



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

VINICIUS DOMINGUES SANTOS

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
KOMBUCHA DE FRUTAS VERMELHAS NATIVAS DA MATA
ATLÂNTICA**

Londrina
2024



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA**

Centro de Ciências Agrárias

Depto. De Ciência e Tecnologia de Alimentos

Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos



**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
KOMBUCHA DE FRUTAS VERMELHAS NATIVAS DA MATA
ATLÂNTICA**

Vinicius Domingues Santos

**Londrina
2024**

VINICIUS DOMINGUES SANTOS

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
KOMBUCHA DE FRUTAS VERMELHAS
NATIVAS DA MATA ATLÂNTICA**

dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível Mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientador: Prof.^ª Dr.^ª Karla Bigetti Guergoletto.
Coorientador: Prof. Dr. Pedro Henrique Freitas Cardines.

Londrina
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

V785d Domingues Santos, Vinicius .
DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE KOMBUCHA DE FRUTAS VERMELHAS NATIVAS DA MATA ATLÂNTICA / Vinicius Domingues Santos. - Londrina, 2024.
72 f. : il.

Orientador: Karla Bigetti Guergoletto.
Coorientador: Pedro Henrique Freitas Cardines.
Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2024.
Inclui bibliografia.

1. Kombucha, bebida funcional, compostos bioativos, SCOBY, Atividade antioxidante. - Tese. I. Bigetti Guergoletto, Karla. II. Freitas Cardines, Pedro Henrique. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. IV. Título.

CDU 641.1

VINICIUS DOMINGUES SANTOS

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE
KOMBUCHA DE FRUTAS VERMELHAS NATIVAS DA MATA
ATLÂNTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Profa. Dra. Karla Bigetti Guergoletto
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra Sandra Helena Prudencio
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Giselle Aparecida Nobre Costa
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 24 de Janeiro de 2024.

*Dedico este trabalho a todas as pessoas
que eu amo e acreditaram em mim.
E que mais pessoas possam chegar
onde eu estou!*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer em especial a minha mãe, ao meu pai e toda a minha família, por todo esforço em vida para que eu conseguisse chegar aonde estou.

A minha orientadora Dra. Karla Bigetti Guergoletto pelos ensinamentos, paciência, orientações e todo suporte necessário para o desenvolvimento pessoal e profissional.

Ao meu Coorientador, Dr. Pedro Henrique Freitas Cardines, por aceitar este desafio e direcionar a pesquisa na execução.

A minha companheira Renata Fávero, por seu amor, carinho, cuidado, apoio e paciência em todos os momentos.

Ao meu grande amigo Eduardo Lolato, que esteve presente em todos os momentos da pós-graduação, se mostrando paciente e compartilhando seu conhecimento.

Aos meus amigos e amigas, que estiveram comigo durante todo este processo, as conversas, os cafés e a troca de experiência que proporcionaram a expansão do conhecimento.

A todos aqueles que fazem parte do departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina (professores e funcionários) que puderam ensinar e auxiliar nas dúvidas.

A Cia. Dos Fermentados pelo apoio e troca de informações para o desenvolvimento da pesquisa.

A todos aqueles que acreditam em uma agricultura diversificada e sustentável, valorizando a Mata Atlântica e suas frutas nativas.

A banca examinadora, pelos direcionamentos.

A banca examinadora composta por Dra. Sandra Helena Prudêncio e Dra., Giselle Aparecida Nobre Costa, pela disponibilidade e contribuições.

Agradeço a CAPES, pelo suporte financeiro.

E a todos que de maneira direta ou indiretamente fizeram parte desta história.

“Seremos homens melhores
Onde estivermos
O mundo é que está errado”

DEAD FISH

RESUMO

SANTOS, Domingues Vinicius. **Desenvolvimento e caracterização de kombucha de frutas vermelhas nativas da mata atlântica**. 2024. 71 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) — Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

