



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

MILENA ARAÚJO ROSSONI

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DA BEBIDA KOMBUCHA DE ERVA
MATE (*Ilex paraguarienses*) UTILIZANDO DIFERENTES FONTES DE
CARBOIDRATOS**

LARANJEIRAS DO SUL

2019

MILENA ARAÚJO ROSSONI

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DA BEBIDA KOMBUCHA DE ERVA
MATE (*Ilex paraguarienses*) UTILIZANDO DIFERENTES FONTES DE
CARBOIDRATOS**

Dissertação de mestrado, apresentada para o Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Thiago Bergler Bitencourt

Coorientadora: Prof^a Dr^a Vânia Zanella Pinto

LARANJEIRAS DO SUL

2019

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Rossoni, Milena Araújo
DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DA BEBIDA KOMBUCHA
DE ERVA MATE (*Ilex paraguariensis*) UTILIZANDO DIFERENTES
FONTES DE CARBOIDRATOS / Milena Araújo Rossoni. -- 2019.
41 f.:il.

Orientador: Doutor Thiago Bergler Bitencourt.

Co-orientadora: Doutora Vânia Zanella Pinto.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da
Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos-PPGCTAL, Laranjeiras do Sul, PR
, 2019.

1. Kombucha de erva mate (*Ilex paraguariensis*). 2.
Melado de cana-de-açúcar. 3. Mel de abelha Borá
(*Tetragona clavipes*). 4. Mel de abelha Apis (*Apis
melífera*). 5. Mel de abelha Mandaguari (*Scaptotrigona
Postica*). I. Bitencourt, Thiago Bergler, orient. II.
Pinto, Vânia Zanella, co-orient. III. Universidade
Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

MILENA ARAÚJO ROSSONI

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DA BEBIDA KOMBUCHA
DE ERVA MATE (*Ilex paraguariensis*) UTILIZANDO DIFERENTES
FONTES DE CARBOIDRATOS

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação Stricto Sensu, da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS, para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:

31.07.2019

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Thiago Bergler Bitencourt (UFFS – presidente / orientador)


Prof.ª Dra. Vânia Zanella Pinto (UFFS – coorientadora)


Prof.ª Dra. Cátia Tavares dos Passos Francisco (UFFS – 1º membro)


Prof. Dr. Gustavo Henrique Fidelis dos Santos (UFFS – 2º membro)


Prof.ª Dra. Leda Battestin Quast (UFFS – suplente)

AGRADECIMENTOS

Por toda trajetória de aprendizado, crescimento e amadurecimento que passei no período do mestrado, só tenho a agradecer a todos que de alguma forma contribuíram, me auxiliando, motivando, ajudando ou torcendo.

Às minhas famílias, aquela que formei e amo tanto, minha filha Ágata e meu noivo Rodrigo; A minha família, pais e irmãs que sempre me apoiaram, acreditaram, torceram; A família do meu noivo; As colegas que me acompanharam no mestrado, principalmente aqueles que me auxiliaram nas análises; Aos professores que repassaram seu conhecimento da melhor maneira possível, em especial aos meus orientadores Thiago e Vânia e aos professores que foram membros da banca avaliadora, Cátia e Gustavo.

À Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Laranjeiras do Sul e ao Programa de Pós Graduação de Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade.

RESUMO

Kombucha é a bebida obtida pela fermentação de chá adoçado por um consórcio de leveduras e bactérias ácido acéticas, sendo que os chás usualmente utilizados são chá preto e chá verde, adoçados com sacarose. O objetivo do presente trabalho foi desenvolver uma kombucha de erva mate (*Ilex paraguariensis*) avaliando a influência da variação de fontes de carboidratos provenientes de sacarose, melado de cana-de-açúcar e mel de abelhas Apis (), Borá (*Tetragona clavipes*), e Mandaguari (*Scaptotrigona Postica*); Foi realizada a caracterização da kombucha por meio de análises de pH, acidez total, sólidos solúveis, proteínas solúveis, compostos fenólicos totais e individuais; No produto final também foi realizada análise sensorial dos atributos aparência, aroma, sabor cor e avaliação global e em relação a intenção de compra. Essa diferenciação na fonte de carboidratos apresentou variações nas análises realizadas tanto favoráveis, quanto desfavoráveis para o produto final, onde as diferentes fontes influenciaram no período em que os compostos bioativos estariam em sua maior concentração durante o processo fermentativo, como também ocorreu de a formulação com melado de cana-de-açúcar favorecer a elevação da acidez total da bebida, resultando em um decréscimo da aceitação sensorial.

Palavras-chave: Kombucha. Erva mate (*Ilex paraguariensis*). Melado de cana-de-açúcar. Mel de abelha Borá (*Tetragona clavipes*). Mel de abelha Apis (*Apis melífera*). Mel de abelha Mandaguari (*Scaptotrigona Postica*).

ABSTRACT

Kombucha is the beverage obtained by fermenting tea sweetened by a consortium of yeast and acetic acid bacteria, and the teas usually used are black tea and green tea, sweetened with sucrose. The objective of the present work was to develop a mate herb kombucha (*Ilex paraguariensis*) evaluating the influence of the variation of carbohydrate sources from sucrose, sugarcane syrup and bee honey *Apis* (*Apis melifer*), Borá (*Tetragona clavipes*), and Mandaguari (*Scaptotrigona Postica*); The characterization of kombucha was performed by analysis of pH, total acidity, soluble solids, soluble proteins, total and individual phenolic compounds; In the final product was also performed sensory analysis of the appearance, aroma, taste, color and overall assessment and purchase intention. This differentiation in the carbohydrate source presented variations in the analyzes performed both favorable and unfavorable for the final product, where the different sources influenced in the period in which the bioactive compounds would be in their highest concentration during the fermentation process, as well as the formulation with Sugar cane molasses favor the increase of the total acidity of the drink, resulting in a decrease in sensory acceptance.

Keywords: Kombucha. Yerba mate (*Ilex paraguariensis*). Sugar cane molasses. Borá Bee Honey (*Tetragona clavipes*). *Apis* bee honey (*Apis melifera*). Mandaguari Bee Honey (*Scaptotrigona Postica*).

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1 – Diferentes substratos utilizados para a produção de kombucha por diferentes autores.

Tabela 2 – Dados referentes às variações dos componentes analisados nas cinco formulações de kombucha no decorrer da fermentação.

Tabela 3 – Dados relativos a análise sensorial das cinco formulações de kombucha.

Figura 1 – Fórmula estrutural de compostos bioativos.

Figura 2 – Médias de pH das cinco formulações de kombucha de erva mate no decorrer da fermentação. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).

Figura 3 - Médias de acidez total das cinco formulações de kombucha de erva mate no decorrer da fermentação. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).

Figura 4 – Médias de °Brix das cinco formulações de kombucha de erva mate no decorrer da fermentação. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).

Figura 5 – Médias de proteínas solúveis das cinco formulações de kombucha de erva mate no decorrer da fermentação. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).

Figura 6 – Média de açúcares redutores das cinco formulações de kombucha de erva mate no decorrer da fermentação. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).

Figura 7 – Média de compostos fenólicos totais das cinco formulações de kombucha de erva mate no decorrer da fermentação. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).

Figura 8 – Concentração de compostos fenólicos verificados na kombucha adoçada com mel apis. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).

Figura 9 – Concentração de compostos fenólicos verificados na kombucha adoçada com mel borá. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).

Figura 10 – Concentração de compostos fenólicos verificados na kombucha adoçada com melado de cana-de-açúcar. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).

Figura 11 – Concentração de compostos fenólicos verificados na kombucha adoçada com mel mandaguari. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).

Figura 12 – Concentração de compostos fenólicos verificados na kombucha adoçada com sacarose. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).

Figura 13 – Médias de notas recebidas pelos avaliadores na análise sensorial das cinco formulações de kombucha.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	OBJETIVOS.....	13
2.1	OBJETIVO GERAL.....	13
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
3.1	FERMENTADO DE KOMBUCHA.....	14
3.2	COMPOSIÇÃO DA CULTURA DA KOMBUCHA	15
3.3	COMPONENTES PARA A ELABORAÇÃO DO FERMENTADO KOMBUCHA.....	16
3.4.1	Chás.....	16
3.4.2	Fonte de carboidratos	17
4	METODOLOGIA	19
4.1	MATERIAIS	19
4.2	PREPARO DO CHÁ PARA A FERMENTAÇÃO	19
4.3	CARACTERIZAÇÃO DA KOMBUCHA DE ERVA MATE NO DECORRER DA FERMENTAÇÃO	19
4.4	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	20
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	21
4.6	ANÁLISE SENSORIAL DO PRODUTO FINAL	22
5	RESULTADOS.....	23
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA KOMBUCHA DE ERVA MATE NO DECORRER DA FERMENTAÇÃO	23
5.2	ANÁLISE SENSORIAL DO PRODUTO FINAL	34
6	CONCLUSÃO	36
7	REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

As pesquisas sobre as tendências da alimentação para os próximos anos no Brasil, apontam que alguns fatores como o aumento dos níveis de educação e informação, envelhecimento da população, descobertas científicas que correlacionam dietas com certas doenças, elevação da renda e estilo de vida, são responsáveis pela maior seletividade das pessoas na escolha dos seus produtos alimentares. Este novo perfil de consumidores busca não só alimentos que satisfaçam as necessidades fisiológicas, mas também, produtos que apresentem de alguma forma “saudabilidade” e “bem estar”, além de promover benefícios à saúde (BARBOSA et al., 2015). Desta forma, inúmeros alimentos e bebidas são desenvolvidos todos os dias por indústrias e instituições de pesquisa, como por exemplo, a kombucha (VILLARREAL-SOTO et al, 2019; DE FILIPPIS et al., 2018; VITAS et al, 2018; ZUBAIDAH et al, 2018; AMARASINGHE; WEERAKKODY; WAISUNDARA, 2018; NEFFE-SKOCIŃSKA et al, 2017).

A kombucha, chá de kombucha ou kombuchá refere-se à bebida resultante da fermentação de chá adoçado por colônias simbióticas compostas por leveduras e bactérias ácido acéticas, denominadas SCOBY (“Symbiotic Colony of Bacteria and Yeast”) (DE FILIPPIS et al., 2018). Seu consumo é relatado desde 220 anos aC, sendo que o hábito de consumo estava associado com benefícios à saúde como a ação energizante e desintoxicante, além de servir como tratamento para problemas digestivos (JAYABALAN; MALBAŠA; SATHISHKUMAR, 2016).

A fermentação da kombucha resulta em um produto levemente ácido e levemente adocicado, com a presença de diversos compostos benéficos à saúde, como ácidos orgânicos, aminoácidos, polifenóis, vitaminas entre outros (JAYABALAN et al., 2014).

