

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

Desenvolvimento de Kombucha de chá verde sabor hibisco

Maysa Silva Pinto

Orientador: Dra. Mariana Dias Moreira

Ouro Branco
2018

Desenvolvimento de Kombucha de chá verde sabor hibisco

Maysa Silva Pinto

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
em cumprimento às exigências do Curso de Bacharelado
em Engenharia de Bioprocessos da
Universidade Federal de São João Del Rei.

Orientador: Dra. Mariana Dias Moreira

Ouro Branco
2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

Desenvolvimento de Kombucha de chá verde sabor hibisco

Maysa Silva Pinto

A Banca Examinadora, composta pelos membros abaixo, avaliou este TCC:

Dra. Mariana Dias Moreira (UFSJ\CAP) – Orientador

Dra. Marília Magalhães Gonçalves (UFSJ\CAP) – examinador 1

Dra. Angélica Cristina de Souza (UFLA\DBI) – examinador 2

Ouro Branco, 25/06/2018

RESUMO

Kombucha é uma bebida fermentada, não-alcóolica a base de chá verde. A bebida já existe há milhares de anos, mas sua popularidade tem aumentado nos últimos anos devido aos benefícios à saúde humana, que apesar de ainda não serem comprovados, já foram estudados em organismos-modelo. O interesse da indústria de alimentos na bebida também é algo que tem crescido nos últimos meses, assim tem despertado a necessidade de padronização dos parâmetros que influenciam a fermentação. As transformações e os subprodutos resultantes do processo fermentativo da bebida são claramente biotecnológicos, o que deixa nítida a necessidade de profissionais da área controlando todo o processo e, também, o grande espaço que os mesmos têm em um mercado que ainda está iniciando no Brasil. Diante desse contexto, o presente trabalho teve como objetivos a produção de Kombucha de hibisco artesanal e avaliação de parâmetros físico-químicos importantes no processo e no produto final. Para tal foram realizadas duas fermentações, a primeira utilizando o chá verde *Camellia sinenses* e o açúcar orgânico como substratos, e a segunda, para dar sabor, o chá de hibisco. Análises nutricionais e sensoriais da bebida resultante final foram realizadas a fim de identificar os macronutrientes presentes e avaliar a aceitação e intenção de comprar da bebida, respectivamente. Além disso, o tempo de prateleira e viabilidade com e sem refrigeração também foram avaliados através do monitoramento de pH e determinação do índice de escurecimento enzimático. Os resultados obtidos foram satisfatórios, visto que através do Índice de escurecimento (IE) foi possível comprovar a existência de reações bioquímicas após o envase e que a bebida mantida em refrigeração apresenta maior viabilidade, quando comparada a bebida não refrigerada. A curva de pH e as reações ocorridas nas amostras também demonstraram a forte influência da temperatura no resultado final da bebida. A partir da análise sensorial realizada foi possível observar que a Kombucha de hibisco teve aceitação global moderada. Devido ao crescimento do mercado de Kombucha e a carência de informações, este trabalho contribuiu para o levantamento de dados importantes, principalmente sobre a forma de armazenamento, vida de prateleira e aceitação da bebida.

Palavras-chave: *chá fermentado, probiótico, SCOBY, Análise Sensorial.*

ABSTRACT

Kombucha is a fermented, non-alcoholic beverage that has stimulating, detoxifying and medicinal properties. The drink has existed for thousands of years, but its popularity has increased in recent years due to the benefits to human health, which although not yet proven, have already been studied in model organisms. The interest of the food industry in the beverage is also something that has grown in the last months, thus has awakened the need of standardization of the parameters that influence the fermentation. The transformations and byproducts resulting from the fermentation process of the beverage are clearly biotechnological, which makes clear the need for professionals in the area controlling the whole process and also the large space they have in a market that is still starting in Brazil. In view of this context, the present work had as objectives the production of Kombucha of artisanal hibiscus and evaluation of important physical-chemical parameters in the process and in the final product. For this, two fermentations were carried out, the first one using *Camellia sinenses* green tea and the organic sugar as substrates, and the second, to give taste, the hibiscus tea. Nutritional and sensory analysis of the resulting final beverage was made in order to identify the macronutrients present and evaluate the acceptance and intent to purchase the beverage, respectively. In addition, the shelf life and viability with and without refrigeration were also evaluated through pH monitoring and determination of the enzymatic darkening index. The results obtained was satisfactory, since through the darkening index (IE) it was possible to prove the existence of biochemical reactions after the filling and that the beverage kept in refrigeration presented greater viability when compared to the non-refrigerated beverage. The pH curve and the reactions occurred in the samples also showed the strong influence of the temperature on the final result of the beverage. From the realized sensorial analysis it was possible to observe that the Kombucha of hibiscus had moderate global acceptance. Due to the growth of the Kombucha market and lack of information, this work contributed to the collection of important data, mainly on the form of storage, shelf life and acceptance of the beverage.

Keywords: *fermented tea, probiotic, SCOBY, Sensory Analysis.*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVO	11
3. REFERENCIAL TEÓRICO	11
3.1) Kombucha.....	11
3.2) Substratos.....	12
3.2.1. Chá Camellia sinensis	12
3.2.2. Chá de hibisco	13
3.2.3. Açúcar.....	14
3.3) Processo fermentativo	14
3.3.1. Associação simbiótica.....	15
3.3.2. Primeira fermentação	16
3.3.3. Segunda fermentação	17
3.4) Composição Bioquímica e alguns processos metabólicos	18
3.5) Propriedades	18
4. MATERIAIS E MÉTODOS	19
4.1) Preparo do substrato	19
4.1.1. Primeira fermentação	20
4.1.2. Segunda fermentação	21
4.2) Tempo de viabilidade	22
4.2.1. Índice de escurecimento (IE).....	22
4.2.2. Influencia da temperatura	23
4.3) Análise de macronutrientes da bebida resultante.....	23
4.4) Análise Sensorial	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1) Índice de escurecimento (IE).....	24
5.2) Análise da temperatura.....	27
5.3) Análise de macronutrientes	30
5.4) Análise Sensorial	31
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	33
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

1. INTRODUÇÃO

O setor de alimentação saudável no Brasil tem ganhado destaque nos últimos anos, novos produtos e marcas de alimentos naturais, livres de aditivos químicos estão sendo inseridos no mercado. No país o consumo de produtos ditos “saudáveis” e “funcionais” apresenta previsão de crescimento para os próximos anos, sendo assim surgem novas oportunidades de negócios.

Uma bebida que tem aumentado sua popularidade nos últimos anos é a Kombucha, um chá fermentado, levemente doce, de sabor avinagrado que tem levantado questões acerca dos benefícios trazidos à saúde humana, como desintoxicar e regular a flora intestinal, porém não existem ainda dados científicos que comprovem tais fatos (GREENWALT C.J., et al., 2000).

Como qualquer bebida fermentada a Kombucha passa por processos de transformações enzimáticas, neste caso, dois substratos são utilizados, chás que contenham cafeína, normalmente chá verde ou chá preto (*Camellia sinenses*) e sacarose, normalmente açúcar cristal. Estes substratos são convertidos em ácidos orgânicos, vitaminas, enzimas, aminoácidos, entre outros (JAYABALAN R., et al., 2014). A fermentação pode se estender para um segundo processo, onde se adiciona frutas, chás ou especiarias à bebida, com propósito de torná-la mais agradável e saborosa.

A conversão acontece devido à presença de um inoculo, o SCOBY, sigla traduzida do inglês: “*Associação Simbiótica de Bactérias e Leveduras*”, e por se tratar de um bioprocesso, o resultado final da fermentação do chá vai de acordo com o controle monitorado dos parâmetros temperatura, pH e substrato (PEDERSEN J. A., 2013).

Já existem alguns estudos acerca dos microrganismos presentes no SCOBY, Hannah Crum e Alex LaGoy (2016) no livro “*The big Book of Kombucha*” páginas 94-96, enumeram diferentes gêneros de bactérias e leveduras, entre eles, *Acetobacter aceti*, *Acetobacter nitrogenifigens*, *Acetobacter tropicalis*, *Gluconacetobacter*, *Gluconacetobacter* spp., *Pseudomonas*, *Pseudomonas putida*, *Candida albicans*, *Candida kefir*, *Candida stellata*, *Saccharomyces*, *Saccharomyces apiculatus* varieties, *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Zygosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces bisporus*.