A Kombucha é uma bebida fermentada produzida a partir de chá (*Camellia sinensis*) ou infusão adoçada, com a adição de uma cultura de bactérias e leveduras conhecida como mãe do Kombucha ou *SCOBY*. Estudos destacam a fermentação do Kombucha como essencial para a produção de compostos bioativos associados a benefícios para a saúde, impulsionando a popularidade dessa bebida. O Brasil, com sua rica biodiversidade, oferece uma ampla gama de espécies frutíferas nativas com notáveis qualidades para consumo "*in natura*" e aplicação industrial. Pesquisas atuais têm evidenciado as características nutricionais, sensoriais e os potenciais compostos bioativos, especialmente decorrentes da fermentação dessas frutas. Neste contexto, esta pesquisa teve como objetivo principal desenvolver duas bebidas fermentadas, uma utilizando *SCOBY* comercial (SCF) e outra artesanal (SKA), ambas saborizadas com polpa de frutas vermelhas nativas: juçara (*Euterpe edulis*), jabuticaba (*Plinia cauliflora*) e grumixama (*Eugenia brasiliensis*). O estudo buscou avaliar o processo fermentativo e sua influência na atividade antioxidante, características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais durante e após a fermentação. Os resultados demonstraram diferenças significativas entre as bebidas finais produzidas com os diferentes tipos de *SCOBY*. Notavelmente, os teores fenólicos foram de 53,08 mg EAG 100 mL⁻¹ para *SCOBY* comercial e 65,60 mg EAG 100 mL⁻¹ para *SCOBY* artesanal, indicando uma possível influência do tipo de cultura na composição final. Além disso, as análises microbiológicas revelaram diferenças na contagem de leveduras, com 4,85 log UFC mL⁻¹ para *SCOBY* comercial e 6,32 log UFC mL⁻¹ para *SCOBY* artesanal. Os dados de atividade antioxidante sugerem que a adição da polpa de frutas vermelhas foi benéfica, com valores finais na bebida para ABTS+ de 2248,18 e 1719,15 mM eq trolox 100 mL⁻¹, e para DPPH de 576,85 e 576,18 mM eq trolox 100 mL⁻¹, para *SCOBY* comercial e *SCOBY* artesanal, respectivamente. No teste triangular, observou-se uma diferença significativa entre as bebidas, destacada pelos avaliadores devido ao sabor ácido mais perceptível em algumas amostras. A inserção da polpa de frutas vermelhas mostrou-se benéfica tanto nas características físico-químicas quanto sensoriais da bebida, contribuindo para a valorização do produto e das frutas nativas, o que pode potencializar sua comercialização e a criação de novos produtos. Estes resultados indicam que a bebida Kombucha saborizada com frutas nativas é promissora, oferecendo potencialidades para alimentos funcionais e probióticos. No entanto, são necessárias mais pesquisas para explorar completamente esses efeitos e consolidar seu potencial no mercado.

Palavras-chave: Kombucha, Bebida funcional, Compostos bioativos, *SCOBY*, Atividade antioxidante.

ABSTRACT

SANTOS, Domingues Vinicius. **Development and characterization of kombucha from native red fruits of the atlantic forest.** 2024. 71 p. Dissertation (Master's in Food Science) — State University of Londrina, Londrina, 2024.

Kombucha is a fermented beverage produced from tea (*Camellia sinensis*) or sweetened infusion, with the addition of a culture of bacteria and yeasts known as the mother of Kombucha or SCOBY. Studies highlight Kombucha fermentation as essential for the production of bioactive compounds associated with health benefits, driving the popularity of this beverage. Brazil, with its rich biodiversity, offers a wide range of native fruit species with notable qualities for both fresh consumption and industrial applications. Current research has been focusing on the nutritional, sensory, and potential bioactive compounds, especially derived from the fermentation of these fruits. In this context, this research aimed to develop two fermented beverages, one using commercial SCOBY (SCF) and the other artisanal (SKA), both flavored with pulp of native red fruits: acai berry (*Euterpe edulis*), jabuticaba (*Plinia cauliflora*), and grumixama (*Eugenia brasiliensis*). The study sought to evaluate the fermentation process and its influence on antioxidant activity, physicochemical, microbiological, and sensory characteristics during and after fermentation. The results showed significant differences between the final beverages produced with different types of SCOBY. notably, phenolic contents were 53.08 mg GAE 100 mL⁻¹ for commercial SCOBY and 65.60 mg GAE 100 mL⁻¹ for artisanal SCOBY, indicating a possible influence of the culture type on the final composition. Additionally, microbiological analyses revealed differences in yeast counts, with 4.85 log CFU mL⁻¹ for commercial SCOBY and 6.32 log CFU mL⁻¹ for artisanal SCOBY. Antioxidant activity data suggest that the addition of red fruit pulp was beneficial, with final values in the beverage for ABTS⁺ of 2248.18 and 1719.15 mM eq trolox 100 mL⁻¹, and for DPPH of 576.85 and 576.18 mM eq trolox 100 mL⁻¹, for commercial SCOBY and artisanal SCOBY, respectively. In the triangular test, a significant difference was observed between the beverages, highlighted by the evaluators due to the more perceptible acidic flavor in some samples. The insertion of red fruit pulp proved beneficial in both physicochemical and sensory characteristics of the beverage, contributing to the valorization of the product and native fruits, which can enhance its commercialization and the creation of new products. These results indicate that Kombucha flavored with native fruits is promising, offering potential for functional and probiotic foods. However, further research is needed to fully explore these effects and consolidate its potential in the market.