Estes compostos resultam das diferentes fontes de carboidratos, bem como dos chás empregados como base do fermentado. Entre os compostos que podem trazer benefícios à saúde estão os compostos bioativos, dentre eles os compostos fenólicos, que são importantes constituintes da dieta, podendo ser provenientes de alimentos origem animal, vegetal ou do metabolismo de microrganismos. Um exemplo de fonte de compostos fenólicos é a erva mate (*Ilex paraguariensis*) (OLIVEIRA; BASTOS, 2011).

O chá mate é uma bebida típica das regiões subtropicais, nativo da América do Sul, e é amplamente consumido no sul do Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai. Este é produzido a partir das folhas de *Ilex paraguariensis* e apresenta características semelhantes aos chás da *Camellia sinensis* (SANTOS et al., 2018).

Os chás verde e preto (derivados da *Camellia sinensis*) são os substratos mais usuais para o preparo da kombucha, entretanto, em diversos estudos foram estabelecidos usos de substratos alternativos como milefólio, salak, carvalho, chá preto com gérmen de trigo, chá preto adoçado com melado de beterraba, entre outros (GAMBOA-GÓMEZ et al., 2017; MALBAŠA; LONČAR; DJURIĆ, 2008; SUN; LI; CHEN, 2015; VÁZQUEZ-CABRAL et al., 2017; VITAS et al., 2018; ZUBAIDAH et al., 2018).

Dentre os carboidratos utilizados para a fermentação da kombucha, a sacarose é o mais utilizado por ser o açúcar de mais fácil acesso para a população, entretanto existem outras possíveis fontes de carboidratos para a produção desta bebida que ainda não foram estudadas, como o melado de cana-de-açúcar e diferentes tipos de méis. O melado consiste em uma redução por meio de evaporação do líquido obtido a partir da moagem da cana-de-açúcar, que apresenta aproximadamente 59% de açúcares redutores (NOGUEIRA et al, 2009; BRASIL, 2019). O mel é o produto alimentício natural elaborado por abelhas melíferas a partir de néctar de flores e/ou secreções sacarínicas de plantas, sendo que composição do mel é afetada por alguns fatores como a espécie da abelha, a região em que a mesma se encontra e/ou quais espécies de flores foram utilizadas como fonte de néctar (BRASIL, 2000; ARAUJO, 2016).

Uma vez que os principais componentes do mel são açúcares, a utilização de mel de diferentes espécies permitirá avaliar o efeito das diferentes fontes de carboidratos no metabolismo do SCOBY durante a fermentação da kombucha.

Desta forma, a pesquisa e o desenvolvimento de novos produtos, que atendam as demandas dos consumidores em busca por alimentos e bebidas que apresentem “saudabilidade”, “bem estar” e benefícios à saúde são promissores quando envolvem novas fontes de carboidratos e chás ricos em compostos bioativos no processo fermentativo de bebidas.

Por meio da avaliação da influência de diferentes fontes de carboidratos, objetivou-se desenvolver e caracterizar bebida fermentada de chá mate (*Ilex paraguariensis*) pela cultura kombucha, utilizando sacarose, melado de cana-de-

açúcar e mel de abelhas Apis (*Apis mellífera*), Borá (*Tetragona clavipes*), e Mandaguari (*Scaptotrigona Postica*).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar bebida produzida a partir da fermentação do chá mate (*Ilex paraguarienses*) pela cultura kombucha, utilizando como fontes de carboidrato sacarose, melado de cana-de-açúcar e mel de abelhas Apis (*Apis mellífera*), Borá (*Tetragona clavipes*), e Mandaguari (*Scaptotrigona Postica*).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir a bebida fermentada kombucha de erva mate adicionada de diferentes fontes de carboidratos: sacarose, melado de cana-de-açúcar e mel de abelhas Apis (*Apis mellífera*), Borá (*Tetragona clavipes*), e Mandaguari (*Scaptotrigona Postica*);
- Caracterizar a kombucha de erva mate por meio de análises de pH, acidez, sólidos solúveis, açúcares redutores, proteínas solúveis, compostos fenólicos totais e individuais ao longo do período fermentativo;
- Realizar análise sensorial na bebida para avaliar sua aceitação e intenção de compra.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 FERMENTADO DE KOMBUCHA

Kombucha, kombuchá ou chá de kombucha são os nomes dados para a bebida à base de chá adoçado fermentado por uma colônia simbiótica composta por leveduras e bactérias ácido acéticas, denominada SCOBY (“Symbiotic Colony of Bacteria and Yeast”; (DE FILIPPIS et al., 2018). O preparo da bebida ocorre pela adição de uma pequena porção do SCOBY no chá adoçado, e a adição de 10 a 15% (v/v) de kombucha previamente fermentada. No decorrer da fermentação, os microrganismos produzem um biofilme celulósico espesso na interface líquido-ar. A fermentação é estática e o tempo de fermentação usual é de 7 a 14 dias, sendo que houve estudos que estenderam até 28 dias, à temperatura aproximada de 25 °C (CHAKRAVORTY et al., 2016).

Usualmente a kombucha é preparada com chás verde e preto (*Camellia sinensis*), entretanto existem estudos que apresentaram a utilização de substratos alternativos, como pode ser observado na Tabela 1. Não foram encontrados relatos da produção da bebida com chá mate ou com carboidratos provenientes de mel, e melado de cana-de-açúcar.

Tabela 1 – Diferentes substratos utilizados para a produção de kombucha por diferentes autores.

Substrato utilizado	Tempo (dias)	Proporção de açúcar	Autores
Salak	14	10 % (m/v)	ZUBAIDAH et al., 2018
Folhas de carvalho	7	10 g/L	GAMBOA-GÓMEZ et al.; VÁZQUEZ-CABRAL et al., 2017
Chá preto com Grama de trigo	12	10 % (m/v)	SUN; LI; CHEN, 2015
Sacarose e melado de beterraba	14	70 g/L	MALBAŠA; LONČAR; DJURIĆ, 2008
Milefólio	7	70 g/L	VITAS et al., 2018

Os benefícios associados ao consumo da kombucha são relacionados aos componentes da bebida, tanto aqueles presentes no próprio substrato como aqueles que são gerados como metabólitos dos microrganismos. Estudos avaliaram o depoimento de consumidores assíduos da kombucha, que relataram vastos benefícios associados ao consumo, como a redução da pressão arterial, redução dos problemas

inflamatórios, promoção das funções do fígado, normalização da atividade intestinal, equilíbrio da flora intestinal, redução da obesidade pela regulação do apetite, melhora do sistema imunológico, alívio de dores de cabeça, entre outros. Em experimentos com animais foram constatadas ações benéficas da kombucha como agente antimicrobiano, antioxidante, hepatoprotetor, anticarcinogênico (JAYABALAN; MALBAŠA; SATHISHKUMAR, 2016).

3.2 COMPOSIÇÃO DA CULTURA DA KOMBUCHA

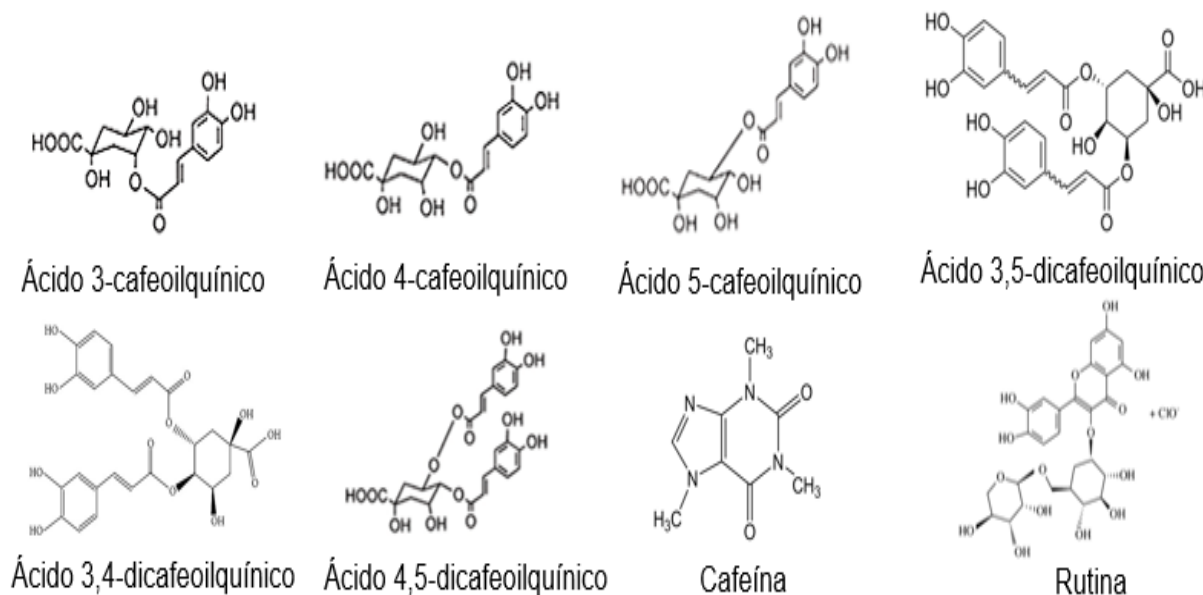
A composição microbiana da kombucha depende da sua origem e da disponibilidade de bactérias do meio. Estudos relatam que existe uma grande variedade de microrganismos isolados em kombuchas, sendo que as bactérias abundantemente disponíveis pertencem aos gêneros *Acetobacter* e *Gluconobacter*, e as leveduras disponíveis na cultura da kombucha pertencem ao gênero *Brettanomyces / Dekkera*, *Candida*, *Koleckera*, *Mycotorula*, *Mycoderma*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Torulospora* e *Zygosaccharomyces* (JAYABALAN et al., 2014).

Estudos identificaram, através de análises químicas da kombucha, a presença de vários ácidos orgânicos, tais como ácido acético, glucônico, glucurônico, cítrico, L-lático, málico, tartárico, malônico, oxálico, succínico, pirúvico, succínico além de açúcares, tais como sacarose, glicose e frutose, vitaminas B1, B2, B6, B12 e C, proteínas e aminoácidos, purinas, pigmentos, lipídios, algumas enzimas hidrolíticas, etanol, matéria antibiótica ativa, dióxido de carbono, fenol, alguns polifenóis do chá base, minerais, ânions, bem como produtos de levedura e metabólitos bacterianos (JAYABALAN et al., 2014).

Os compostos fenólicos são compostos bioativos considerados essenciais à vida, que nos fornecem benefícios à saúde por interferirem em alvos fisiológicos específicos, fornecendo defesas antioxidantes, inflamatórias e mutagênicas. Os compostos fenólicos podem estar presentes em fontes de produtos de origem animal (ácido graxo como ômega 3 e conjugados), vegetal (carotenoides, compostos fenólicos, fitoesteróis) ou a partir do metabolismo de microrganismos (OLIVEIRA; BASTOS, 2011). Diversos compostos fenólicos são encontrados em infusões aquosas (MEINHART, 2018), a estrutura química de alguns compostos fenólicos encontrados

em plantas como a erva mate (*Ilex paraguariensis*) estão demonstradas na Figura 1, a seguir.

