA (ENOTND)**, agosto de 2021.

SANT'ANNA, V. *et al.* Tracking bioactive compounds with colour changes in foods - A review. **Dyes and Pigments**, v. 98, n. 3, p. 601–608, 2013. Doi: 10.1016/j.dyepig. 2013.04.011.

SANTOS JÚNIOR, R. J. *et al.* Antimicrobial activity of broth fermented with kombucha colonies. **Journal of Microbial and Biochemical Technology**, v. 1, n. 1, p. 72-78, 2009. Doi: 10.4172/1948-5948.1000014

SHIBATA, T. Food components for health promotion. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 55, n. 12, p. 1939-1944, 1991.

SHIBATA, T. Food functionality of plant and lactic acid bacteria. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 64, n. 1, p. 9-14, 2000.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 20, n. 144–

158, 1965. Disponível em: <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144>. Acesso em: 27/03/2023

SOUZA, S. O. *et al.* The effects of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) on the cardiovascular, respiratory and central nervous systems: A systematic review. **Journal of Ethno pharmacology**, v. 257, 112854, 2020.

SUHRE, T. *et al.* Microbial community and physicochemical characterization of kombuchas produced and marketed in Brazil. **Journal of Food Science Nutrition Research**, v. 4, n. 4, p. 302-316, 2021. Doi: 10.26502/jfsnr.2642-11000082

TALEBI, M. *et al.* Examination of the varied and changing ethanol content of commercial kombucha products. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 12, p. 4062–4067, 2017. Doi: 10.1007/s12161-017-0980-5

VARELA, P.; ARES, G. Recent advances in consumer science. In: VARELA, P.; ARES, G. (eds.). **Methods in Consumer Research**. V.1. Duxford, UK: Woodhead Publishing, 2018. pp. 3-21

VASCONCELLOS, A. C. *et al.* Phenolic compounds present in yerba mate potentially increase human health: a critical review. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 77, p. 495-503.2022. Doi: 10.1007/s11130-022-01008-8

VILLARREAL-SOTO, S. A. *et al.* Understanding kombucha tea fermentation. A review. **Journal of Food Science**, v. 83, p. 580–588, 2018.

VILLARREAL-SOTO, S. A. *et al.* Impact of fermentation conditions on the production of bioactive compounds with anticancer, anti-inflammatory and antioxidant properties in kombucha tea extracts. **Process Biochemistry**, v. 83, p. 44–54, 2019. Doi: 10.1016/j.procbio.2019.05.004.

WANG, Y. *et al.* Kombucha fermentation and its health benefits. **Food Research International**, v. 123, p. 201-224, 2018.

ZAIONS, I. *et al.* Physico-chemical characterization of *Ilex paraguariensis* St. Hil. during the maturation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, p. 663-667, 2014. Doi: 10.1590/S1516-8913201402076

ZHANG, J. *et al.* The chemistry and sensory characteristics of new herbal tea-based kombuchas. **Journal of Food Science**, v. 86, n. 3, p. 740-748, 2021. Doi: 10.1111/1750-3841.15613.

ZHAO, X. *et al.* Flavor impacts of glycerol in the processing of yeast fermented beverages: A review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 7588-7598, 2015. Doi: 10.1007/s13197-015-1977-y

ZHOU, D. *et al.* Fermentation with Tea Residues Enhances Antioxidant Activities and Polyphenol Contents in Kombucha Beverages. **Antioxidants**, v. 11, n. 155, 2022. Doi: <https://doi.org/10.3390/antiox11010155>.

ZIELINSKI, A. A. F. *et al.* A multivariate approach to differentiate yerba-mate (*Ilex paraguariensis*) commercialized in the Southern Brazil on the basis of phenolics, methylxanthines and in vitro antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 40, n.3, p. 644-652, 2020. Doi: 10.1590/fst.15919

ZOU, C. *et al.* Zijuan tea-based Kombucha: Physicochemical, sensorial, and antioxidant profile. **Food Chemistry**, v. 363, 130322, 2021. Doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130322

ZION MARKET RESEARCH. **Kombucha Market Size**. 2020. Disponível em: <https://www.zionmarketresearch.com/report/kombucha-market>. Acesso em: 30 de março de 2023.

APÊNDICE 1

Obrigado por participar de nossa pesquisa. Primeiro, nos fale um pouco sobre você:

RG:

Qual seu gênero:

Masculino Feminino Não me identifico com nenhum Prefiro não dizer

Qual sua idade? _____

Qual sua escolaridade?

Ensino Fundamental incompleto Ensino Fundamental Completo
 Ensino Médio Completo Ensino Superior Completo

Qual sua faixa salarial?

Menos de R\$ 1.380,00 Entre R\$1.380,00 e R\$2.760,00
 Entre R\$2.760,00 e R\$4.140,00 Entre R\$4.140,00 e R\$6.900,00
 Entre R\$6.900,00 e R\$8.280,00 Mais que R\$8.280,00

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

Você está recebendo 4 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. Para cada uma que você marcou, então, indique qual a intensidade do atributo utilizando a escala ao lado. Por favor, olhe, cheire e prove as amostras.

Amostra 263

Aceitação Global

Desgostei MUITÍSSIMO

Gostei MUITÍSSIMO

Agora, marque todos os atributos que você sente nessa amostra

Aparência

() turbidez () cor amarela () cor verde

() cor clara () gaseificado

Cheiro

() Vinagre () fruta cítrica () ácido

() cheiro suave () fermentado () grama

() chá verde () alcóolico

Sabor

() doce () azedo () ácido

() amargo () vinagre () suave

() chá verde () fermentado

() consistente () alcóolico

Amostra 593**Aceitação Global**

Desgostei MUITÍSSIMO

Gostei MUITÍSSIMO

Agora, marque todos os atributos que você sente nessa amostra

Aparência turbidez cor amarela cor verde cor clara gaseificado**Cheiro** Vinagre fruta cítrica ácido cheiro suave fermentado grama chá verde alcóolico**Sabor** doce azedo ácido amargo vinagre suave chá verde fermentado consistente alcóolico

Amostra 197**Aceitação Global**

Desgostei MUITÍSSIMO

Gostei MUITÍSSIMO

Agora, marque todos os atributos que você sente nessa amostra

Aparência turbidez cor amarela cor verde cor clara gaseificado**Cheiro** Vinagre fruta cítrica ácido cheiro suave fermentado grama chá verde alcóolico**Sabor** doce azedo ácido amargo vinagre suave chá verde fermentado consistente alcóolico

Amostra 904**Aceitação Global**

Desgostei MUITÍSSIMO

Gostei MUITÍSSIMO

Agora, marque todos os atributos que você sente nessa amostra

Aparência turbidez cor amarela cor verde cor clara gaseificado**Cheiro** Vinagre fruta cítrica ácido cheiro suave fermentado grama chá verde alcóolico**Sabor** doce azedo ácido amargo vinagre suave chá verde fermentado consistente alcóolico