Key-words: Kombucha, Functional beverage, Bioactive compounds, SCOBY, Antioxidant activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Juçara (<i>Euterpe edulis</i>).....	18
Figura 2 - Jabuticaba (<i>Myrciaria cauliflora</i>).....	19
Figura 3 - Fruto e árvore da Grumixama	21
Figura 4 - Coloração dos frutos da grumixama.....	22
Figura 5 - Etapa de produção de polpa de frutas. a) Grumixama; b) Polpa das frutas separadas; c) Polpa mista.....	29
Figura 6 - Fluxograma do preparo do Kombucha.....	30
Figura 7 - Kombucha 1ª fermentação. a) SKA; b) SCF.....	30
Figura 8 - Kombucha 2ª fermentação. a) SKA; b) SCF.....	31
Figura 9 - Variação do pH, acidez titulável e teor de sólidos solúveis durante a fermentação do kombucha das amostras SCF (SCOBY Companhia dos Fermentados) e SKA (.SCOBY Artesanal) durante 14 dias de fermentação	41
Figura 10 - Microscopia eletrônica de varredura dos SCOBYs (A) SCF (SCOBY Companhia dos Fermentados) e (B) SKA (SCOBY Artesanal) com aumentos de e 10.000 vezes (detalhe).....	47
Figura 11 - Perfil dos avaliadores da análise sensorial	48
Figura 12 - Gráfico do consumo das frutas e bebida	48
Figura 13 - Gráfico do teste triangular	49
Figura 14 - Teste de aceitação	50
Figura 15 - Gráficos de Intenção de compra das bebidas.	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição centesimal da polpa mista de frutas contendo juçara, jabuticaba e grumixama (PFV)	38
Tabela 2 -	Valores de pH, °Brix, acidez titulável e cor antes e durante a fermentação dos kombuchas utilizando os SCOBYS comercial (SCF) e artesanal (SKA)	40
Tabela 3 -	Compostos bioativos e atividade antioxidante na polpa mista e durante a fermentação (0, 7 e 14 dias) dos kombuchas comercial e artesanal.....	43
Tabela 4 -	Contagem de microrganismos nos Kombuchas produzidos com SCOBYS comercial (SKA) e doação (SCF) antes (0), durante (7) e após (FN) o processo fermentativo	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AT	Acidez titulável
ANOVA	Análise de Variância
ABTS	2,2' azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácidosulfônico)
BAA	Bactérias Ácido Acéticas
BAL	Bactérias do Ácido Lático
CEP	Comitê de Ética de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos
DPPH	2,2-difenil-1-picrihidrazil
EAG	Equivalente Ácido Gálico
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MRS	Man, Rogosa & Sharpe
MYP	Manitol, Yeast e Peptona
PDA - AC	Ágar Batata Dextrose Acidificado
PFV	Polpa Mista de Frutas Vermelhas Nativas
SCF	SCOBY Companhia do Fermentados
SKA	SCOBY Artesanal
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFC	Unidade Formadora de Colônias
FOSHU	Foods for Specified Healt Use

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	14
2.	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo geral	16
2.2	Objetivos específicos	16
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1	Frutas nativas	17
3.1	Juçara	17
3.2	Jabuticaba	19
3.3	Grumixama	20
3.4	Alimentos funcionais	23
3.5	Kombucha	25
4.	MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1	Material	28
4.1.1	Preparo das polpas	28
4.1.2	Preparo do kombucha	29
4.1.2.1	Primeira fermentação	30
4.1.2.2	Saborização.....	31
4.1.2.3	Segunda fermentação	31
4.1.3	Análises físico-químicas	31
4.1.4	Análise microbiológica	32
4.1.5	Compostos fenólicos e atividade antioxidante	32
4.1.5.3	Determinação da capacidade doadora de átomos de hidrogênio ao radical 2,2-difenil-1-picrihidrazil (DPPH).....	33
4.1.5.5	Determinação de antocianinas e flavonóides	34
4.1.6	Microscopia eletrônica de varredura.....	35
4.1.7	Teor alcoólico por picnometria.....	35
4.1.8	Avaliação sensorial.....	36
4.1.9	Análise Estatística	37

5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1	Caracterização físico-química da polpa mista de frutas vermelhas nativas (PFV)	38
5.2	Avaliação físico-química antes e durante a fermentação da kombucha	39
5.1.3	Teor alcóolico	42
5.2	Compostos bioativos	43
5.3	Análises microbiológicas	45
5.3.1	Contagem em placas de leveduras, BAA e BAL	45
5.3.2	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	46
5.4	Análise sensorial	47
6.	CONCLUSÃO	52
	REFERÊNCIAS	54
	ANEXOS	66

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos principais centros de origem e diversidade de plantas frutíferas, abrigando mais de uma centena de espécies nativas cujos frutos se prestam à alimentação humana. (RODRIGUES e VIANI, 2005).