Figura 1 – Fórmula estrutural de compostos bioativos.



3.3 COMPONENTES PARA A ELABORAÇÃO DO FERMENTADO KOMBUCHA

3.4.1 Chás

Os chás verde e preto (*Camellia sinensis*), originários da Ásia, estão entre as bebidas mais populares e amplamente consumidas no mundo, sendo que o aumento do consumo mundial tem sido relacionado às suas funcionalidades, que mostraram uma relação direta entre o consumo contínuo de chás e o risco reduzido de doenças degenerativas, devido aos seus vários antioxidantes e compostos fenólicos, principalmente catequinas e seus derivados (SANTOS et al., 2018).

Os chás usualmente utilizados para a produção de kombucha são os chás verde e preto (*Camellia sinensis*) adoçados com 5 a 8 % de sacarose. Entretanto Jayabalan et al. (2014) revisou outras fontes de substratos para a fermentação como chá verde, chá de erva-cidreira, chá de amora, chá de jasmim, chá oolong, sálvia, tomilho, chás de hortelã, entre outros.

Na região sul do Brasil, um dos chás mais consumidos é o chá mate, que é produzido a partir das folhas de *Ilex paraguariensis*, planta típica das regiões

subtropicais e nativas da América do Sul, da família *Aquifoliaceae* (SANTOS et al., 2018). Além do chá, uma das principais formas de consumo da erva mate é na forma de infusão chamada de chimarrão, que é composta de 70 % de folhas e 30 % de galhos finos. A erva mate também é utilizada em produtos farmacêuticos, corantes, conservantes de alimentos, produtos de higiene e cosméticos (CAMOTTI; BASTOS et al., 2018). Sendo que nessas regiões onde a planta é nativa, o consumo representa economicamente e culturalmente o equivalente ao consumo de chá verde (*Camelia sinensis*) na Ásia (BRACESCO et al, 2011).

A erva mate apresenta em sua composição, diversos compostos apontados como benéficos à saúde, principalmente compostos fenólicos, como ácido 3-cafeoilquínico (3-CQA), ácido 4-cafeoilquínico (4-CQA), ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA), ácido 3,4-dicafeoilquínico (3,4-DQA), ácido 3,5-dicafeoilquínico (3,5-DQA), ácido 4,5-dicafeoilquínico (4,5-DQA), alcaloides como cafeína e flavonoides como rutina (PILATTI-RICCIO et al., 2019).

3.4.2 Fonte de carboidratos

Visto que para ocorrer um processo fermentativo é necessário fornecer uma fonte de carboidratos aos microrganismos, usualmente o chá utilizado na fermentação da kombucha é adoçado com sacarose. A aplicação de outros tipos de açúcares como lactose, glicose ou frutose pode exercer distintas influencias na formação dos compostos da kombucha, sendo que no estudo onde comparou-se a sacarose com melado de beterraba, a formulação com o melado de beterraba apresentou maior formação de ácidos (MALBAŠA; LONČAR; DJURIĆ, 2008).

Segundo disposto na Instrução Normativa Nº 11, de 20 de outubro de 2000 (BRASIL, 2000), o mel é “o produto alimentício produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores ou das secreções procedentes de partes vivas das plantas ou de excreções de insetos sugadores de plantas que ficam sobre partes vivas de plantas, que as abelhas recolhem, transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam madurar nos favos da colmeia”.

Alguns fatores interferem na composição do mel, como a espécie da abelha, a região em que a mesma se encontra e/ou quais espécies de flores foram utilizadas como fonte de néctar (ARAUJO, 2016). De acordo com o estudo de Nascimento et al

(2018), o mel da abelha Apis (*Apis mellifera*) apresenta pH na faixa de 3,83 a 4,68 com percentagem de frutose na faixa de 37,06 a 38,70 e glicose na faixa de 30,67 a 34,37. Nordin et al (2018) apresentam que o mel das abelhas sem ferrão, Borá (*Tetragona clavipes*) possui pH 4,28 com percentagem de frutose de 40,2 e glicose 8,21 e o mel da abelha Mandaguari (*Scaptotrigona Postica*) possui pH de 3,4.

A cana-de-açúcar é um produto agrícola do Brasil cultivado amplamente desde a época da colonização, sendo que o primeiro plantio no Brasil ocorreu no ano de 1522 em São Paulo e hoje, o país é o maior produtor mundial da matéria-prima, de açúcar e etanol (BRASIL, 2019).

A cana-de-açúcar apresenta em sua composição, em média, 65 a 75% de água, mas seu componente principal é a sacarose, que corresponde de 70 a 91% das substâncias sólidas solúveis. Após o processo de moagem da cana, é obtido um líquido denominado de caldo de cana ou garapa, que através de um processo de evaporação e inversão da sacarose, se obtém o melado de cana que apresenta aproximadamente 59% de açúcares redutores. (NOGUEIRA et al, 2009).

4 METODOLOGIA

4.1 MATERIAIS

A cultura *starter* (SCOBY) da kombucha foi adquirida Na loja *online* Mercado Livre cujo vendedor é proveniente da região de Minas Gerais, sendo que a primeira fermentação foi conduzida de acordo com as instruções do fornecedor. A sacarose (açúcar refinado, marca Alto Alegre, Colorado - PR), o melado de cana-de-açúcar (marca Doces Santo Antônio, Santo Antônio da Patrulha - RS) e o chá mate tostado (*Ilex paraguarienses*) (marca Mate Laranjeiras, Laranjeiras do Sul - PR) foram adquiridos no mercado local e os méis foram adquiridos de produtores locais da região de Laranjeiras do Sul – PR. Os reatores utilizados para a fermentação são de vidro, com capacidade para 3 L, em formato cilíndrico com 14 cm de diâmetro e 25 cm de altura.

As análises das amostras foram realizadas em triplicata, nos laboratórios da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS, campus de Laranjeiras do Sul - PR. Todos os reagentes utilizados apresentavam grau PA.

4.2 PREPARO DO CHÁ PARA A FERMENTAÇÃO

Foram preparadas 5 formulações em que o chá mate tostado, preparado por infusão de 13 g/L do chá mate, foi adoçado, com base em 10 °Brix, utilizando sacarose, melado de cana-de-açúcar, mel de abelhas Apis (*Apis mellífera*), Borá (*Tetragona clavipes*) ou Mandaguari (*Scaptotrigona Postica*). Após o arrefecimento da infusão para a temperatura ambiente, a mistura foi filtrada, passando o líquido para um reator de vidro previamente esterilizado, e adicionando 24 g de SCOBY e 20% (v/v) de kombucha de fermentação anterior. Os reatores de vidro foram cobertos com tecido (voal) preso com elástico, e armazenados em ambiente escuro com temperatura controlada para a condução da fermentação que ocorreu a 25±2 °C.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DA KOMBUCHA DE ERVA MATE NO DECORRER DA FERMENTAÇÃO

O processo fermentativo foi conduzido por 20 dias em temperatura de 25±2 °C. O acompanhamento foi desenvolvido coletando amostras de cada uma das cinco

formulações nos dias 0, 5, 10, 15 e 20 de fermentação, para realizar as análises descritas no item a seguir.

4.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

4.4.1 pH

O pH das amostras foi determinado pelo método eletrométrico, utilizando pHmetro, de acordo com o método 017/IV do Instituto Adolf Lutz (2008).

4.4.2 Acidez total

A acidez total foi determinada de acordo com o método 235/IV do Instituto Adolf Lutz (2008), pipetando 10 mL da amostra com 3 gotas de fenolftaleína, utilizando hidróxido de sódio 0,1 M para a titulação.

4.4.3 Sólidos solúveis (°Brix)

Os sólidos solúveis das amostras foram determinados de acordo com o método 315/IV do Instituto Adolf Lutz (2008), utilizando refratômetro digital.

4.4.4 Determinação de proteínas solúveis

A determinação de proteínas solúveis foi realizada pelo método de Bradford (1976), utilizando 10 µL de amostra com 250 µL do reativo de Bradford. Albumina bovina foi utilizada como padrão para a construção da curva de calibração, com leitura espectrofotométrica em 595 nm. Os resultados foram expressos em equivalente de albumina de soro bovina (mg BSA / mL).

4.4.5 Açúcares redutores

A determinação dos açúcares redutores ocorreu pelo método colorimétrico com solução de ácido dinitrosalicílico (DNS), de acordo com Wang (2016), utilizando 3 mL de amostra com 3 mL de DNS. Sacarose foi utilizada como padrão para a elaboração da curva de calibração, com leitura espectrofotométrica em 575 nm. Os resultados foram expressos com base em concentração de glicose ([glicose] g/L).

4.4.6 Determinação de compostos fenólicos totais

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Girbés e Jiménez (2012), utilizando o ensaio de Folin–Ciocalteu, com a mistura de 100 µL de amostra, 200 µL de água destilada, 600 µL de carbonato sódico 7,5 %, e 200 µL de reativo de Folin na microplaca para leitura. A absorvância foi medida em espectrofotômetro a 760 nm e o ácido gálico foi utilizado como padrão para a curva de calibração. O teor de compostos fenólicos foi expresso em equivalente de ácido gálico (µg GAE / mL).

4.4.7 Determinação de compostos fenólicos individuais

Os compostos fenólicos individuais foram determinados de acordo com o método de Silveira e Meinhart (2017) com modificações, utilizando cromatógrafo líquido de alta eficiência (Shimadzu, Kyoto, Japan), equipado com bomba binária, injetor automático, detector de arranjo de diodos, com espectrômetro de massas acoplado contendo fonte de ionização por eletrospray e analisador quadrupolo (LCMS-2020, Shimadzu, Kyoto, Japan). Coluna C18 (25 mm x 4,6 mm, 5 µm) (NST, Santos, Brazil), temperatura de 40 °C e solvente composto por A (água acidificada com ácido fórmico 0,1%) e B (metanol acidificado com ácido fórmico 0,1%) em sistema de eluição por gradiente com início em 14% de B, com aumento linear até 55% aos 16 min em fluxo de 1,2 mL/min e o volume de injeção de 5 µL. A identificação dos compostos foi definida por tempo de retenção comparando com os padrões e pela confirmação das massas no espectrômetro de massas. A quantificação foi realizada utilizando o detector de arranjo de diodos (SPD-20A/20AV, Shimadzu, Kyoto, Japan) em 325 nm para os ácidos cafeilquínicos, 272 nm para a cafeína e 353 nm para a rutina, por curva de calibração externa. Para a quantificação dos isômeros 3-CQA, 4-CQA, 3,4-CQA, 3,5-DQA e 4,5-DQA foi utilizada a curva analítica do 5-CQA.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos, para cada avaliação, foram submetidos à análise estatística de variância (ANOVA) e teste de média Tukey verificando se há diferença entre as amostras com nível de significância de 5 % ($p \leq 0,05$).