Apesar de ter sido inserida no mercado Brasileiro há pouco tempo, algumas marcas já comercializam a bebida e são pioneiras de vendas como Tao, Vih, Energzen, todas possuem um sabor em comum: hibisco. Devido à infinidade de espécies microbianas presentes na composição da Kombucha e aos diferentes substratos empregados em seu processo de produção, faz-se necessário um controle e acompanhamento dos parâmetros, a fim de

aperfeiçoar e especificar em quais condições de temperatura, pH, luminosidade a bebida apresenta melhores resultados.

O crescimento do mercado de Kombucha e o interesse demonstrado pela indústria alimentícia para comercialização da bebida deixa clara a necessidade de padronização em todo processo, desde a escolha de substratos e equipamentos até o controle da temperatura e carbonatação durante o tempo de prateleira da bebida. Além de otimizar e tornar mais segura a produção, a normalização das etapas faz com que a bebida chegue até o consumidor com a qualidade necessária.

2. OBJETIVO

Objetivo geral

Desenvolvimento de Kombucha sabor hibisco através do método artesanal;

Objetivo específico

- i) Quantificação nutricional dos macronutrientes da Kombucha de hibisco;
- ii) Estudo da vida útil da bebida resultante com e sem refrigeração;
- iii) Análise sensorial da bebida.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1) Kombucha

No Brasil o Kombucha ainda está passando por processos de conhecimento e adaptação, sendo que em algumas regiões nem se quer ouviram falar do chá. Em contrapartida, conhecendo os benefícios trazidos pela bebida e relacionando à crescente necessidade das pessoas em cuidar da saúde, pode-se considerar o produto como promissor no mercado atual, mas para isso é necessária uma etapa de conscientização e preparação do público-alvo.

A Kombucha é um chá fermentado, não alcoólico, considerado desde a antiguidade como “*chá da imortalidade*” (BROOME T., 2005). Apesar de não existirem comprovações sobre sua origem, Rasu Jayabalan et al. (2014), fala sobre a suposição de seus benefícios serem relatados inicialmente no Ocidente, mais pontualmente na Ásia.

Para produção da Kombucha normalmente utiliza-se o chá verde ou chá preto em infusão e o açúcar, mais precisamente a sacarose (PEDERSEN J. A., 2015). Ao chá adoçado é adicionado o inóculo responsável pelo processo fermentativo: SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*), a sigla traduzida do inglês significa ‘Associação Simbiótica de

Bactérias e Leveduras’, ou seja, diferentes gêneros de microrganismos estão associados em uma mesma matriz, neste caso, a celulose. O açúcar e a cafeína presentes no chá funcionam como substratos para os microrganismos presentes na matriz e através da ação de enzimas são transformados em subprodutos como ácidos orgânicos, vitaminas, antioxidantes, gás carbônico, compostos fenólicos, aminoácidos, entre outros (JAYABALAN, R. et al., 2014).

O tempo de fermentação pode variar de 7 a 10 dias (GREENWALT C.J., et al., 2000), dependendo diretamente dos seguintes parâmetros: temperatura, concentração de substrato, escolha do chá e do açúcar, agitação, presença ou ausência de luz direta, microrganismos ativos no SCOBY e do sabor desejado. Durante o processo, o pH do sistema decai devido à formação dos ácidos e a cor do líquido fica mais clara devido ao consumo de substrato. Para certificar de que a fermentação está acontecendo, ao longo dos dias uma nova película celulósica se forma na superfície do fermentador e deve haver produção de gás na porção inferior do SCOBY.

A fim de adicionar mais sabor e agregar valor nutricional à bebida, o processo pode se estender adicionando uma nova fonte de sacarose ao sistema. Uma nova fermentação é iniciada, retirando a “kombucha-mãe” e a nova película formada, e adicionando chás, frutas ou florais ao líquido resultante. Os microrganismos presentes no líquido realizam a fermentação e ela pode durar de 1 a 5 dias.

3.2) Substratos

*3.2.1. Chá *Camellia sinensis**

O chá preto, o chá verde, o chá branco e o chá oolong derivam da mesma espécie de planta, *Camelia sinensis*. As folhas de *C. sinensis* são oxidadas após a coleta e o momento em que se interrompe esse processo de oxidação é que define qual tipo de chá será produzido. Quando as folhas são cortadas ou esmagadas ocorre à liberação de enzimas que tem como substratos os complexos aromáticos presentes, sendo assim quanto maior o atrito entre as folhas maior será a liberação do aroma (MANFREDINE, V. et al., 2001).

Compostos fenólicos englobam um extenso grupo de flavonóides e podem estar presentes em diversas fontes, como frutas e chás (MANFREDINE V., et al., 2001). Quando ocorre processamento das folhas e flores, a enzima polifenoloxidase age levando a oxidação dos polifenóis (SANTOS M. J., 2016), por isso quando comparamos o sabor da folha fresca com a folha processada, a primeira possui sabor mais forte e adstringente. A alteração da cor

das folhas é outro fator observado após o processamento, devido à oxidação essas folhas se tornam mais escuras.

O chá verde não é totalmente processado e é preparado a partir das folhas mais jovens, colhidas antes de estarem completamente desenvolvidas. As folhas passam por processos de aquecimento e resfriamento simultâneos a fim de interromper o processo de oxidação enzimática. A desnaturação e inativação precoce fazem com que compostos menos aromáticos sejam quebrados, por isso o chá verde quando comparado ao chá preto é menos rico em aromas e também, mais claro (SILVA, R. S. R. et al., 2010). O chá preto é totalmente processado e passa por mais etapas de oxidação. Devido ao tipo de processamento, esse chá é considerado o mais rico em aromas.

A composição química exata das folhas de chá depende da maneira que foram colhidas, qual tipo de processamento, idade da planta e, o mais importante, onde foi plantada. Em segundo momento, o sabor e as características do chá após a infusão, dependem do tipo e qualidade da água, tempo de infusão e temperatura escolhida para adicionar as folhas.

3.2.2. Chá de hibisco

Hibiscus sabdariffa L. (Malvaceae) é uma importante planta medicinal, popularmente conhecida como “azedinha, azeda-da-guiné, caruru-azedo, caruruda-guiné, cha-da-jamaica, pampolha, pampulha, papoula, papoula-de-duas-cores, quiabeiro-azedo, quiabo-azedo, quiabo-de-angola, quiabo-róseo, quiabo-roxo, rosélia e vinagreira” (MANFREDINE V. et al., 2001).

Muito se fala sobre a capacidade antioxidante e diurética do chá de hibisco. A obtenção de antioxidantes através da dieta é um meio simples de reduzir o desenvolvimento de doenças provocadas pelo estresse oxidativo (TCHOUYANG R. F. et al., 2016). Desta maneira uma alternativa para prevenção do desequilíbrio do sistema oxidante é através da alimentação, onde são buscadas novas formas de absorção de substâncias antioxidantes.

Testes já realizados demonstraram grandes efeitos do chá como hepatoprotetor, antibacteriano, antioxidante, dentre outros. O chá possui aroma e cor característicos e, também, um gosto amargo. Devido ao seu alto teor de polifenóis é possível explicar a capacidade antioxidante de infusões à base de *H. sabdariffa* e por isso, o seu chá pode ser considerado uma bebida preventiva contra radicais livres (PRENESTI E. et al., 2007).

Assim como o chá verde, as características do chá de hibisco dependem da maneira que as flores são processadas, onde folham colhidas, quais idades da árvore e, posteriormente,

a maneira como o chá foi preparado.

3.2.3. Açúcar

Segundo a Resolução de Diretoria Colegiada, RDC nº 271 de 22 de setembro de 2005, é a sacarose obtida a partir do caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) ou de beterraba (*Beta alba* L.). São também considerados açúcares os monossacarídeos e demais dissacarídeos, podendo se apresentar em diversas granulometrias e formas de apresentação.

Para que ocorra a síntese enzimática, a sacarose precisa estar presente como substrato na sua forma de carboidrato simples, por isso, o açúcar branco se mostra mais eficiente quando comparado aos demais (REISS, 1994).

As leveduras presentes no inóculo, através da ação da enzima invertase, convertem o açúcar em ácidos orgânicos, gás carbônico e etanol (BASCHALI A. et al., 2017). É muito importante que a proporção de açúcar adicionado no início do processo seja respeitada, para que ocorra a total conversão e os subprodutos da fermentação sejam liberados.