Segundo Antunes *et al.*, (2017), as frutas, em sua grande maioria são compostas por elementos que exercem um papel antioxidante, dentre os quais a vitamina C, vitamina E, carotenoides e especialmente substâncias fenólicas.

Na concepção de Junior *et al.*, (2020), a comercialização das frutas nativas ainda é bastante limitada e não há um mercado constituído e consolidado em diversas regiões do país. Entretanto, para que haja a comercialização e o devido escoamento das frutas nativas da Mata Atlântica é necessário que ocorra a publicidade das frutas para a sociedade, com a finalidade de abertura de mercado e manutenção deste.

Existe uma grande preocupação de uma parte da sociedade em buscar alternativas para uma alimentação mais saudável, com o intuito de melhorar a longevidade e a qualidade de vida (CAMARGOS & GONZAGA, 2015; MARTINS *et al.*, 2020). Desta forma, os alimentos funcionais vêm ganhando visibilidade e facilitando a conscientização das pessoas em relação a qualidade e benefícios à saúde. Ao longo de décadas é dado um destaque expressivo em pesquisas relacionadas aos alimentos funcionais nas áreas de tecnologia alimentar e melhorias à saúde. (BAGCHI, 2019; BORGES *et al.*, 2021; SUÁREZ *et al.*, 2021; VEGA, 2021).

Os estudos e análises sobre frutas nativas brasileiras tem sido uma crescente nos últimos anos em virtude de serem ricas nutricionalmente e trazerem aromas e sabores diferenciados (CARVALHO *et al.*, 2017).

Dentro deste grupo, encontram-se os sucos e as polpas combinadas de diversas frutas, os quais têm atraindo inúmeros consumidores em razão de melhoria da qualidade no produto final, bem como, sua valorização de nutricional com acréscimo de nutrientes em relação aos benefícios para a saúde, destacando-se especialmente a capacidade antioxidante. Estes produtos também ressaltam a produção de aspectos sensoriais, contribuindo para uma aceitação global mais favorável (CARVALHO *et al.*, 2017).

Kombucha é a bebida fermentada obtida através de uma etapa de respiração aeróbica e uma segunda fermentação anaeróbica do mosto obtido pela infusão ou extrato de *Camellia sinensis* (chá verde, chá preto, chá *oolong*) e açúcares por cultura

simbiótica de bactérias e leveduras microbiologicamente ativas (SCOBY) (BRASIL, 2019). Estudos relataram que a fermentação do Kombucha exerce um papel fundamental na produção de compostos bioativos e tem diversas vantagens para a saúde. A cultura inicial usada para fermentação do Kombucha evidencia uma variabilidade de microrganismos em relação à composição do substrato, parâmetros ambientais e localização geográfica (JAYABALAN e WAISUNDARA, 2019; VILLARREAL-SOTO et al. 2020; BARBOSA, 2021).

Existem diversas variações na produção do Kombucha, mas o processo tradicional é realizado com a infusão do chá preto ou verde, adicionado de sacarose e inoculado com o líquido e o SCOBY de uma fermentação anterior (MAY et al. 2019).

A Kombucha tem um microbioma característico incluindo vários gêneros de BAA, leveduras e em uma escala menor, gêneros de bactérias lácticas, Destacando-se *Komagataeibacter*, *Acetobacter* e *Glucanobacter* como os gêneros de bactérias acéticas, *Brettanomyces* e *Zygosaccharomyces* como os gêneros de leveduras e *Lactobacillus*, *Lactococcus* como os gêneros de bactérias lácticas. Esses microrganismos relacionam-se por meio de simbiose, auxiliando na obtenção de uma bebida com características sensoriais desejáveis (CHAKRAVORTY et al., 2016; VILLARREAL-SOTO et al., 2018; VILLAREAL-SOTO, 2020).

De acordo com Coelho (2020), a Kombucha vem ganhando um espaço significativo e aumentando a sua popularidade devido aos seus benefícios à saúde. Assim, torna-se cada vez mais comum encontrar Kombucha saborizada para consumo imediato no mercado brasileiro. Os efeitos benéficos reportados são atribuídos à presença de polifenóis do chá, ácido glucônico, ácido glucurônico, ácido láctico, vitaminas, aminoácidos e uma diversidade e micronutrientes produzidos durante a fermentação (JAYBALAN, 2014).