4.6 ANÁLISE SENSORIAL DO PRODUTO FINAL

A análise sensorial foi realizada nas cinco formulações de kombucha através dos testes afetivos, de aceitação por escala hedônica de 9 pontos (165/IV) (9 gostei muitíssimo; 8 gostei moderadamente; 7 gostei regularmente; 6 gostei ligeiramente; 5 não gostei, nem desgostei; 4 desgostei ligeiramente; 3 desgostei regularmente; 2 desgostei moderadamente; 1 desgostei muitíssimo) e de escala de atitude ou de intenção de 5 pontos (167/IV) (5 Certamente compraria; 4 Provavelmente compraria; 3 Talvez compraria / Talvez não compraria; 2 Provavelmente não compraria; 1 Certamente não compraria) (INSTITUTO ADOLF LUTZ, 2008).

A análise foi aprovada pelo Comitê de Ética de Pesquisa com Seres Humanos (CEP/SH) da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Laranjeiras do Sul (CAAE 08115119.4.0000.5564). Para o painel sensorial foram recrutados 60 avaliadores aleatórios não treinados de ambos os sexos, utilizando como critérios de inclusão, o fato de que o avaliador ter pelo menos 18 anos de idade e excluídos aqueles que tivessem algum tipo de alergia aos ingredientes das amostras. Antes da análise todos avaliadores assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), concordando com os termos, apresentados no mesmo. A análise ocorreu em cabines individuais, com ambiente em temperatura controlada, e iluminação adequada. Para cada avaliador foi servido 20 mL de kombucha na temperatura aproximada de 5 °C, em copos de plástico codificados com 3 números aleatórios e água mineral em temperatura ambiente para tomar entre as amostras, evitando assim, interferência na análise. Os atributos avaliados, foram a aparência, sabor, cor, aroma e a avaliação global, além de intenção de compra.

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA KOMBUCHA DE ERVA MATE NO DECORRER DA FERMENTAÇÃO

Visto que para um processo fermentativo decorrer com sucesso é necessário haver pelo menos uma fonte de carboidratos para os microrganismos utilizarem como substratos, optou-se pela utilização de diferentes tipos de carboidratos, para avaliar qual a influência de cada uma no processo fermentativo, pelo período de 20 dias, sendo elas, melado de cana-de-açúcar, mel de abelhas *Apis* (*Apis melífera*), Borá (*Tetragona clavipes*), e Mandaguari (*Scaptotrigona Postica*), além da fonte tradicionalmente utilizada, a sacarose.

Com o acompanhamento da evolução da fermentação, retirando amostras a cada 5 dias, pode-se obter os dados apresentados a seguir sobre os diferentes aspectos avaliados nas cinco formulações de kombucha de erva mate.

Tabela 2 – Dados referentes às variações dos componentes analisados nas cinco formulações de kombucha no decorrer da fermentação.

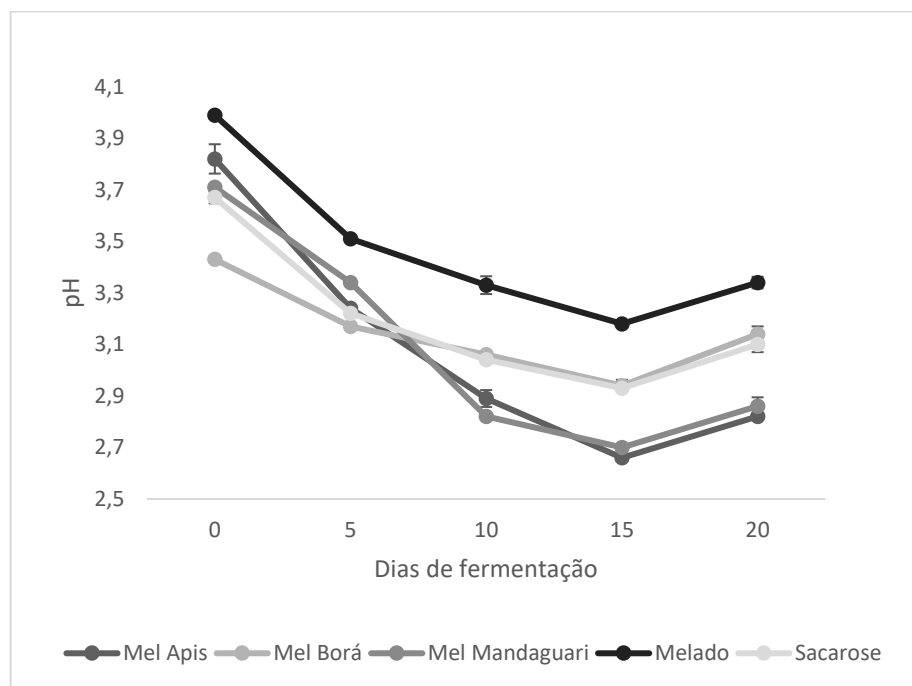
Análise	Dias	Mel apis	Mel borá	Mel mandaguari	Melado	Sacarose
pH	0 a 5	0,53 ± 0,05 dB	0,25 ± 0,01 cC	0,38 ± 0,01 cD	0,47 ± 0,01 dAB	0,45 ± 0,03 cA
	5 a 10	0,38 ± 0,02 cC	0,11 ± 0,02 aA	0,52 ± 0,01 dD	0,22 ± 0,04 cB	0,16 ± 0,02 aAB
	10 a 15	0,20 ± 0,03 bB	0,10 ± 0,02 aA	0,12 ± 0,01 bA	0,11 ± 0,04 bA	0,12 ± 0,01 aA
	15 a 20	0,17 ± 0,01 aA	0,17 ± 0,04 bA	0,14 ± 0,03 aA	0,13 ± 0,03 aA	0,16 ± 0,03 bA
	0 a 5	16,00 ± 1,73 bA	20,00 ± 0,00 aB	15,00 ± 1,00 aA	42,17 ± 1,61 aD	36,00 ± 2,00 aC
Acidez total (meqL)	5 a 10	43,67 ± 2,52 cB	53,33 ± 3,21 cC	70,33 ± 1,15 dA	67,50 ± 3,28 bA	67,67 ± 3,21 cA
	10 a 15	31,83 ± 2,75 aA	35,67 ± 4,16 bA	32,33 ± 0,58 cA	50,67 ± 5,51 aB	34,67 ± 4,04 aA
	15 a 20	28,67 ± 2,52 aB	23,00 ± 2,00 aA	25,67 ± 1,15 bAB	48,33 ± 2,08 aD	13,00 ± 1,00 bC
	0 a 5	0,43 ± 0,06 aA	1,23 ± 0,06 aB	0,13 ± 0,06 aC	1,17 ± 0,06 aB	0,50 ± 0,00 *A
°Brix	5 a 10	0,27 ± 0,06 cA	1,57 ± 0,06 cB	0,07 ± 0,06 aBA	0,93 ± 0,72 aAB	0,20 ± 0,00 *A
	10 a 15	0,10 ± 0,00 b*	0,80 ± 0,00 b*	0,00 ± 0,00 B*	0,47 ± 0,81 A*	0,10 ± 0,00 *
	15 a 20	0,50 ± 0,00 aC	1,17 ± 0,06 aD	0,17 ± 0,06 aB	0,23 ± 0,12 aA	0,20 ± 0,00 *A
	0 a 5	0,43 ± 0,06 aA	1,23 ± 0,06 aB	0,13 ± 0,06 aC	1,17 ± 0,06 aB	0,50 ± 0,00 *A

Análise	Dias	Mel apis	Mel borá	Mel mandaguari	Melado	Sacarose
Proteínas solúveis (mg/mL)	0 a 5	0,41 ± 0,03 bB	0,12 ± 0,23 aA	0,34 ± 0,02 bAB	0,11 ± 0,02 bA	0,09 ± 0,07 bA
	5 a 10	0,05 ± 0,10 aA	0,01 ± 0,07 aA	0,03 ± 0,15 aA	0,14 ± 0,10 bA	0,01 ± 0,10 abA
	10 a 15	0,11 ± 0,09 aA	0,12 ± 0,10 aA	0,07 ± 0,16 aA	0,19 ± 0,09 aA	0,07 ± 0,14 abA
	15 a 20	0,02 ± 0,07 aA	0,04 ± 0,16 aA	0,11 ± 0,11 aA	0,21 ± 0,04 aA	0,18 ± 0,04 aA
Açúcares redutores ([glicose] g/L)	0 a 5	14,69 ± 3,03 aD	54,35 ± 1,46 aA	34,63 ± 1,89 aB	88,76 ± 9,17 bC	38,19 ± 11,06 aAB
	5 a 10	145,54 ± 5,29 dAB	119,60 ± 1,67 dA	262,54 ± 10,34 dC	241,36 ± 12,83 cC	164,24 ± 14,79 dB
	10 a 15	95,37 ± 9,16 cC	9,60 ± 1,28 cA	45,20 ± 3,79 cB	11,64 ± 6,76 aA	38,98 ± 3,23 cB
	15 a 20	38,02 ± 0,68 bD	0,11 ± 0,20 bA	2,49 ± 0,78 bB	9,04 ± 0,49 aC	0,68 ± 0,29 bA
Compostos fenólicos totais (uG GAE/ mL)	0 a 5	0,72 ± 13,81 aA	5,22 ± 6,67 aA	4,24 ± 4,55 aA	8,38 ± 2,43 aA	5,13 ± 7,71 aA
	5 a 10	8,69 ± 10,61 aA	0,25 ± 3,58 aA	1,89 ± 3,14 aA	6,16 ± 2,51 cA	0,94 ± 6,45 aA
	10 a 15	3,43 ± 4,07 aA	5,57 ± 3,16 aA	1,11 ± 2,03 aA	2,74 ± 3,21 abA	4,07 ± 7,66 aA
	15 a 20	1,72 ± 1,21 aAB	1,16 ± 4,90 aB	0,17 ± 2,93 aAB	0,24 ± 3,10 bcAB	9,60 ± 5,81 aA

Os resultados são apresentados como média da diferença ± desvio padrão. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si. As médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Fonte: a autora

Conforme ilustrado na Tabela 2, o pH variou de forma diferenciada entre as cinco formulações, tanto em relação ao intervalo de tempo de 5 dias, como entre as variadas fontes de carboidrato, onde na maioria dos pontos, houve diferença estatística significativa a 95% de confiança. O pH inicial (dia 0 de fermentação) apresentou diferenças, visto que o pH das cinco diferentes fontes de carboidratos apresentavam valores distintos, sendo o mel apis $3,94 \pm 0,12$; mel borá $3,04 \pm 0,00$; mel mandaguari $3,83 \pm 0,14$; melado $4,34 \pm 0,12$ e chá mate $5,99 \pm 0,14$. Durante o período fermentativo, houve um decréscimo nos valores de pHs, como pode ser observado na Figura 2, o decréscimo desses valores com o tempo era esperado visto que em fermentações com bactérias ácido acéticas são produzidos ácidos e estes reduzem o pH (AMARASINGHE; WEERAKKODY; WAISUNDARA, 2018).

Figura 2 – Médias de pH das cinco formulações de kombucha de erva mate no decorrer da fermentação. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).