3.3) Processo fermentativo

As bebidas fermentadas têm uma grande contribuição cultural e tradicional e há muitos anos estão inseridas em diversas culturas ao redor do mundo. A fermentação tradicional tem sido utilizada desde os tempos antigos para preservar alimentos *in natura* e para desenvolvimento de novos produtos alimentares a fim de dar a eles novos sabores, texturas e aromas, além do valor nutricional. Bebidas fermentadas com baixo teor alcoólico e bebidas fermentadas não alcoólicas ainda representam um subgrupo de bebidas fermentadas que receberam pouca atenção de consumidores e cientistas (BASCHALI A. et al., 2017).

A fermentação da Kombucha ocorre através da ação de bactérias e leveduras associadas em uma mesma matriz de celulose, o SCOBY. Sandor E. Katz (2012) em seu livro “A arte da fermentação” se refere ao SCOBY como uma árvore genealógica de microrganismos, onde o que define quais cepas se mantêm ativas são os diferentes parâmetros que influenciam qualquer processo fermentativo: substrato, temperatura, tempo, qualidade da água, luminosidade, pH. Acredita-se que a dificuldade na identificação e definição dos microrganismos responsáveis pelo processo fermentativo da Kombucha esteja associada aos diferentes substratos utilizados em diferentes regiões, onde a temperatura afeta diretamente o

desenvolvimento.

Normalmente os substratos utilizados para a fermentação são chá *Camellia sinensis* e açúcar, porém a repentina popularidade da Kombucha fez com que vários testes fossem realizados, como o uso de chá mate, chá de amora, café, mel, agave, entre outros, estimulando algumas linhagens e desestimulando outras. O ritual de “troca” de SCOBYs pode ser um alerta na hora de escolher qual Kombucha ingerir, devido à possibilidade de contaminação cruzada por não saber exatamente onde o produto está sendo fermentado.

A água está em maior quantidade no processo e precisa ser escolhida com a mesma atenção dos substratos. A água utilizada deve possuir um conteúdo mineral equilibrado e pH próximo da neutralidade, para que o pH final esteja moderadamente ácido (CRUM H. & LAGORY A., 2016).

Para obtenção de um chá que mantenha sempre as mesmas características é necessário a fixação dos parâmetros ou o desenvolvimento de misturas. Quando o processo fermentativo não é realizado em locais com temperatura ideal fixada (24°C a 30°C) o clima da região influencia no tempo de fermentação, a temperatura influencia ativamente no processo, por isso, a escolha da mesma deve estar de acordo com o resultado pretendido. Quanto mais tempo o chá fermentar maior será a acidez do meio, interferindo no sabor, que passa a ser um pouco mais avinagrado. O aroma remetente ao vinagre já é atrelado à Kombucha (JAYABALAN, R. et al., 2014) e vai se intensificando ao longo da fermentação.

3.3.1. Associação simbiótica

O controle dos parâmetros quando se trata da Kombucha pode ser algo complexo, visto que, por se tratar de uma associação simbiótica, os microrganismos presentes na matriz possuem diferentes condições de adaptação e multiplicação. O processo fermentativo ocorre na presença de oxigênio, isso devido à evolução resultante da relação simbiótica de bactérias fermentadoras e outras formas de vida unicelulares, como os fungos. Os dois tipos de organismos passaram a usar os produtos metabólicos um do outro e assim se mantêm na mesma matriz.

CRUM H. & LAGORY A., 2016, no livro “*The big Book of Kombucha*” páginas 96-7, comparam a fermentação com a respiração celular e explicam a simbiose da cultura:

“Fermentação e respiração são os dois processos pelos quais a levedura metaboliza carboidratos. Fermentação ocorre sob condições anaeróbicas e é o processo que converte açúcares em dióxido de carbono e etanol. A respiração ocorre sob condições aeróbicas e converte açúcares em dióxido de carbono e água. Kombucha é um fermentação única na medida em que emprega ambos os processos em diferentes vezes no ciclo de infusão.”

A evolução dessa simbiose é conhecida como *simbiogênese*. Em seu livro “*A arte da fermentação*” o autor KATZ S. E., página 32, cita como os microbiologistas *Sorin Sonea e Léo G. Mathieu* elaboraram o conceito:

“A simbiogênese, com milhares de diferentes genes bacterianos, enriqueceu de maneira decisiva o potencial metabólico limitado dos organismos eucariotas, acelerando e facilitando muito mais a sua adaptação do que seria possível apenas por meio da mutação aleatória.”

Após o início do processo fermentativo da Kombucha, nota-se a simbiose através da adaptação da matriz no fermentador, microrganismos anaeróbicos se mantêm na parte inferior da matriz, onde ocorre a liberação de gás carbônico e os microrganismos aeróbicos permanecem na parte superior em contato com meio externo.

3.3.2. Primeira fermentação

O primeiro processo leva um tempo de 7 a 10 dias, geralmente. Inicia-se com uma infusão feita através da planta *C. sinensis* e adoçada com açúcar, 50 a 150g/litro (5 a 15%) (GREENWALT C.J., et al., 2000). O chá é resfriado a uma temperatura ambiente e adicionado ao recipiente de fermentação. Como este primeiro processo é aeróbio, utiliza-se um recipiente de vidro com boca larga para que a fermentação aconteça na superfície. Quanto maior o diâmetro exposto do recipiente, maior será a superfície de contato que realiza a fermentação. Em seguida adiciona-se 5% a 10% de volume do chá já fermentado (JAYABALAN R. et al., 2014), este processo é importante, pois a acidificação do ambiente torna-o mais seletivo, favorecendo os microrganismos presentes no SCOBY e desfavorecendo potenciais contaminantes. Assim que o chá adoçado e parte do chá já fermentado são

adicionados ao fermentador, inocula-se o SCOBY. Nessa etapa é muito importante cobrir o recipiente com um pano poroso que permita a passagem de ar e impeça a presença de moscas ou esporos (KATZ S. E., 2012, p. 234).

Após alguns dias já nota-se o processo de fermentação acontecendo, aparecem bolhas de ar na parte inferior do SCOBY e uma nova película de celulose se forma na parte superior. Se caso isso não acontecer, a “cultivo mãe” deixou de ser saudável (SANTOS M. J., 2016, p. 10). O novo SCOBY apresenta a forma do recipiente utilizado e à medida que passa por mais processos fermentativos, sua espessura aumenta.

A temperatura ideal para o desenvolvimento da kombucha varia entre 24°C e 30°C, quanto menor for a temperatura mais lento e menos eficiente será o processo (KATZ S. E., 2012, p. 235). Quando se trata do pH, a acidez da bebida deve ser observada a partir do terceiro dia de fermentação, a decisão de interromper o processo geralmente é baseada no sabor, porém é importante lembrar que a conversão do açúcar acontece quando o pH da mistura decai.

O material utilizado para a fermentação não poderá ser afetado por corrosão do meio ácido que resultará a Kombucha, que fica com pH final entre 2,7 e 3,1. Alguns relatos já foram feitos a respeito do recipiente escolhido para fermentar a Kombucha, em alguns casos ocorreu à migração de compostos tóxicos de recipientes de chumbo e cerâmica para a Kombucha durante a fermentação. Os materiais mais indicados são vidro e aço inox (NEFFE-SKOCIŃSKA, K. et al., 2017 & KATZ, S. E., 2012).

3.3.3. Segunda fermentação

A fim de agregar sabor e nutrientes à bebida, pode-se ainda realizar uma segunda fermentação, onde uma nova fonte de substrato é adicionada ao processo e o produto final transferido para um recipiente fechado. O fechamento do sistema dá início ao método de carbonatação. Segundo Sandor Katz em seu livro “A arte da fermentação” (2012), carbonatação é a técnica de liberação do gás carbônico aprisionado. Bebidas fermentadas, como a Kombucha, produzidas em recipientes abertos já podem ser ligeiramente efervescentes se estiverem ativas, porém ao utilizar um recipiente fechado não ocorre liberação de gás.

Após 7 dias de primeira fermentação, o SCOBY é retirado do fermentador e o líquido resultante passa por uma filtração para remover o excesso de biofilme ou celulose bacteriana, tornando o aspecto visual da bebida mais agradável. O chá de hibisco é adicionado em

seguida, 10% do volume total (BROOME T., 2015), e o líquido resultante é transferido a uma garrafa com tampa para que o gás produzido neste processo fique retido e a garrafa é levada para geladeira por, aproximadamente, dois dias.

3.4) Composição Bioquímica e alguns processos metabólicos

Os compostos sintetizados ao longo da fermentação dependem também de diferentes parâmetros como substrato escolhido, tipo de água, pH, tempo de fermentação, temperatura, devido a simbiose do inóculo utilizado a composição bioquímica final é bastante variável.