Com isso, a presente pesquisa avaliou a produção de Kombuchas a partir de dois SCOBYS (comercial e artesanal), saborizados com três frutas brasileiras: juçara, jabuticaba e grumixama.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver bebidas fermentadas de Kombucha saborizadas com frutas vermelhas brasileiras (juçara, jaboticaba e grumixama) e avaliar o processo fermentativo com o uso de *SCOBY* comercial e artesanal e sua influência na atividade antioxidante *in vitro*, características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o mix de polpa de frutas produzidos com juçara, grumixama e jaboticaba em termos de composição centesimal, conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante;
- Acompanhar o processo fermentativo da produção das bebidas com os *SCOBYs* comercial e artesanal, em termos de composição físico-química, atividade antioxidante e contagem de bactérias e leveduras;
- Caracterizar as bebidas produzidas.
- Avaliar a diferença e a aceitação sensorial das kombuchas desenvolvidas por consumidores potenciais.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 FRUTAS NATIVAS

O Brasil é rico em biodiversidade, com ampla disponibilidade de espécies frutíferas nativas para o consumo *in natura* e aplicação industrial, no qual vem viabilizando um aumento de pesquisas sobre as mesmas, justamente por serem ricas nutricionalmente e trazerem individualidades sensoriais (INFANTE et al., 2016).

Esta diversidade biológica é dividida entre seis biomas: Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Caatinga, Pantanal e Pampa. Os mesmos trazem características individuais de clima, flora, fauna e ecossistema (PEIXOTO, 2016).

Segundo Fundação SOS Mata Atlântica (2019), mesmo com a devastação crescente é notável que o bioma abriga uma ampla variedade de espécies arbóreas, incluindo aquelas de natureza frutífera.

Existem diversos benefícios correlacionados ao consumo de frutas nativas da Mata Atlântica, entretanto, observa-se uma lacuna de informação para o consumidor, o que impacta negativamente na comercialização e no escoamento dessas frutas, onde elas acabam ficando desconhecidas, impedindo de serem difundidas de maneira otimizada (JUNIOR, 2020).

Para uma nova perspectiva de expansão do cultivo de frutas nativas, Da Silva et al., (2022), ressalta a importância de novas pesquisas que possam fortalecer agricultores em diversas demandas, grupos agroecológicos envolvendo cultivo, plantio e troca de mudas e sementes. Contudo, para uma maior multiplicação, é necessário articular canais de comercialização que aproximem agricultores de consumidores, como feiras livres e outros espaços de processamento que possam gerar novos produtos.

3.1 JUÇARA

A palmeira Juçara (*Euterpe edulis*), encontrada na Mata Atlântica brasileira é conhecida amplamente por sua produção de palmito nobre, destaca-se suas particularidades e seu elevado sabor quando comparados a outras espécies de Euterpes (*Oleaceae* e *precatória*) de nome popular açaí (GUERGOLETTTO, 2016). Produz frutos globulares e roxos, também conhecidos como juçara, são fontes de compostos bioativos sobretudo as antocianinas (DA SILVA CARVALHO, 2019)

(FIGURA 1) O número de pesquisas sobre juçara vem aumentando com frequência devido a sua composição nutricional e seu modelo de produção sustentável (CARDOSO, 2018).

Figura 1: Juçara (*Euterpe edulis*).



Fonte: ÁRVORES DO BRASIL, s/a; NOSSA FLORA NOSSO MEIO, 2017.

Plantas nativas são fundamentais para a preservação da biodiversidade e a produção local de alimentos pode contribuir para uma agricultura diversificada e menos predatória. A cadeia produtiva da fruta juçara é essencial para um manejo sustentável conduzindo uma valorização do bioma Mata Atlântica e garantindo uma considerável fonte de renda para a agroindústria familiar local (GARCIA, 2019).

A polpa do fruto da juçara possui importante valor nutricional, com proteínas, açúcares, fibras e uma fração lipídica com alto teor de ácidos graxos poli-insaturados como o ácido oleico e menor teor de lipídios saturados (CARDOSO, 2018). Além disso, a juçara é rica em compostos fenólicos, com teor de antocianinas monoméricas totais variando de 14,8 a 410 mg de cianidina-3-glicosídeo mg 100 / g e fenólico total em torno de 2611 mg 100 / g GAE de acordo com a região de crescimento e as condições climáticas de produção da planta (BORGES et al., 2011) e tem sido aplicada como substrato para fermentação de bactérias probióticas (KINUPP; LORENZI, 2014; GUERGOLETTTO; MAURO; GARCIA, 2017; LEITE, 2018).

As bagas de Juçara são quase exclusivamente comercializadas como polpa congelada, que é consumida como tal ou utilizada como ingrediente principal de várias bebidas frias e gelados (SCHULZ et al., 2016). Geraldi, et al., (2018), avaliaram a incorporação deste ingrediente na formulação de iogurtes e observaram que a adição melhorou a qualidade nutricional do produto, bem como a resistência probiótica a condições gástricas e entéricas simuladas.