Fonte: a autora.

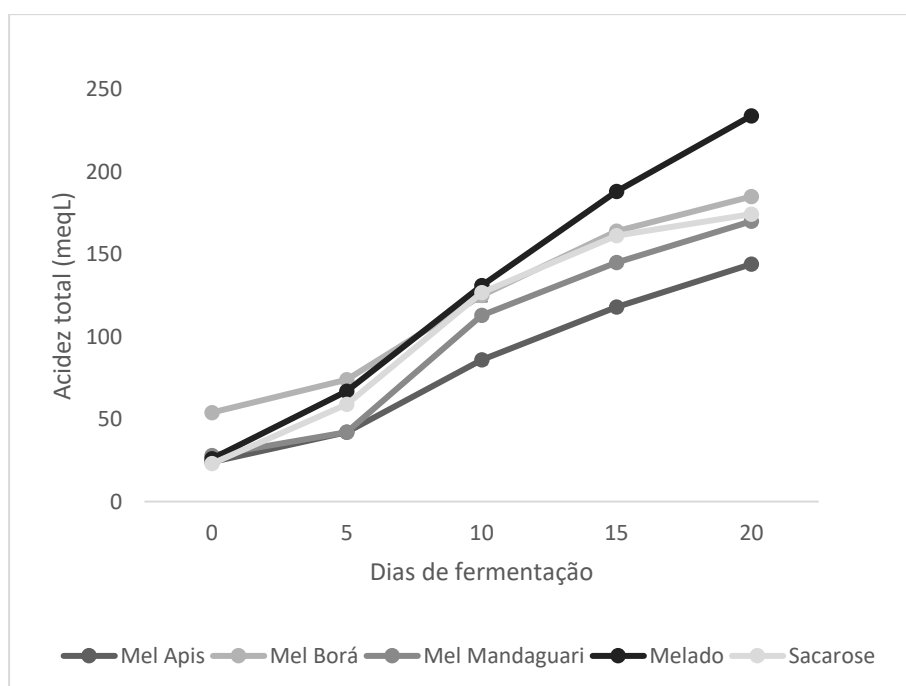
Diversos autores que utilizaram tempos mais curtos ou mais prolongados (7 a 21 dias) de fermentação encontraram valores de pH que variaram entre 2,39 a 3,51 (MALBASA et al., 2011; SUN, LI, CHEN, 2015; VITAS et al., 2018; VILLAREAL-SOTO et al., 2019). O valor de pH final das cinco formulações ficaram dentro da faixa de variação encontrada na literatura, variando entre 2,82 e 3,32, sendo que as principais causas de haver variação no pH final entre as amostras foi devido a variação na fonte de carboidratos, pois além de cada fonte apresentar pH inicial variado, as formulações apresentaram decréscimos no decorrer da fermentação de forma estatisticamente variada a 5% de significância. Ou seja, os substratos utilizados para a fermentação apresentavam composições diferentes e por isso cada formulação teve quantidades variadas de produção de ácidos.

Essa variação também pode ser observada (Fig. 3) nos dados de acidez total das formulações onde a quantidade de acidez total foi diretamente proporcional ao valor do pH, ou seja a formulação que apresentou a maior quantidade de acidez (melado) foi também aquela que obteve o maior valor de pH. Essa característica foi contrária ao esperado, esperava-se que na formulação com a maior produção de

ácidos total, obtivesse o menor valor de pH, isso nos leva a acreditar que a variação na fonte de carboidratos influencia inclusive nos tipos de ácidos orgânicos que serão produzidos, pois o decréscimo do pH está associado aos ácidos que apresentam desprendimento do íon H^+ .

Todas cinco formulações apresentaram aumento da acidez no decorrer da fermentação, comprovando a eficiência do metabolismo de bactérias ácido acéticas (BAA) presentes no SCOBY. A formulação que apresentou o maior crescimento no conteúdo de acidez total, como pode ser observado na Figura 3, foi a formulação com melado. Jayabalan et al. (2014) correlacionam o teor de ácido láctico com a quantidade de açúcar invertido, biotina e nitrogênio aminado, presentes no substrato para a fermentação.

Figura 3 - Médias de acidez total das cinco formulações de kombucha de erva mate no decorrer da fermentação. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).



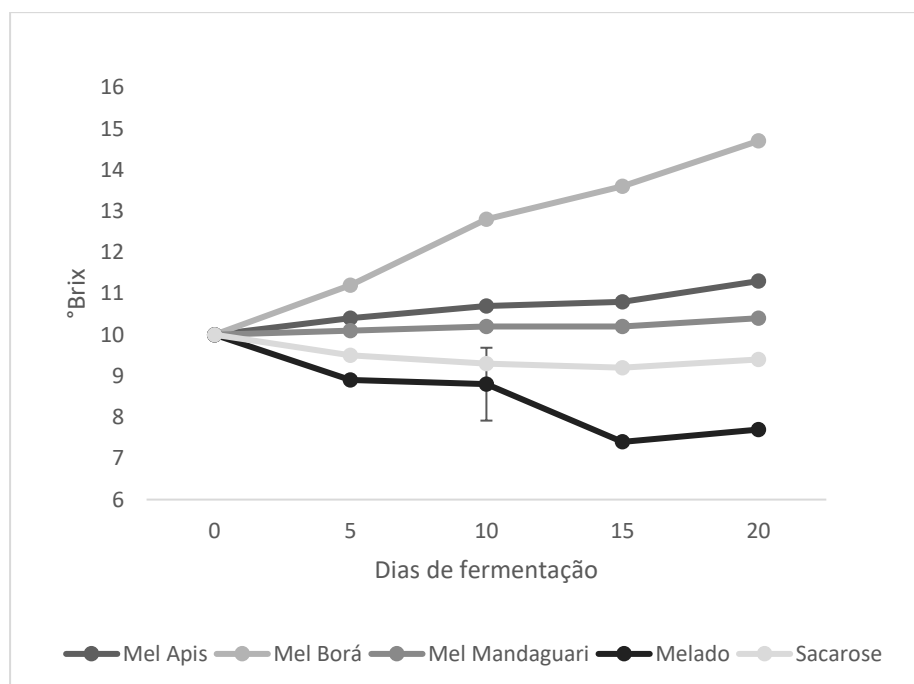
Fonte: a autora.

Conforme apresentado na Figura 4, as cinco formulações foram padronizadas com 10 °Brix, sendo que cada uma das fontes de carboidratos apresentava diferentes concentrações e tipos de açúcares disponíveis para a fermentação. O teor de sólidos solúveis das formulações que utilizaram açúcar ou melado de cana decresceram

conforme observado em estudos de outros autores (AMARASINGHE; WEERAKKODY; WAISUNDARA, 2018), entretanto nas formulações com mel, ambas apresentaram um acréscimo no total de sólidos solúveis, sendo que a formulação com mel borá obteve o valor máximo de 14,77 °Brix. A variação do conteúdo de sólidos solúveis no decorrer da fermentação apresentou-se de forma estatisticamente significativa apenas para as formulações com mel apis e mel borá.

Essa variação pode estar associada ao consumo dos açúcares pelos microrganismo, pois com os méis houve um padrão diferenciado, além de que algum composto presente no mel pode ter sido utilizado como substrato para o SCOBY produzir compostos solúveis suficientes para elevar a quantidade total no fermentado, sendo uma elevação de quase 50% no caso do mel borá.

Figura 4 – Médias de °Brix das cinco formulações de kombucha de erva mate no decorrer da fermentação. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).

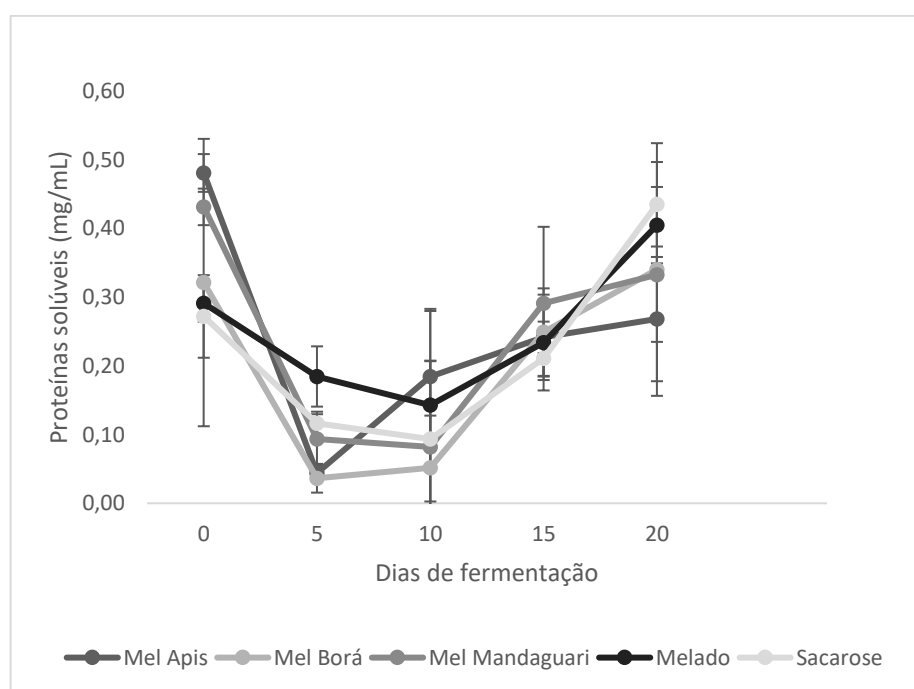


Fonte: a autora.

No geral o teor de proteínas das cinco formulações não apresentou variações com diferenças estatísticas significativas, entre si, e no decorrer do tempo, a nível de 95% de significância, somente as formulações com mel apis e mel mandaguari apresentaram alguma diferença das demais no ponto inicial da fermentação. Os

valores apresentaram variações apenas na faixa de 0,3 a 0,41 mg/mL, a cada cinco dias, indicando que a variação na fonte de carboidrato não interferiu significativamente nesses componentes da kombucha. Apesar de não apresentar diferença estatística significativa, a variação apresentou comportamento de decrescer até o décimo dia com crescimento posterior, como pode ser observado na Figura 5.

Figura 5 – Médias de proteínas solúveis das cinco formulações de kombucha de erva mate no decorrer da fermentação. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).