O sabor final da Kombucha deve ser claramente ácido, comprovando assim a presença de ácidos orgânicos tais como, acético, glucurônico, glucônico, láctico, cítrico (JAYABALAN R., et al., 2014). As bactérias acéticas que realizam a conversão da glucose em ácido glucônico e a frutose em ácido acético (CHEN C. & LIU B. Y., 2000), responsável pela autopreservação da bebida devido a sua atividade antimicrobiana. Estes açúcares aparecem no início do processo na sua forma mais simples, e as leveduras hidrolizam essa sacarose em frutose e glucose, através da ação da enzima invertase, produzindo etanol e dióxido de carbono. Como subprodutos destas transformações obtêm-se vitaminas do complexo B e C, glicerol, aminoácidos, enzimas ativas, dióxido de carbono, compostos fenólicos, minerais entre outros metabolitos microbianos (JAYABALAN R., et al., 2014).

Para confirmar a eficiência dos processos metabólicos, o pH da Kombucha deve decrescer ao longo dos dias, comprovando a existência de ácidos orgânicos, e a cor do líquido deve clarear gradativamente em relação à original, comprovando o consumo do substrato pelos microrganismos e as alterações que ocorrem na conformação dos compostos fenólicos.

3.5) Propriedades

Apesar de não existirem comprovações científicas dos benefícios acarretados pelo consumo de Kombucha, muito tem se falado da bebida quando o assunto é a melhoria da saúde humana. Alguns testes em modelos experimentais identificam propriedades hipoglicêmicas, antilipêmicas, antimicrobianas, antioxidantes, probióticas, entre outras.

Ahmed Aloulou et al. (2012), relatou que, em comparação ao chá preto de infusão, o Kombucha apresentou uma melhor atividade na inibição α -amilase e lipase no plasma e pâncreas e um melhor supressor do aumento dos níveis de glicose no sangue. Concluindo que a administração de chá de kombucha induziu efeitos curativos atraentes em ratos diabéticos,

particularmente em termos de funções fígado-rim.

A atividade microbiana da Kombucha foi verificada por Steinkraus et al. (1996) quando a bebida fermentada inibiu o crescimento de bactérias patogênicas. Os resultados encontrados foram semelhantes à inibição por vinagre, o que demonstra que parte da atividade inibitória da Kombucha está relacionada ao ácido acético presente em sua composição. O potencial antimicrobiano da bebida foi estudado por Battikh et al. (2013) onde verificaram maior eficiência do chá verde em relação aos demais.

Quando comparada aos chás de infusão, a Kombucha apresenta maior potencial antioxidante. Os produtos metabólicos, principalmente os ácidos orgânicos, liberados durante o processo fermentativo são responsáveis pela alta capacidade antioxidante do chá fermentado, porém esta atividade depende do tempo de fermentação, tipo de substrato utilizado e microrganismos presentes no inoculo (BATTIKH et al., 2013).

O efeito probiótico da Kombucha, apesar de muito relatado entre consumidores da bebida, ainda não foi comprovado. Apesar de alguns pesquisadores já relatarem a presença de bactérias ativas na composição da Kombucha, a não quantificação exata do SCOBY não permite que o termo probiótico seja utilizado. Segundo a Portaria nº 398 da Secretaria da Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde para que a capacidade probiótica seja atribuída à bebida, é necessário que a mesma contenha em sua composição microrganismos que possam conferir benefícios à saúde do indivíduo que o ingere, com quantidade estipulada (BRASIL, 1999).

Embora os benefícios da Kombucha sobre a saúde humana ainda não tenham sido cientificamente determinados, existem razões para acreditar que o chá tenha efeitos positivos. As implicações metabólicas de vários produtos já determinados como probióticos têm crescido e estes ganhando espaço nos últimos anos, alguns produtos alimentícios estão sendo comercializados atualmente como iogurte, queijo, vegetais fermentados e kefir. Todos eles conhecidos por conterem bactérias vivas, ou metabólitos de bactérias, sintetizados durante processos de fermentação semelhantes ao da Kombucha, o que impulsiona pesquisas e conclusões.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1) Preparo do substrato

Neste estudo, todo o processo de produção foi realizado artesanalmente. Os substratos utilizados foram folhas secas de chá verde (*Camellia sinenses*), e açúcar cristal orgânico

(marca Cristal) para a primeira fermentação, e chá de hibisco para a segunda fermentação. Os equipamentos utilizados foram: dois frascos de vidro com capacidade volumétrica de 1,3L, uma colher de silicone com cabo longo, peneira de aço inox, fitas para medição de pH, elástico, toalha de papel descartável, funil, caneco de aço inox com capacidade 1000mL.

4.1.1. Primeira fermentação

Inicialmente foi preparado o chá verde para infusão, pesou-se 50g das folhas de chá e 113g de açúcar cristal. Adicionou-se 500mL de água para fervura no caneco de aço inox, assim que a água atingiu uma temperatura média de 90°C, desligou-se o fogo e o chá verde foi adicionado ao recipiente e mantido em infusão por 3 minutos. Em seguida ao chá quente e concentrado adicionou-se o restante do volume de água (500mL) para diluir e resfriar a solução de chá. O chá foi resfriado 28°C para evitar a inativação do inóculo. No final, o açúcar foi adicionado ao fermentador de vidro esterilizado, juntamente com o chá e a mistura foi homogeneizada (GREENWALT C.J., et al., 2000 – Valores de referência adaptados).

Adicionou-se 20% de um Kombucha fermentado anteriormente, para evitar a contaminação com microrganismos deteriorantes. (JAYABALAN, R. et al., 2012). Após preparação dos substratos, um SCOBY, obtido no curso de oferecido pela empresa Vih alimentos, é adicionado ao recipiente, no início afundou e aos poucos foi se posicionando na superfície do líquido.

Por fim, a toalha de papel porosa foi fixada na parte superior do fermentador com um elástico de borracha, a fim de manter a circulação de ar e proteger o sistema de insetos ou sujeiras, como mostra a figura 1. O recipiente foi deixado em repouso por um período de 7 dias, temperatura ambiente, longe de luz direta.



Figura 1 – Disposição do fermentador no método artesanal

Ao longo do processo fermentativo um segundo SCOBY se formou na parte superior do líquido, no sétimo dia a matriz já apresentou maior espessura. A Kombucha fermenta melhor em ritmo contínuo, quanto mais fermentações forem realizadas, mais espesso é o SCOBY (KATZ, S.E.. 2012 p. 234).

4.1.2. Segunda fermentação

O processo de segunda fermentação da Kombucha é opcional, o líquido resultante da primeira fermentação já possui propriedades ativas e sabor agradável, porém a adição de sabor deixa a bebida com aspecto mais agradável e valor nutricional maior. Neste trabalho realizou-se a segunda fermentação com a flor de hibisco seca, a fim de potencializar a capacidade antioxidante da bebida e dar uma nota mais ácida no resultado final.

Ao final dos 7 dias da primeira fermentação, retirou-se o SCOBY do recipiente de vidro e realizou-se uma filtração simples com a mesma peneira do processo inicial. O fermentado resultante já possuía notas vinagradas e gaseificação natural e foi transferido para outro recipiente de vidro com capacidade de 1,3L, e reservado.

Preparou-se o chá de hibisco através do método de infusão, 100mL de água filtrada foram aquecidos e ao atingir temperatura média de 90°C, 5 gramas das folhas secas de flor de hibisco já pesadas foram adicionadas ao fervedor e deixadas em infusão por 3 minutos. Em seguida filtrou-se o chá para retirada das folhas e 100mL de água gelada foram adicionadas ao recipiente.

Após o chá de hibisco atingir a temperatura ambiente, o volume de 200mL foi transferido para o recipiente de vidro já contendo a Kombucha e homogeneizado com a colher de silicone. Em seguida, com o auxílio de um funil, a mistura foi transferida para garrafas de vidro de 275mL e fechadas completamente. Nesta etapa uma garrafa foi colocada na geladeira a uma temperatura média de 6°C e outra garrafa colocada fora da geladeira, à temperatura ambiente, para o teste de vida útil.

4.2) Tempo de viabilidade

Duas garrafas, de mesmo lote, foram comparadas, uma refrigerada a 6°C e outra mantida à temperatura ambiente, média de 28°C, sofrendo as variações decorrentes do clima. As amostras foram produzidas seguindo todos os processos já mencionados acima e envasadas no dia 06 de Maio de 2018, a viabilidade da bebida foi testada ao final de 40 dias. Dois testes foram realizados: análise de cor na superfície e influência do parâmetro temperatura.