3.2 JABUTICABA

A jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) é uma fruta tropical nativa do Brasil (MEIRA; PEREIRA, 2017). Foi classificada como a 2ª melhor fruta do mundo, de acordo com o *ranking* do *TasteAtlas* em 2023. O fruto é uma baga preta esférica com uma casca fina e frágil, e com um bagaço branco ligeiramente ácido e doce, com sabor adstringente (MORALES et al. 2016) (FIGURA 2)

Figura 2: Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*).



Fonte: Do autor, 2024.

Devido ao seu alto valor nutricional e por ser vista como uma viável fonte de compostos bioativos que estão presentes especialmente em sua casca (ALMEIDA NETA et al., 2018; MARSIGLIA, et al., 2021; SANCHES et al., 2021). Destaca-se seu elevado teor de carboidratos, fibras (solúveis e insolúveis), sais minerais como ferro, cálcio, e fósforo, e compostos fenólicos, evidenciam seu potencial benefício à saúde (ALMEIDA, 2020). Estes compostos presentes na jabuticaba contribuem para saúde

humana e são associados ao controle ou prevenção de doenças cardiovasculares e vários tipos de câncer. (KINUPP; LORENZI, 2014).

A casca da jabuticaba é uma importante fonte de compostos fenólicos, principalmente as antocianinas. Embora as películas não sejam consumidas diretamente, podem ser utilizadas na produção de extratos e geleias. Além disso, os extratos fenólicos da casca de jabuticaba apresentam grande relevância para fins industriais, devido ao seu potencial uso como corantes naturais (SILVA et al., 2014; RODRIGUES et al., 2015; ROCHA et al., 2018).

Apesar de sua apreciação como fruta fresca pelos consumidores, a jabuticaba tem sido objeto de estudos abrangentes, devido sua alta perecibilidade, apresentando desafios para sua comercialização. Para contornar as perdas pós-colheita, a produção de geleias, sorvetes, sucos, licores, destilados e vinificados surge como uma alternativa viável, agregando valor à fruta e expandindo suas possibilidades de aproveitamento (PEREIRA, 2017).

O rico valor nutricional da polpa, associado ao seu sabor agradável, são incentivos para a produção industrial e comercialização do suco de jabuticaba (INADA et al., 2018). Com características favoráveis, a jabuticaba torna-se uma opção de ser um substrato para a 2ª fermentação do Kombucha, com o potencial de trazer benefícios à saúde e enriquecer a bebida.

3.3 GRUMIXAMA

A grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lam.) é uma planta rústica que pertence à família *Myrtaceae*. Se distribui nas regiões sul e sudeste do Brasil, localizada no bioma Mata Atlântica (FLORES et al., 2012). É uma pequena cereja também conhecida como grumixama, cumbixaba, ibaporoiti ou cereja brasileira (SUGUINO et al., 2011). O nome “grumixama” deriva do tupi-guarani “guami chã”, língua falada pelos indígenas que habitavam o litoral brasileiro, que significa “que deve pegar na língua” devido ao sabor bastante palatável (RAMOS et al., 2020).

A grumixama é uma árvore perene com copa densa, folhas grandes, com 6 a 9 cm de comprimento, espessas e brilhantes. As flores são brancas, axilares e solitárias (LORENZI et al., 2000). A árvore pode atingir cerca de 15 m de altura, mas já começam a produzir frutos quando atinge os 2 m, os frutos são pequenos, possuem

sementes, uma polpa espessa, succulenta e firme com um sabor doce ácido (AGUIAR et al., 2015; LORENZI et al., 2000) (FIGURA 3).

Existem 3 variedades de grumixama já identificadas e esta distinção é feita através da coloração dos frutos (Amarelo, vermelho e roxo) (RAMOS, 2020) (Figura 4).

Na variedade roxa está presente uma via bioquímica que leva ao acúmulo de antocianidinas, notado pela cor roxa escura do fruto, e na amarela, esses metabólitos não estão aparentemente presentes (MORENO et al., 2007).

Conforme Nehring et al. (2016), observa-se que a composição nutricional e química da grumixama é influenciada de acordo com suas regiões de cultivo e estágio de maturação. Alguns estudos demonstraram que as polpas de *E. brasiliensis* possuem pH médio de 4,34, acidez total de 0,18 (g NaOH), 4,5° Brix, umidade de 91,05%, 0,34% de cinzas, 0,08% de lipídios, 0,41% proteínas e 2,56% de fibras totais (MEDEIROS; SABAA-SRUR; BARBOSA, 2015; TEIXEIRA et al., 2015; ZOLA et al., 2019).

Figura 3: Fruto e árvore da Grumixama.



Fonte: Do autor, 2021.

Figura 4: Coloração dos frutos da grumixama



Fonte: FÜRST, 2018.