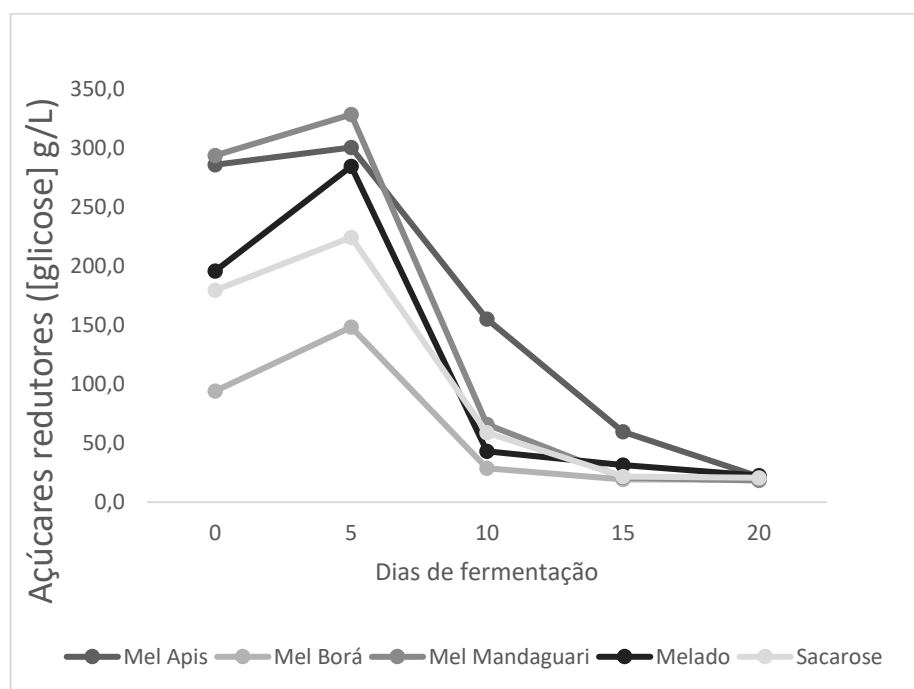
Fonte: a autora.

As cinco formulações apresentaram concentrações diferentes de glicose no decorrer do processo fermentativo. Todas formulações apresentaram algum acréscimo até o 5º dia de fermentação e em seguida uma queda, sendo que a formulação com mel borá e melado apresentaram a maior queda até o 10º dia de fermentação, conforme apresentado na Figura 6. Essa variação pode ser explicada pelo fato de que durante a fermentação os microrganismos podem produzir enzimas que irão hidrolisar os açúcares, disponibilizando-os para o metabolismo de outros microrganismos ou para eles mesmos. As leveduras e bactérias utilizam a sacarose de forma complementar, as leveduras hidrolisam a sacarose em glicose e frutose, produzindo etanol, com preferência pela frutose como substrato, enquanto as BAA utilizam a glicose para produzir o ácido glucônico e etanol para produzir ácido acético

(MALBAŠA; LONČAR; DJURIĆ, 2008). Ou seja, diferentes microrganismos apresentam em sua rota metabólica um açúcar preferencial. Como o SCOBY é composto por diversos microrganismos, pode ser que eles atuem de forma sincronizada, cada um com uma velocidade própria durante a fermentação, disponibilizando e consumindo açúcares.

O teor de açúcares redutores residuais da fermentação nas cinco formulações de kombucha variou entre 18,25 e 22,49 g/L de sacarose, sendo que as formulações com mel borá, e sacarose apresentaram as menores concentrações, sem diferença estatística entre si a nível de 95% de significância.

Figura 6 – Média de açúcares redutores das cinco formulações de kombucha de erva mate no decorrer da fermentação. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).

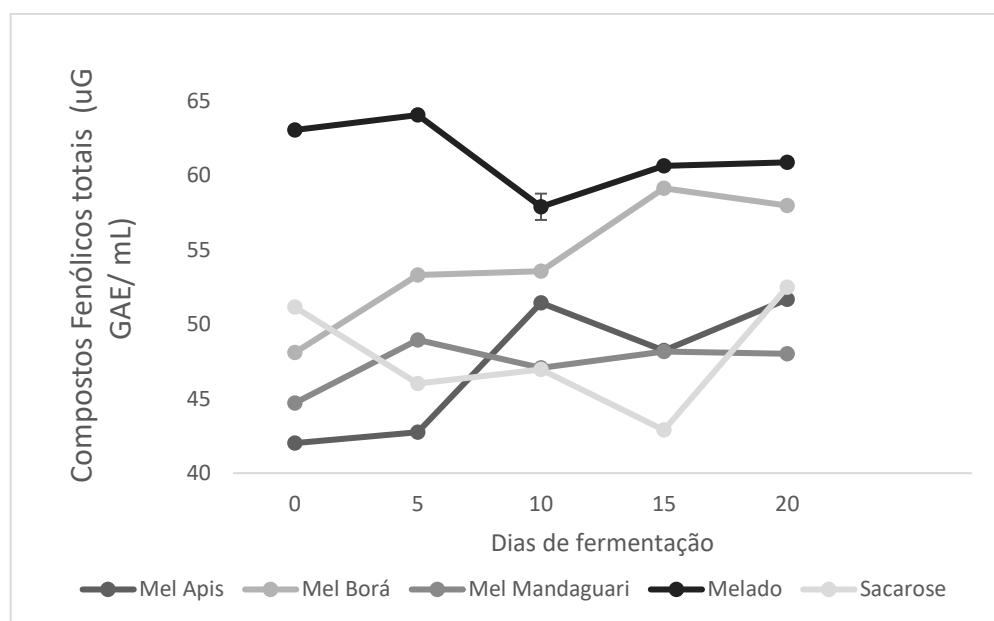


Fonte: a autora.

Compostos fenólicos são abundantes em algumas frutas, vegetais e seus derivados (OLIVEIRA, 2011). Nas diferentes formulações, foram identificados compostos fenólicos que aumentaram durante a evolução da fermentação, com exceção da formulação de melado que decresceu, conforme pode-se observar na Figura 7. Esse acréscimo também foi observado por Sun, Li, Chen (2015), que

avaliaram a fermentação de kombucha com misturas de suco de broto de trigo e atribuíram que o acréscimo de compostos fenólicos pode vir de polifenóis, visto que os microrganismos constituintes do SCOBY liberam enzimas durante a evolução da fermentação, que irão degradar os polifenóis em pequenas moléculas.

Figura 7 – Média de compostos fenólicos totais das cinco formulações de kombucha de erva mate no decorrer da fermentação. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).



Fonte: a autora.

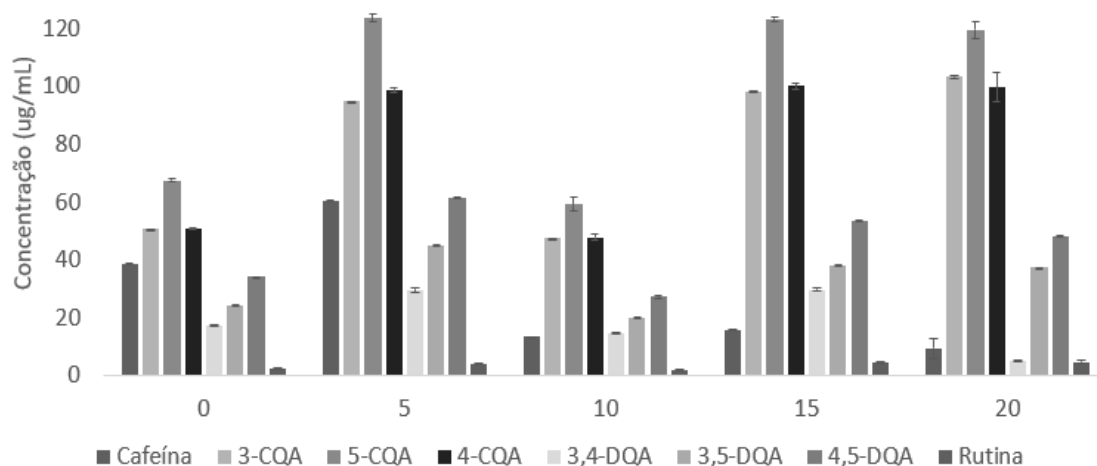
Devido à composição ser diferente, as cinco formulações iniciais de kombucha apresentavam valores diferentes de compostos fenólicos individuais, então apesar de a formulação de mel borá ter apresentado o maior crescimento no período fermentativo, a formulação que apresentou o maior teor de compostos fenólicos totais finais foi a formulação com melado (60,87 μg GAE), mesmo tendo apresentado um decréscimo comparado com o início.

A Figura 7 nos mostra que mesmo utilizando o mesmo chá como base, no caso o chá mate, o componente adicionado como fonte de carboidrato interage de maneira individual com o SCOBY durante a fermentação, podendo diminuir ou aumentar o conteúdo de compostos bioativos presentes na bebida inicial.

Além dos compostos fenólicos totais, foram avaliados compostos fenólicos individuais, que são dispostos nas Figuras 8, 9, 10, 11 e 12 a seguir.

Na formulação adoçada com o mel apis (Fig. 8), os compostos apresentaram crescimento nos cinco primeiros dias, seguido por um decréscimo no décimo dia e posterior crescimento até o décimo quinto dia que se manteve similar até o último dia da fermentação. Observou-se que os componentes que se apresentaram em maior concentração foram 5-CQA, 4-CQA e 3-CQA, respectivamente, com as maiores concentrações nos dias finais de fermentação (de 15 a 20 dias). Esse comportamento oscilatório no período fermentativo pode ser associado à forma de atuação do metabolismo dos microrganismos presentes no SCOBY.

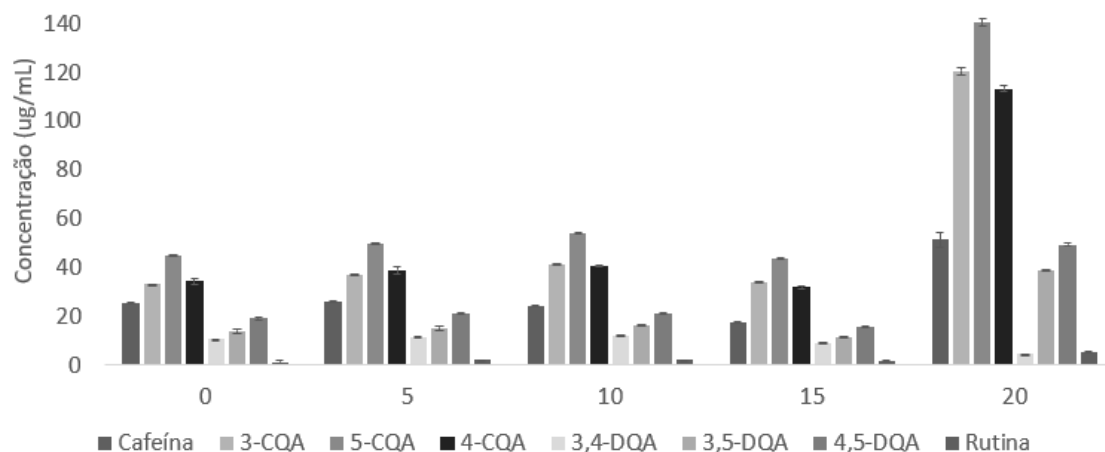
Figura 8 – Concentração de compostos fenólicos verificados na kombucha adoçada com mel apis. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).



Fonte: a autora.