4.2.1. Índice de escurecimento (IE)

O primeiro teste foi realizado pelo método digital, no qual registros das cores ao longo dos dias foram comparados em um sistema computacional com intuito de encontrar o índice de escurecimento (IE) enzimático da bebida. Este índice permitiu comparar as tonalidades de cores obtidas em cada amostra comprovando a continuidade das reações após o envase, quanto maior o IE, mais escura é a tonalidade da amostra. O uso da tecnologia de visão computacional para análise de alimentos foi revisada por Gunasekaran (1996) e Brosnan e Sun (2002) (YAM, K.L., 2004).

Foram analisadas cinco datas diferentes ao longo dos 40 dias: 6 de maio de 2018, 14 de maio de 2018, 28 de maio de 2018, 6 de junho de 2018 e 18 de junho de 2018, a amostra que ficou a temperatura ambiente durante este período foi denominada *amostra 1* e a amostra refrigerada *amostra 2*. As cores foram quantificadas e comparadas através do programa *Adobe Photoshop cs6®*, onde foi possível avaliar a variação das mesmas no modelo L, a* e b*. Este modelo é definido como padrão internacional para medição de cor, e foi desenvolvido pela Comissão Internacional de Iluminação em 1976 (YAM K. L., 2004). A sigla *L* quantificou valores de luminosidade, a sigla *a* variações do verde ao vermelho e a sigla *b* variações de azul e amarelo (Adobe Systems, 2002).

Os resultados encontrados no programa foram substituídos na equação 1, onde o Índice de Escurecimento (IE) foi calculado de acordo com Palou et al. (1999):

$$IE = [100 * (X - 0,31)]/0,172 \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

$$X = (a^* + 1,75L)/(5,645L + a^* - 3,02b^*)$$

4.2.2. *Influencia da temperatura*

A fim de analisar a viabilidade da Kombucha engarrafada para comercialização, a amostra 1 e amostra 2, deixadas 40 dias em temperaturas de 28°C e 6°C, respectivamente, foram sujeitas a monitoramento de pH, sabor, odor e o aspecto da bebida. O pH inicial foi medido assim que o substrato foi preparado, o segundo no momento que a fermentação foi interrompida e o último ao final dos 40 dias da bebida engarrafada.

4.3) **Análise de macronutrientes da bebida resultante**

Análise dos macronutrientes da Kombucha foi realizada na Universidade Federal de São João Del Rei – *Campus Sete Lagoas* no laboratório de Engenharia de Alimentos.

A construção da tabela foi realizada por meio do método digital, através do software DietWin®, programa que permite calcular as informações nutricionais dos alimentos de acordo com os ingredientes. Todos os cálculos são seguros à regulamentação da ANVISA para rotulagem dos alimentos.

4.4) **Análise Sensorial**

Uma amostra da Kombucha sabor hibisco foi levada até a Universidade Federal de São João Del Rei – *Campus Alto Paraopeba* para análise sensorial, no dia 12 de junho de 2018 das 17 às 19 horas. Durante o período de análise a sala se manteve estruturada de forma que quatro provadores experimentassem ao mesmo tempo, porém nenhum deles mantinha contato visual nem auditivo com os demais. Por se tratar de uma análise de aceitação, as fichas foram adequadas de forma que cada um dos provadores experimentasse uma amostra com código diferente, sendo que, o número 1 sempre estivesse presente no mesmo.

Cada provador recebeu 20mL da amostra e os atributos avaliados foram: cor

(aparência), odor, sabor, doçura, acidez e impressão global, em uma escala de 1 a 7 (1- Desgostei extremamente, 2- Desgostei muito, 3- Desgostei, 4- Não gostei nem desgostei, 5- Gostei, 6- Gostei muito, 7- Gostei extremamente). Os provadores também demonstraram sua opinião sobre a intenção compra da bebida, sendo avaliadas de 1 a 5 (1- Certamente não compraria, 2- Possivelmente compraria, 3- Talvez comprasse, talvez não, 4- Possivelmente compraria, 5- Certamente compraria), a ficha utilizada para Análise está representada na Figura 2.

Ficha de Avaliação do Teste de Aceitação e Intenção de Compra da Kombucha

Nome:	Provedor:
E-mail:	Data:

Você está recebendo uma amostra de Kombucha. Por favor, avalie para todos os atributos o quanto você gostou ou desgostou do produto utilizando a escala abaixo:

1 – Desgostei extremamente
 2 – Desgostei muito
 3 – Desgostei
 4 – Não gostei nem desgostei
 5 – Gostei
 6 – Gostei muito
 7 – Gostei extremamente

Código da amostra (3 dígitos)	Cor (aparência)	Odor	Sabor	Corpo	Espuma	Impressão global

Agora, por favor, responda:

– Com base em sua opinião sobre as amostras, indique na escala abaixo sua **intenção de compra**. Qual seria sua atitude de compra em relação a esta Kombucha?

1 – Certamente não compraria
 2 – Possivelmente não compraria
 3 – Talvez comprasse, talvez não comprasse
 4 – Possivelmente compraria
 5 – Certamente compraria

Código da amostra (3 dígitos)	Intenção de compra

Figura 2 – Ficha utilizada para Análise Sensorial

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1) Índice de escurecimento (IE)

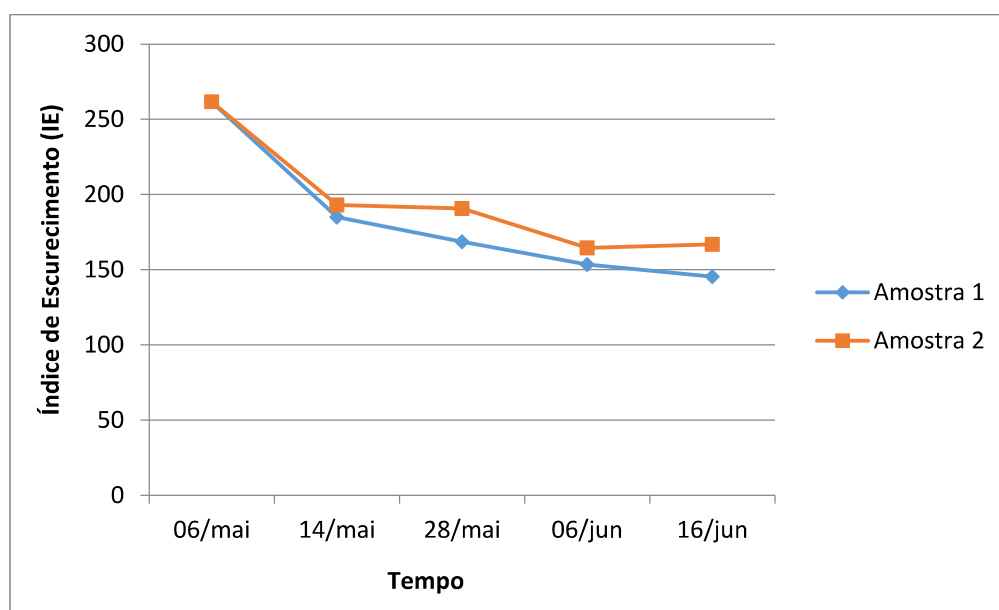
Através do *Adobe Photoshop cs6®* encontrou-se os valores de L, a* e b*, os mesmos foram substituídos na equação 1 e obteve-se os valores presentes na tabela 1. Foram realizados três testes no programa e em todos eles os valores de L, a* e b* foram os mesmos. Para melhor visualização dos valores de IE foi plotado um gráfico de linhas, como mostra a

figura 3.

Tabela 1 – Valores de L, a* e b* encontrados através do programa *Adobe Photoshop cs6®* e resultados do Índice de Escurecimento (IE) encontrados pela Equação 1.

	Amostra	L	a	b	IE
06/mai	1	49	59	43	261,627
	2	50	61	42	261,627
14/mai	1	58	61	43	184,88
	2	52	59	41	193,02
28/mai	1	59	57	38	168,6
	2	48	54	36	190,69
06/jun	1	59	56	37	153,48
	2	55	58	36	164,53
16/jun	1	61	58	36	145,348
	2	55	61	37	166,86

Legendas: 1 – Amostra 1, 2 – Amostra 2, L – Luminosidade, a – Variação vermelho e verde, b – Variação azul e amarelo, IE – Índice de Escurecimento



Legenda: Amostra 1 – Temperatura ambiente, média 28°C, Amostra 2 – Refrigerada a 6°C

Figura 3 – Índice de escurecimento enzimático das amostras de kombucha após 40 dias de estocagem a temperatura ambiente e sob refrigeração).