De acordo com Teixeira et al., (2017) o suco de grumixama apresenta ação anti-inflamatória, efeito anti-edematogênico, atividade antibiofilme contra patógenos importantes para inibir a formação de biofilmes causados por organismos patogênicos e baixa toxicidade *in vitro* e *in vivo*. Estes efeitos, estão relacionados com a presença de compostos polifenólicos existentes no suco. Desta forma, considera-se que existe um interesse devido aos seus efeitos benéficos nutricionais e terapêuticos, pela ação antioxidante de seus compostos funcionais (RAMOS et al.,2020).

A grumixama é reconhecida como uma boa fonte de compostos bioativos, que estão relacionados à manutenção da saúde e à redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas. Os principais compostos bioativos presentes nas frutas da grumixama são os carotenoides, fibras alimentares, antocianinas e compostos fenólicos, principalmente flavonoides e elagitaninos (OKUDA et al., 1982; FRACASSETTI et al., 2013; ABE et al., 2012; REYNERTSON et al., 2008). Na planta, os flavonoides contribuem para proteger e minimizar os danos ultravioleta nos tecidos vegetais absorvendo a radiação UV e protegendo contra o estresse oxidativo (REYNERTSON et al., 2008). Em humanos, os flavonoides podem ajudar os sistemas biológicos a melhorar as funções normais e a saúde (SANGIOVANNI et al., 2013; NIIVEIDT et al., 2001).

A polpa da grumixama é promissora para ser introduzida em produtos alimentares como bebida, visando o seu enriquecimento (RAMOS, 2020). Na pesquisa de Teixeira (2018), é apresentado um potencial significativo de aplicação industrial para a grumixama. No entanto, observa-se que, até o momento, essa potencialidade não tem sido plenamente explorada, permanecendo restrita a produtos

artesanais. Vale ressaltar, contudo, que a utilização da casca de grumixama como matéria-prima para a extração de corantes naturais destaca-se como uma alternativa promissora na indústria de alimentos. O suco de grumixama apresenta uma disponibilidade de açúcar solúvel em 2%. Principalmente glicose e frutose, além de ácidos orgânicos, principalmente ácidos succínico ($1211,00 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$) e cítrico ($336,00 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$) em níveis elevados (TEIXEIRA, 2019). Sendo assim, estas características presentes no fruto exibem um potencial de substrato para melhorar o desempenho da kombucha.

3.4 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Atualmente, observa-se as mudanças no estilo de vida, caracterizadas por hábitos alimentares desequilibrados, incluindo a substituição de alimentos *in natura* por produtos industrializados ricos em energia e gordura, pobres em fibras e micronutrientes que elevam os riscos de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (OLIVEIRA et al., 2015; BROGNOLLI et al., 2018; DA CONCEIÇÃO et al., 2018) como obesidade, diabetes, câncer e hipertensão, que estão propriamente compatíveis com maus hábitos alimentares e sedentarismo (ALJAHANI; CHEIKHOUSMAN, 2017). Neste contexto há uma crescente procura por alimentos, que não somente sirvam como fonte de nutrientes, mas que também, tragam benefícios adicionais à saúde, como a diminuição no risco de desenvolver doenças (FONTES, 2013; RENUKA et al., 2009).

De acordo com a literatura, para o alimento ser considerado funcional é imprescindível que ele atue de forma benéfica em uma ou mais funções no organismo, isto é, além de representar o papel de fornecer nutrientes, o mesmo exige, de algum modo estimular de forma relevante a saúde e o bem-estar (MORAES & COLLA, 2006; ROBERFROID, 2002). O termo foi utilizado pela primeira vez no Japão na década de 1980 (KAUR; SINGH, 2017), quando o Ministério da Saúde e Bem-Estar daquele país iniciou a regulamentação de alimentos benéficos à saúde (*FOSHU*).

A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) é o órgão responsável por regulamentar os alimentos funcionais no Brasil, tornou-se público em 30 de abril de 1999 três resoluções acerca do tema. A resolução de nº 17 discute e aprova as diretrizes responsáveis para avaliar a segurança dos alimentos; a resolução de nº 18 aprova as diretrizes referentes às análises e a comprovação de suas propriedades

funcionais tomando por base a rotulagem de cada alimento e a resolução de nº 19 aprova os procedimentos para o registro final dos alimentos funcionais (Brasil, 1999a; Brasil, 1999b; Brasil, 1999c).

Com a mudança nos padrões alimentares, gera possibilidades de melhorias no consumo de produtos naturais que sejam saudáveis, nutritivos e que ajudem a reduzir o risco de DCNT. A eficácia favorável é concedida basicamente aos alimentos *in natura*, por serem ricos em antioxidantes, devido ao seu alto teor de compostos fenólicos como carotenoides, flavonoides, taninos e outros fitoquímicos. Exemplo destes produtos são frutas, legumes e plantas medicinais (FERNÁNDEZ HERRERA, 2018).