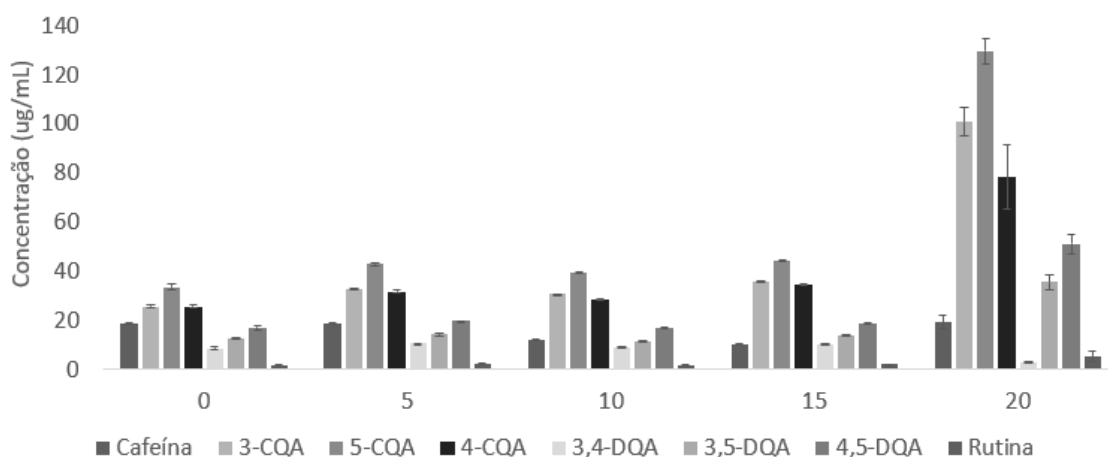
Na formulação de kombucha de erva mate adoçada com mel borá (Fig. 9) e adoçada com melado (Fig.10), os comportamentos foram similares, se mantendo sem muitas alterações até o décimo quinto dia de fermentação, após esse período apresentou um acréscimo em seu teor. Após os vinte dias de fermentação todos compostos apresentaram algum acréscimo em seu teor, sendo que aqueles que apresentaram maiores diferenças entre os teores iniciais e finais foram 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, 3,5-DQA e 4,5-DQA. Mostrando que o tempo um pouco estendido sobre o tempo tradicional (de 14 dias) influencia no teor de compostos, pois no caso das fonte de carboidratos, mel de abelha borá e melado, o crescimento significativo dos compostos ocorreu após esse tempo.

Figura 9 – Concentração de compostos fenólicos verificados na kombucha adoçada com mel borá. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).



Fonte: a autora.

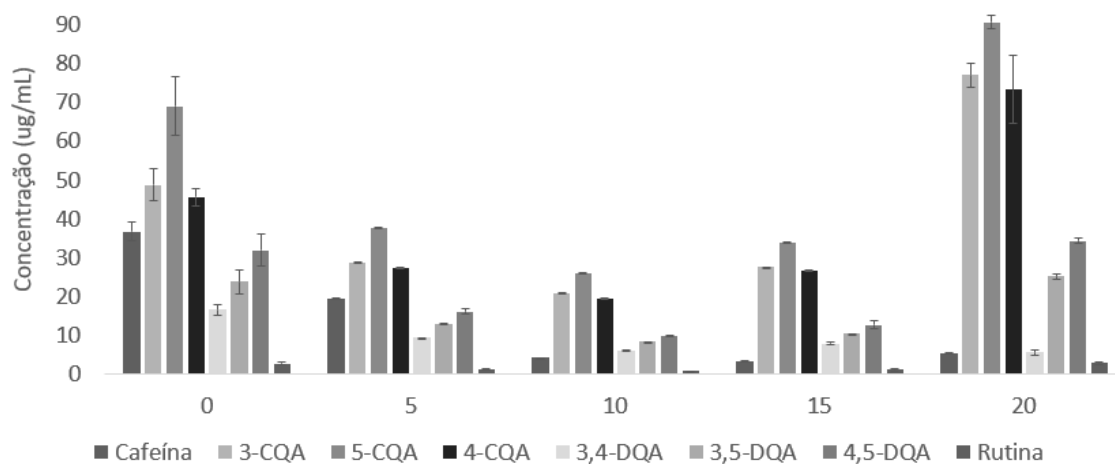
Figura 10 – Concentração de compostos fenólicos verificados na kombucha adoçada com melado de cana-de-açúcar. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).



Fonte: a autora.

Na formulação de kombucha de erva mate adoçada com mel mandaguari (Fig. 11) os compostos apresentaram decréscimos até o décimo dia e fermentação e posterior acréscimo, sendo que para os compostos 3-CQA, 5-CQA e 4-CQA a concentração final superou a concentração inicial.

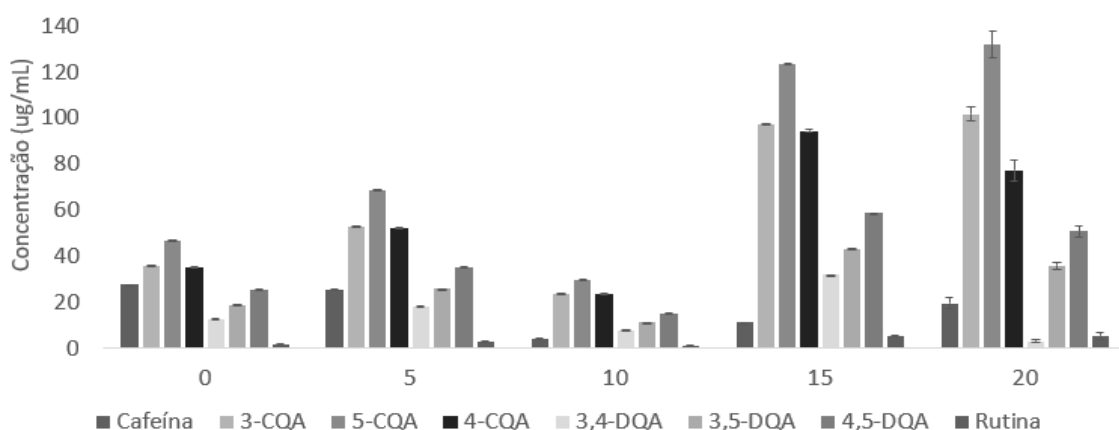
Figura 11 – Concentração de compostos fenólicos verificados na kombucha adoçada com mel mandaguari. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).



Fonte: a autora.

A concentração dos compostos presentes na kombucha de erva mate adoçada com sacarose (Fig.12) oscilaram durante o processo fermentativo, apresentando um certo aumento na concentração até o quinto dia, seguido por uma diminuição até o décimo dia. O acréscimo mais considerável se deu até o décimo quinto dia de fermentação e posteriormente alguns compostos diminuíram, como o 4-CQA, 3,4-DQA e 4,5-DQA, enquanto outros aumentaram, como a cafeína, 3-CQA e 5-CQA.

Figura 12 – Concentração de compostos fenólicos verificados na kombucha adoçada com sacarose. (Apresentado como média \pm intervalo de confiança a 95% de confiança).



Fonte: a autora.

No geral, pode-se observar que dentre os compostos analisados na kombucha de erva mate apenas a cafeína e o 3,4-DQA diminuíram seus teores no decorrer do processo fermentativo comparado ao inicial, os demais de alguma forma foram obtidos a partir do metabolismo dos diferentes microrganismos que compõem a colônia simbiótica que fermentou o chá, sendo que o tempo em que os compostos estão em seu auge de concentração podem variar no produto dependendo da fonte de carboidratos utilizada. Os compostos bioativos que apresentaram maiores acréscimos com o decorrer do processo fermentativo foram 3-CQA, 4-CQA e 5-CQA.

5.2 ANÁLISE SENSORIAL DO PRODUTO FINAL

Os dados correspondentes a análise sensorial das cinco formulações de kombucha estão apresentados na Tabela 3, a seguir.

Tabela 3 – Dados relativos a análise sensorial das cinco formulações de kombucha.

Formulação	COR	APARÊNCIA	SABOR	AROMA	AVALIAÇÃO GLOBAL	INTENÇÃO DE COMPRA
Mel apís	7 ± 1a	7 ± 2a	6 ± 2a	7 ± 2a	7 ± 2a	3 ± 1a
Mel borá	7 ± 2a	6 ± 2a	5 ± 2a	6 ± 2ab	6 ± 2ab	3 ± 1a
Mel mandaguari	7 ± 2a	7 ± 2a	6 ± 2a	6 ± 2ab	6 ± 2a	3 ± 1a
Melado	7 ± 2a	7 ± 2a	4 ± 2b	6 ± 2b	5 ± 2b	2 ± 1b
Sacarose	7 ± 2a	7 ± 2a	6 ± 2a	6 ± 2a	6 ± 2a	3 ± 1a

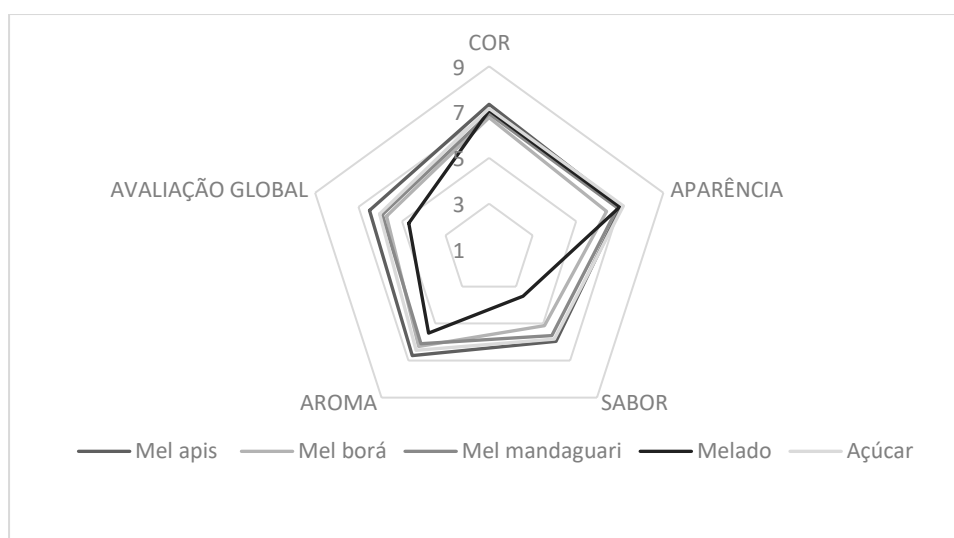
Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: a autora.

A partir da Tabela 3 pode-se observar que para os quesitos cor e aparência, todas cinco formulações não apresentaram diferença estatística significativa entre si, ($p < 0,05$), recebendo notas que de acordo com a escala hedônica de 9 pontos apresentada na ficha sensorial representam “gostei regularmente”. Para o quesito aroma as formulações já apresentaram alguma diferença, sendo que as formulações com melado, mel mandaguari e mel borá obtiveram notas menores, correspondendo a “gostei moderadamente”. No atributo sabor, as formulações foram aceitas, ficando na média de 6, que corresponde a “gostei ligeiramente”, com exceção da formulação com melado que recebeu notas menores ficando na média de “desgostei moderadamente”.