Acerca da análise do gráfico percebe-se que existe uma notável diferença no IE da amostra 1 e da amostra 2. No período de 6 a 14 de maio, nota-se uma maior queda de coloração em ambas as amostras, certamente por ainda existir resíduos dos substratos, chá e açúcar, disponíveis nas garrafas.

Ao encontrar o índice de escurecimento da bebida, conseguimos certificar, baseados

na mudança de cores, de que há uma alteração na conformação de compostos fenólicos devido ao aumento da concentração de prótons e à ação de enzimas microbianas sobre polifenóis (JAYABALAN R., 2014). Essa alteração na conformação pode trazer *flavors* muito avinagradas para a bebida e torná-la de difícil consumo.

Os resultados encontrados comprovam a necessidade de manter a Kombucha refrigerada após o envase. Analisando a figura 4 e comparando com os dados obtidos através do cálculo do IE é possível perceber que a amostra 2 apresentou maior valor de escurecimento enzimático quando comparada amostra 1, o que comprova que a manipulação da temperatura interrompeu as transformações decorrentes da mudança na conformação dos compostos fenólicos.

Acerca da amostra 1, é possível perceber que as alterações climáticas ao longo dos 40 dias de teste afetaram diretamente o comportamento dos microrganismos ativos presentes na Kombucha. Quando falamos em termos industriais e na venda do produto, fica clara a necessidade de uma fixação dos parâmetros, especialmente a temperatura, para obter uma bebida sempre com a mesma qualidade (KATZ, S.E.. 2012 p. 468-70)

Além do clareamento do líquido observou-se também que com o passar dos dias, a garrafa que ficou fora da geladeira (amostra 1), apresentou desenvolvimento de novos biofilmes de celulose bacteriana, como demonstra a figura 5, certamente se a amostra permanecesse por mais dias fora da geladeira um pequeno SCOBY se formaria com as medidas da garrafa.

A formação de sedimentos e biofilmes deixa a bebida com aspecto visual menos agradável ao consumidor, o que deixa claro mais uma vez que a temperatura afeta o comportamento dos microrganismos. Durante o período estudado, não houve formação de nenhuma película celulósica na garrafa refrigerada, comprovando que o tempo de prateleira da bebida refrigerada pode chegar até 50 dias.



Figura 4 – Diferença na coloração das amostras 1 e 2, respectivamente, ao final dos 40 dias de teste (16 de junho de 2018).

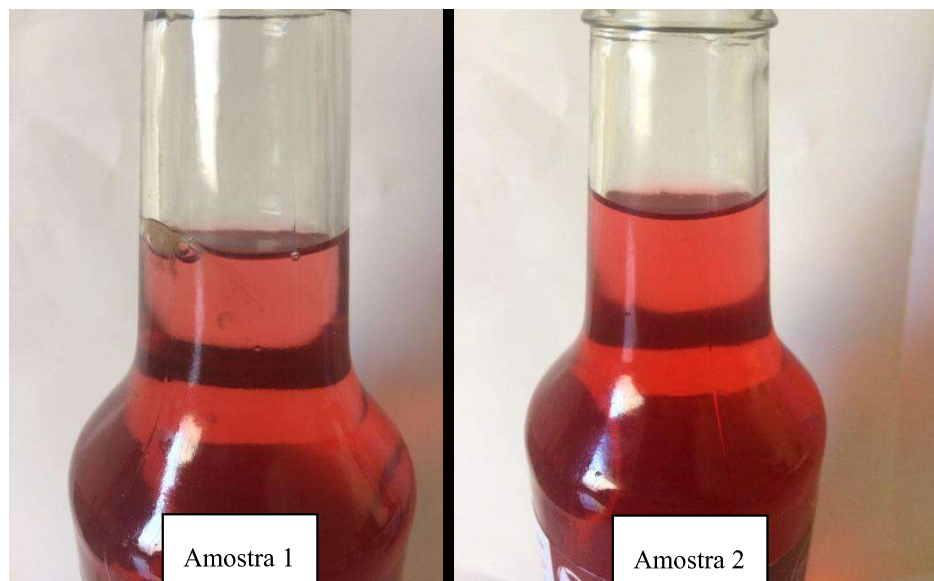
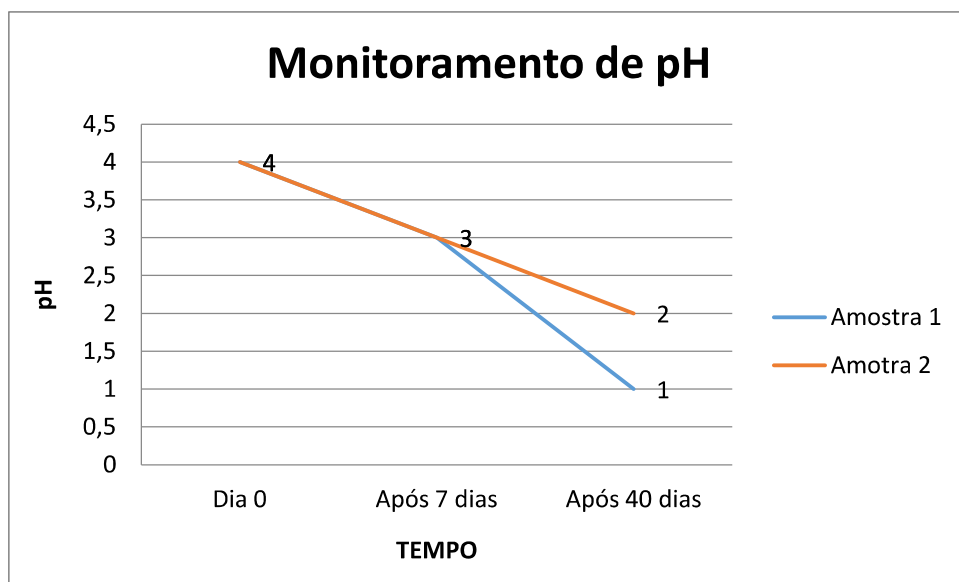


Figura 5 – Formação de biofilme de celulose bacteriana nas amostras 1 e 2.

5.2) Análise da temperatura

Devido à produção de ácidos orgânicos durante a fermentação, a queda do pH da Kombucha é natural, se isso não ocorrer a bebida não é considerada saudável, pois não haverá conversão do açúcar. A produção excessiva destes ácidos pode deixar a bebida com sabor intenso, de difícil consumo e elevar a concentração de etanol e gás carbônico. A medição do

pH é o fator que define se a fermentação está ocorrendo de maneira correta e geralmente é usada para determinar o fim do processo fermentativo (MALBAŠA, R. V., 2008). Os valores foram monitorados através do método de análise de cores com o auxílio das fitas de pH, escala de 0-14, tiras de 6x85mm.



Legendas: Amostra 1 – temperatura média 28°C, Amostra 2 – temperatura 6°C, as amostras foram colocadas em temperaturas diferentes após o período de 7 dias.

Figura 6 – Monitoramento de pH das duas amostras ao longo das etapas de fermentação

Todas as análises foram produzidas com amostras envasadas no mesmo dia, fermentadas com a mesma quantidade de substrato, durante o mesmo período de tempo e no mesmo local, apenas após o envase as amostras foram incubadas em temperaturas diferentes. Nota-se que a temperatura é um parâmetro que atua diretamente nos resultados da fermentação, pois a amostra 1, que se manteve a uma temperatura média de 28°C apresentou maior queda nos valores de pH., já a amostra 2, mesmo após 40 dias se manteve mais estável e com pH próximo ao pH de envase. Os microrganismos da Kombucha se desenvolvem melhor em temperaturas mais quentes (24 a 30°C) (KATZ, S.E.. 2012 p. 235) e o tempo de fermentação associado à temperatura que a amostra se encontra definem a acidez final da bebida.

A fermentação pode ocorrer em várias faixas de temperatura e tem a eficácia de estimular ou não os microrganismos presentes. Segundo Hannah Crum e Alex LaGoy (2016) no livro “*The big Book of Kombucha*” o intervalo de 27-29°C é ideal para a produção da bebida, especialmente de terceiro ao sétimo dia de fermentação, onde é necessário que exista um melhor equilíbrio entre leveduras e bactérias, bem como a síntese de ácidos orgânicos.

Ao analisar o odor e o sabor das duas amostras, notou-se que a amostra 1 apresentou odor e sabor muito avinagrados, o que dificulta a venda e aceitação da bebida. A amostra 2 apresentou odor semelhante ao da bebida no momento do envase e sabor com *flavors* mais frisantes quando comparado a amostra de 40 dias atrás, podendo ainda ser comercializada e ingerida. Além disso, a não refrigeração da amostra 1 levou a uma produção excessiva de gás carbônico, como demonstra a figura 7. Bebidas fermentadas produzem carbonatação natural quando mantidas em sistemas fechados, visto que a carbonatação pode ser definida como a liberação do dióxido de carbono aprisionado (KATZ, S.E.. 2012, p. 207).

Segundo CHEN C. & LIU B. Y. (2000), bactérias acéticas convertem a glucose em ácido glucônico e a frutose em ácido acético, a presença deste ácido estimula as leveduras a produzirem etanol e gás carbônico, que depois são utilizados pelas bactérias acéticas para o seu crescimento e para a síntese de mais ácido acético. A produção excessiva de ácido pode elevar a concentração alcoólica da Kombucha se o processo for interrompido no momento de síntese de etanol, segundo DECRETO Nº 6.871, DE 4 DE JUNHO DE 2009 no Art 12 bebida não-alcoólica é a bebida com graduação alcoólica até meio por cento em volume, a vinte graus Celsius, de álcool etílico potável (BRASIL, 2009).

O excesso de carbonatação levou também a perda de metade do conteúdo de líquido que estava presente na garrafa, o que é uma desvantagem na venda do produto, visto que o consumidor pagaria por um produto com volume de 275mL e consumiria apenas metade dele. A proporção de açúcar no início da fermentação, o tempo e a temperatura são fatores que influenciam diretamente na carbonatação natural da Kombucha.



Figura 7 – Amostras 1 e 2, em contato com oxigênio no momento de abertura das garrafas.

O controle da temperatura se mostra efetivo mais uma vez, visto que a interrupção do processo na etapa de produção de etanol poderia alterar as especificações da Kombucha e torná-la uma bebida com concentração alcoólica acima da determinada (até 0,5%) (BRASIL, 2009). Na figura 7, o excesso de gás da amostra 1, deixa evidente também que várias transformações metabólicas ainda ocorrem dentro da garrafa e que os microrganismos ativos são mais estimulados quando deixados a uma temperatura de 25 a 30°C.

5.3) Análise de macronutrientes

A tabela abaixo mostra os resultados encontrados na análise nutricional da Kombucha, quantificando os macronutrientes presentes.

Tabela 2 – Macronutrientes presentes na Kombucha de hibisco após análise no sistema DietWin®

Informação nutricional		
	Quantidade por porção (100 mL)	%VD(*)
Valor energético	44Kcal = 184KJ	2%
Carboidratos	11g	4%
Proteínas	não contém	0%
Gorduras totais	não contém	0%
Gorduras saturadas	não contém	0%
Gorduras trans	não contém	0%
Fibra alimentar	não contém	0%
Sódio	5,3mg	0%

(*) Os valores obtidos foram baseados em uma dieta de 2000kcal ou 8400KJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo da sua necessidade energética.

A tabela 2 apresenta apenas quantidades significativas de carboidratos, sendo assim para cada 1g de carboidrato tem-se 4Kcal. A sacarose é considerada um carboidrato simples que durante o processo fermentativo é metabolizado por leveduras presentes no SCOBY para que ocorra a síntese de ácido acético e gás carbônico (CRUM H. & LAGORY A, 2016), considerando que as análises foram realizadas com base nos ingredientes presentes no início do processo fermentativo e comparando os resultados com os obtidos através do cálculo do índice de escurecimento enzimático, é possível afirmar que com o passar dos dias o valor de carboidrato exposto na tabela 2 será reduzidos devido às transformações enzimáticas.

Os resultados foram satisfatórios, pois comprovam a ausência dos demais ingredientes, certificando a qualidade e a boa escolha dos substratos utilizados. A quantidade de sódio

encontrada é mínima ou insignificante, seguindo normas nas ANVISA.

5.4) Análise Sensorial

A análise sensorial em questão foi realizada através do método efetivo. Segundo Teixeira et al, 1987, as provas efetivas consistem na manifestação subjetiva do juiz sobre o produto testado, demonstrando se tal produto agrada ou desagrade, se é aceito ou não, se é preferido a outro. As provas resultam de uma manifestação pessoal e por isso apresentam maior variabilidade nos resultados e interpretação complexa.

Foram submetidos à análise 43 provadores, entre eles 80% são do sexo feminino, 20% sexo masculino, faixa etária média 20-40 anos, 90% cursando ensino superior, 10% ensino superior completo.

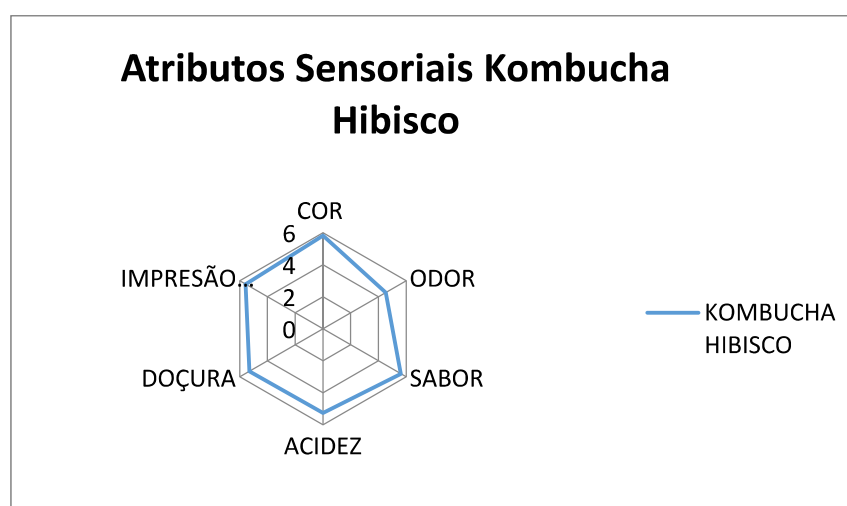


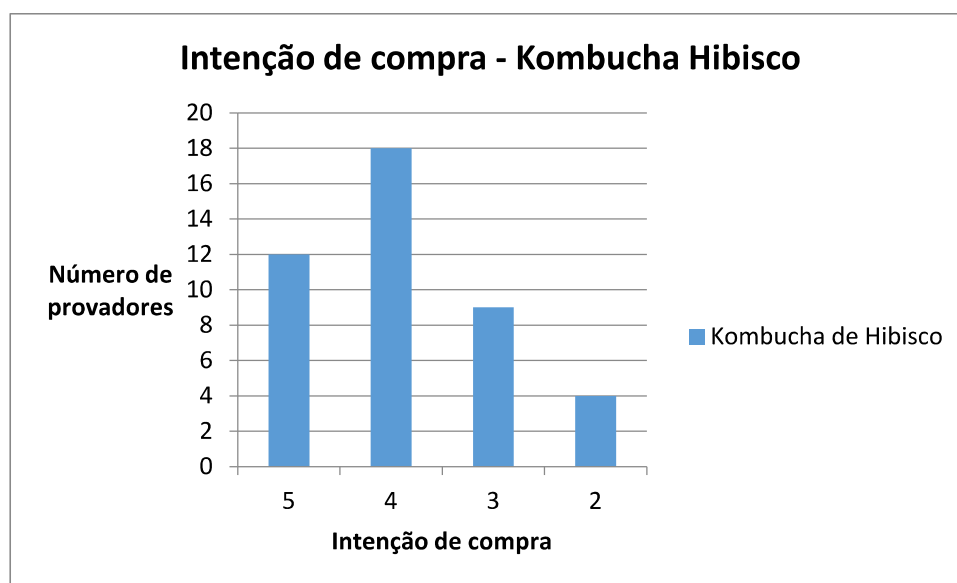
Figura 8 – Perfil Sensorial da Kombucha de hibisco analisado através da construção de um gráfico Radar.