Na Figura 13, a seguir, pode-se observar que houve uma homogeneidade nas amostras, refletindo na intenção de compra pelos voluntários que participaram da análise sensorial. As formulações compostas por mel apis, mel borá, mel mandaguari e sacarose receberam a média de notas 3, que de acordo com a escala hedônica de 5 pontos apresentada na ficha sensorial, representa “Talvez compraria / Talvez não compraria”. A formulação com melado recebeu nota 2, correspondente a “Provavelmente não compraria”.

Figura 13 – Médias de notas recebidas pelos avaliadores na análise sensorial das cinco formulações de kombucha.



Fonte: a autora.

O fato de a formulação com melado ter recebido notas menores pode ter ocorrido devido à mesma ter apresentado a maior quantidade de acidez total na amostra, que acabou desequilibrando o sabor da bebida e gerando certa reprovação nos avaliadores. Os brasileiros possuem uma cultura com alimentos bastante adoçados, e como a kombucha ainda está iniciando sua expansão no mercado, os consumidores ainda não estão tão adaptados ao sabor ácido trazido pela kombucha.

6 CONCLUSÃO

De forma geral o trabalho mostrou que a utilização do chá mate, bem como a variação das fontes de carboidratos provenientes de melado de cana-de-açúcar e mel das abelhas apis, borá e mandaguari, além da tradicional sacarose, para a obtenção do fermentado kombucha é viável.

Essa variação nas fontes de carbono mostrou que a disponibilidade de substratos diferentes para as culturas presentes no SCOBY possibilitam aumentar a produção de compostos bioativos, como os compostos 3-CQA, 4-CQA e 5-CQA que apresentaram os maiores crescimentos no período fermentativo. Pode-se observar também que a variação da fonte de carboidratos também irá influenciar do tempos de fermentação que o composto apresentará seu auge de concentração.

Entretanto essa variação deve ser avaliada de forma sensorial também, pois como pode-se observar uma das formulações que utilizou o melado de cana-de-açúcar como fonte de substrato, havia se mostrado promissora em termos físico-químicos, entretanto sensorialmente interferiu de forma negativa no produto final.

7 REFERÊNCIAS

AMARASINGHE, H.; WEERAKKODY, N.; WAISUNDARA, V. Evaluation of physicochemical properties and antioxidant activities of kombucha “Tea Fungus” during extended periods of fermentation. **Food Science and Nutricion**. Mihintale, Sri Lanka. 1–7 p. 2018.

ARAUJO, A. L. L. De. **Estudo da qualidade do mel de abelhas sem ferrão por análise por ativação neutrônica instrumental**. 2013. 108 p. (Doutorado em Ciências, Área de Concentração: Química na Agricultura e Ambiente). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

BARBOSA, L.; MADI, L.; TOLEDO, M. A.; REGO, R. A. **Revista Brasil Food Trends - Tendências da Alimentação pelo Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL)**, São Paulo, Brasil, 2015.

BRACESCO, N.; SANCHEZ, A. G.; CONTRERAS, V.; MENINI, T.; GUGLIUCCI, A.. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: Minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, Uruguay, 136, 378–384, 2011.

BRADFORD, M. M.; Determinação de proteínas solúveis pelo Método de Bradford. **Anal. Biochem.** 1976, 72, 248

BRASIL. Ministério da Agricultura e do abastecimento (2000). **Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel**. Disponível em:<
<http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/IN-11-de-2000.pdf>>. Acesso em: 10 jun. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Disponível em:
<<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/cana-de-acucar>> . Acesso em: 21 de ago. 2019.

CAMOTTI BASTOS, M.; CHEROBIM, V. F.; REISSMANN, C. B.; FERNANDES KASEKER, J.; GAIAD, S. Yerba mate: Nutrient levels and quality of the beverage depending on the harvest season. **Food Composition and Analysis**, Curitiba, Brasil, v. 69, p. 1–6, 2018.

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

DE FILIPPIS, F.; TROISE, A. D.; VITAGLIONE, P.; ERCOLINI, D. Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during Kombucha tea fermentation. **Food Microbiology**, Portice, Italy, v. 73, p. 11–16, 2018.

GAMBOA-GÓMEZ, C. I.; SIMENTAL-MENDÍA, L. E.; GONZÁLEZ-LAREDO, R. F.; ALCANTAR-OROZCO, E. J.; MONSERRAT-JUAREZ, V. H.; RAMÍREZ-ESPAÑA, J. C.; GALLEGOS-INFANTE, J. A.; MORENO-JIMÉNEZ, M. R.; ROCHA-GUZMÁN, N. E. In vitro and in vivo assessment of anti-hyperglycemic and antioxidant effects of Oak leaves (*Quercus convallata* and *Quercus arizonica*) infusions and fermented beverages. **Food Research International**, Durango, México, v. 102, n. 1, p. 690–699, 2017.

GIRBÉS, T.; JIMÉNEZ, P.; **Prácticas de fundamentos de alimentación y nutrición**. Grado de Nutrición Humana y Dietética. 2012.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Métodos físicos e químicos para análise de alimentos. 4ª Ed., São Paulo, Vol. 1, 2008.

JAYABALAN, R.; MALBAŠA, R. V.; LONČAR, E. S.; VITAS, J. S.; SATHISHKUMAR, M. A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, India, v. 13, n. 4, p. 538–550, 2014.

JAYABALAN, R.; MALBAŠA, R. V.; SATHISHKUMAR, M. Kombucha. **Reference Module in Food Science**, India, p. 1–8, 2016.

MALBAŠA, R, V.; LONCAR, E. S.; VITAS, J. S.; CANADANOVIC-BRUNET, J. M. Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. **Journal of Food Chemistry**. Novi Sad, Serbia. 1727–1731 p. 2011.

MALBAŠA, R.; LONČAR, E.; DJURIĆ, M. Comparison of the products of Kombucha fermentation on sucrose and molasses. **Food Chemistry**, Serbia, v. 106, n. 3, p. 1039–1045, 2008.

MEINHART, A. D., CALDEIRÃO, L., DAMIN, F. M., FILHO, J. T., & GODOY, H. T.. Analysis of chlorogenic acids isomers and caffeic acid in 89 herbal infusions (tea). **Journal of Food Composition and Analysis**, 73, 76–82, 2018

NASCIMENTO, K. S.; SATTTLER, J. A. G.; MACEDO, L. F. L.; GONZÁLEZ, C. V. S.; MELO, I. L. P.; ARAÚJO, E. S.; GRANATO, D.; SATTTLER, A.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.. Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys, **LWT - Food Science and Technology**, 91, 85–94, 2018.

NEFFE-SKOCIŃSKA, K.; SIONEK, B.; ŚCIBISZ I., KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA, D.; Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. **CyTA - Journal of Food**, 15:4, 601-607. Jul. 2017. ARAUJO, A. L. L. De. **Estudo da qualidade do mel de abelhas sem ferrão por análise por ativação neutrônica instrumental**. 2013. 108 p. (Doutorado em Ciências, Área de Concentração: Química na Agricultura e Ambiente). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

NOGUEIRA, F. S.; FERREIRA, K. S.; CARNEIRO JUNIOR, J. B.; PASSONI, L. C. Minerais em melados e em caldos de cana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, Brasil, vol. 29, núm. 4, pp. 727-731, 2009.

NORDIN, A. ;SAINIK, N. Q. A. V.; CHOWDHURY, S. R.; SAIM, A. B., IDRUS, R. B. H.; Physicochemical properties of stingless bee honey from around the globe: A comprehensive review, **Journal of Food Composition and Analysis**, Kuala Lumpur, Malasya, 2018.

OLIVEIRA, D. M.; BASTOS, D. H.. Phenolic acids bioavailability. **Química Nova**, Vol. 34, No. 6, 1051-1056, 2011.

PILATTI-RICCIO, D.; DOS SANTOS, D. F.; MEINHART, A. D.; KNAPP, M. A.; HACKBART, H. C. S.; PINTO, V. Z.. Impact of the use of saccharides in the

encapsulation of *Ilex paraguariensis* extract. **Food Research International**, 2019.

SANTOS, J. S.; DEOLINDO, C. T. P.; HOFFMANN, J. F.; CHAVES, F. C.; DO PRADO-SILVA, L.; SANT'ANA, A. S.; AZEVEDO, L.; DO CARMO, M. A. V.; GRANATO, D. Optimized *Camellia sinensis* var. *sinensis*, *Ilex paraguariensis*, and *Aspalathus linearis* blend presents high antioxidant and antiproliferative activities in a beverage model. **Food Chemistry**, Ponta Grossa, Brasil, v. 254, p. 348–358, 2018.

SILVEIRA, J. O.. **Caracterização e avaliação da qualidade do melado de cana-de-açúcar produzido na região de santo antônio da patrulha- RS**. 2017. 37 p. (trabalho de conclusão de curso, Engenharia Agroindustrial). Universidade Federal do Rio Grande, Santo Antônio da Patrulha, 2017.

SILVEIRA, T. F. F.; MEINHART, A. D.; DE SOUZA, T. C. L.; CUNHA, E. C. E.; DE MORAES, M. R.; FILHO, J. T.; GODOY, H. T.. Optimization of the Preparation Conditions of Yerba Mate tea Beverage to Maximize Chlorogenic Acids Extraction. **Plant Foods Hum Nutr**. Campinas, SP. 1-5 p. 2017.

SUN, T. Y.; LI, J. S.; CHEN, C. Effects of blending wheatgrass juice on enhancing phenolic compounds and antioxidant activities of traditional kombucha beverage. **Journal of Food and Drug Analysis**, Taichung, Taiwan, v. 23, n. 4, p. 709–718, 2015.

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

VILLARREAL-SOTO, S.A.; BEAUFORT, S.; BOUJILA, J.; SOUCHARDA, J.; RENARD, P.; ROLLAN, S.; TAILLANDIERA, P.. Impact of fermentation conditions on the production of bioactive compounds with anticancer, anti-inflammatory and antioxidant properties in kombucha tea extracts. **Journal of Process Biochemistry**. Toulouse, France. 44–54 p. 2019.

VITAS, J. S.; CVETANOVIĆ, A. D.; MAŠKOVIĆ, P. Z.; ŠVARC-GAJIĆ, J. V.;

MALBAŠA, R. V. Chemical composition and biological activity of novel types of kombucha beverages with yarrow. **Journal of Functional Foods**, Serbia, v. 44, n. February 2017, p. 95–102, 2018.

WANG, N. S. **Glucose assay by dinitrosalicylic colorimetric method**. Disponível em: <<https://user.eng.umd.edu/~nsw/ench485/lab4a.htm>>

ZUBAIDAH, E.; DEWANTARI, F. J.; NOVITASARI, F. R.; SRIANTA, I.; BLANC, P. J. Potential of snake fruit (*Salacca zalacca* (Gaerth.) Voss) for the development of a beverage through fermentation with the Kombucha consortium. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, Malang, Indonesia, v. 13, n. September 2017, p. 198–203, 2018.