Analisando os resultados percebe-se que o odor foi o atributo de menor aceitação, com uma média de 4,33, observando a escala encontra-se entre “Desgostei” e “Nem gostei, nem desgostei”, sendo que um provador “Desgostou extremamente”. Os comentários sugerem que a não aceitação está relacionada ao odor avinagrado da Kombucha, esse odor está presente devido ao processo natural de síntese de ácidos orgânicos pelas bactérias acéticas (CHEN C. & LIU B. Y., 2000), que se intensifica ao longo do processo fermentativo devido a queda do pH (MALBAŠA, R. V., 2008).

Apesar de o odor ter sido pouco aprovado, a cor, o sabor e a impressão global foram bem avaliados, com médias 5,83; 5,62; 5,58, respectivamente. Alguns comentários sugeriram

que a bebida despertou interesse e curiosidade nos provadores, avaliando assim a Intenção de Compra média como “Possivelmente Compraria”, como mostra a figura 9.

Um mesmo provador, desgostou do odor e comentou: “Compraria devido aos benefícios trazidos pela bebida”, isso mostra que para uma boa aceitação de mercado o público deve conhecer e estar ciente dos benefícios trazidos pela bebida. Uma apresentação da Kombucha, antes da Análise Sensorial, iria alterar a opinião de grande parte dos provadores na Intenção de Compra.



Legendas: 5 - Certamente compraria, 4 – Possivelmente compraria, 3 - Talvez comprasse, talvez não, 2 - Possivelmente não compraria

Figura 9 – Intenção de compra dos 43 provadores submetidos a análise sensorial da Kombucha de hibisco

A Kombucha, em especial, é um produto ainda pouco conhecido com propriedades e benefícios ainda não comprovados, o que influencia diretamente nos resultados da Análise Sensorial. Por muitos anos acreditou-se que o consumo de alimentos hiperesterilizados e processados eram a melhor escolha, retirando assim toda microbiota natural dos alimentos e acrescentando em suas composições conservantes e estabilizantes artificiais. Isso fez com que qualquer alimento que apresentasse um odor avinagrado parecesse “podre” ou “azedo”, sobretudo, o ácido acético, responsável pelo odor avinagrado, é um conservante natural de muitos alimentos *in natura* que possuem uma microbiota ativa.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

O potencial da Kombucha tem sido claramente demonstrado em pesquisas com organismos modelo e apesar da não comprovação dos benefícios em seres humanos, muito tem se falado sobre a bebida. As reações que ocorrem durante o processo fermentativo envolvem processos biotecnológicos e devida a expansão de cursos na área, o estímulo a pesquisas acerca do chá pode levar a resultados que desvendem os mistérios que ainda existem quando se fala em Kombucha.

Neste estudo foi possível verificar a influência da temperatura no armazenamento da Kombucha. As reações bioquímicas que ocorreram dentro das garrafas supõem a existência de microrganismos ativos, ainda não identificados, e sendo assim existe a possibilidade da bebida ser denominada um potencial probiótico.

A utilização de outros substratos como frutas e especiarias na segunda fermentação é uma alternativa para melhor avaliação do odor da bebida.

Como perspectiva futura do trabalho:

- Quantificar os microrganismos presentes no SCOBY;
- Isolar e quantificar os microrganismos do líquido final a fim de comprovar o efeito probiótico da bebida;
- Encontrar diferentes sabores de segunda fermentação;
- Determinar o nível de açúcares redutores;
- Análise bromatológica do conteúdo fermentado.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALOULOU, A., HAMDEN K., ELLOUMI D., ALI M. B., JAOUADI B., et al., *Hypoglycemic and antilipidemic properties of kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats*, v. 12, 2012, Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3403982/>> Última busca 21 de junho de 2018.
- BRASIL, DECRETO Nº6.871 de 4 de Junho de 2009, Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, Brasília, 2009.
- BROOME T., 2015. *Kombucha: The Tea of Immortality* em Fift Season Gardening, <http://fifthseasongardening.com/kombucha-the-tea-of-immortality>. Acesso em 21 de junho de 2018.
- BRASIL. **RDC nº 271, de 22 de setembro de 2005**. Aprova o regulamento técnico para açúcares e produtos para adoçar. ANVISA: Brasília, 2005.
- BASCHALI A. et al., *Traditional low-alcoholic and non-alcoholic fermented beverages consumed in European countries: a neglected food group*, volume 30, n.1, páginas 1-24, 2017. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28115036?report=abstract>> Acesso em 19 de junho de 2018.
- BATTIKH, H. et al., *Antibacterial and antifungal activities of black and green kombucha teas*. Journal of Food Biochemistry, volume 37, n. 2, páginas 231-236, 2013.
- BRASIL. Portaria nº 398 de 30 de abril de 1999. Estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. ANVISA: Brasília 1999.
- CHEN C., LIU B.Y., *Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation*. Journal of Applied Microbiology, volume 89, n.5, páginas 834-9, 2000.
- FONTES L. C. B. et al., Conservação de maçã minimamente processada com o uso

de películas comestíveis, Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, volume 28, n.4, páginas 872-880, out-dez, 2008.

- GREEWALT C. J. et al., Kombucha, the Fermented Tea: Microbiology, Composition and Claimed Health Effects, Journal of Food Protection, Volume 63, páginas 976-981, 2000.
- HARBOWY M.E., BALENTINE D.A, *Tea Chemistry*, Critical Reviews in Plant Sciences, volume 16, páginas 415-80, 1997.
- JAYABALAN R. et al., *Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation*, Food Chemistry, volume 102, n.1, páginas 392-8, 2007.
- 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, volume 13, n. 4, páginas 538-550, 2014.
- KATZ, S.E., *A arte da fermentação*, 1 ed., São Paulo, SESI-SP editora, 599 páginas, 2012. ISBN: 9788567362182.
- MUKHTAR, M.A. *The effect of feeding rosella (Hibiscus sabdariffa) seed on broiler chicks performance*. Research Journal Animal and Veterinary Science, volume 2, páginas 21-23, 2007.
- MANFREDINE V. et al., Chá verde: benefícios para a saúde humana, Revista Informa, Porto Alegre, 2001, volume 16, nº 9-10, páginas 68 -70.
- MARÍN A.L. S, *et al.* Extração, indentificação e quantificação de cafeína em chá composto (*Camellia sinensis* e *Hibiscus sabdariffa* L.) por cromatografia líquida de alta efeciência (CLAE) Syn.scy, UTFPR, Pato Branco, volume 10, n.1, páginas 59-66, 2015.
- MALBAŠA, R. V.; LONČAR, E. S.; DJURIĆ, M. *Comparison of the products of Kombucha fermentation on sucrose and molasses*, Food Chemistry, volume 106, páginas 1039-1045, 2008.
- 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, volume 15, n. 4, 2017.

- PRENESTI E. *et al.*, *Food Chemistry* Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers. Volume 100, edição 2, páginas 433–438, 2007.
- PEDERSEN J.A., *Kombucha: a tasty Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts* em Nordic Food Lab, 2013. <<http://nordicfoodlab.org/blog/2013/2/komboooucha>>. Acesso em 21 de junho de 2018.
- RIBEIRO A. A. M., Avaliação da atividade antioxidante de diferentes marcas de chá de *Hibiscus sabdariffa* L., Trabalho de conclusão de curso, Universidade de Brasília, 57 p., Brasília, 2017.
- RAMOS D.D. *et al.*, *Atividade antioxidante de Hibiscus sabdariffa L. em função do espaçamento entre plantas e da adubação orgânica*. Ciência Rural, Santa Maria. Volume 41, n.8, páginas 1331-1336, agosto, 2011.
- REISS, J. *Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus*. Z. Lebensm. Unters. For, Berlin, v. 198, n. 3, páginas 258-261, 1994.
- SILVA, S.R.S. *et al.*, O uso do chá preto (*Camellia sinenses*) no controle de diabetes mellitus, Revista Ciência Farmaceuticas Básicas e Aplicadas, Viçosa, outubro de 2010, páginas 133-142.
- SANTOS M. J., *Kombucha: Caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração*, 2016, 100f., Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Gastronômicas, Instituto superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2016.
- STEINKRAUS K.H. *et al.*, *Investigations into the Antibiotic Activity of Tea Fungus/Kombucha Beverage*, Acta Biotechnologica, volume 16, n. 2-3, páginas 199-205, 1996.
- SIEVERS M. *et al.*, Microbiology and Fermentation Balance in a Kombucha Beverage Onbtained from a Tea Fungus Fermentation, Systematic and Applied Microbiology, volume 18, n. 4, páginas 590-4, 1995.
- TEIXEIRA E. *et al.*, Análise sensorial de alimentos, Florianópolis, UFSC, 180 páginas, 1987.