O aproveitamento de suco de frutas e outros produtos vegetais, vem ganhando espaço cada vez maior no ramo alimentício, intencionando substituições de produtos que contenham lactose, alergênicos e supostamente potencializando a presença de nutrientes funcionais (BORGES, 2021).

O consumo de bebidas funcionais pode reduzir o risco de DCNT, devido aos seus benefícios para a saúde humana (SOUZA et al., 2020). Este fato motiva o desenvolvimento de bebidas ricas em compostos bioativos, com qualidade sensorial, por exemplo, sucos mistos (CARVALHO et al., 2017).

Os sucos mistos cumprem esse nicho de mercado, pois possuem a vantagem do aprimoramento nutricional, com complementação de nutrientes e desenvolvimento de novos sabores (CARVALHO et al., 2017). Esses sucos contêm grupos de compostos que beneficiam a saúde humana, como fenólicos, carotenoides, terpenos, vitaminas e minerais (AlJAhANI; ChEIKhOUSMAN, 2017; SOUZA et al., 2020; ANTUNES et al., 2013).

As bebidas funcionais são aquelas que oferecem benefícios para a saúde e o autocuidado e podem ser naturais como o chá (contém antioxidantes naturalmente) ou podem ser adicionados ao alimento como ômega3, proteínas isoladas da soja, fibras, prébióticos, probióticos, polifenóis, vitaminas e minerais (FERNÁNDEZ HERRERA, 2018).

A inclusão de ingredientes funcionais em um formato de bebida oferece aos consumidores uma forma conveniente para atender necessidades específicas de saúde (Yu, 2013).

3.5 KOMBUCHA

A Kombucha é uma bebida asiática milenar fermentada com o auxílio de uma cultura de bactérias e leveduras selvagens (mãe do Kombucha ou *SCOBY* como é chamada coloquialmente) proveniente de um chá ou uma infusão geralmente preparada com *Camellia sinensis*, podendo ser saborizada com frutas e especiarias. De origem chinesa, há mais de 2 mil anos é utilizada na conservação de chás, bem como para transformar todo mosto doce em vinagre, dependendo do direcionamento da fermentação (CARVALHES; ANDRADE, 2020).

De acordo com a legislação brasileira, Kombucha é uma bebida fermentada obtida por fermentação aeróbia e anaeróbia do mosto, obtida pela infusão ou extrato de *Camellia sinensis*, e açúcares por uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras microbiologicamente ativas (BRASIL, 2019).

A fermentação do chá é o processo de uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras instaladas em um filme celulósico. Este sistema simbiótico produz uma película flutuante de celulose que se forma concomitante com a fermentação, denominado *SCOBY* (cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras), também conhecido como fungo do chá ou mãe do Kombucha (DE FILIPPIS et al., 2018; CHAKRAVORTY et al., 2016; SANTOS, 2016). Este biofilme é produzido pelas bactérias e protege uma comunidade microbiana dentro dele (MARSH, 2014).

As características de sabor e aroma do Kombucha são doces, ligeiramente ácidas e naturalmente espumantes (JAYABALAN et al., 2011; JAYABALAN, et al., 2014). A composição do substrato utilizado na preparação do Kombucha, como, chá preto ou verde, pode fornecer algumas substâncias biologicamente ativas, incluindo polifenóis, flavonoides e ácidos fenólicos. Essas substâncias são reconhecidamente antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias e anticancerígenas (BANERJEE et al., 2010; BHATTACHARYA et al., 2016; JAYABALAN et al., 2011, 2014; SREEAMULU, ZHUN; KANOL, 2000).

Estudos relataram que a fermentação desempenha um papel fundamental na produção de compostos bioativos. A cultura inicial usada para a fermentação do Kombucha apresenta uma considerável variação em razão da composição do substrato, parâmetros ambientais e localização geográfica (JAYABALAN et al., 2014; DE FILIPPIS et al., 2018).

No processo fermentativo, enquanto as leveduras osmofílicas fermentam o açúcar do chá e produzem etanol, as bactérias oxidam o álcool e produzem ácido acético (TEOH et al., 2004). Adicionalmente, são formados outros ácidos orgânicos além do ácido acético, como glucônico, láctico, málico, cítrico e tartárico, que têm atividade antibacteriana e evitam a contaminação do Kombucha por bactérias patogênicas (COELHO, 2020).

O chá de Kombucha é considerado um reservatório de microrganismos especializados que estão alternando rapidamente em termos de composição quantitativa e qualitativa (LA CHINA et al., 2021). Seu crescimento se dá em sucessivas camadas horizontais e a nova cultura ficará sempre no topo do pote de fermentação, podendo ou não se confundir com a cultura principal. O *SCOBY* se desenvolve melhor em meio ácido para sobreviver, utiliza-se de tanino, sacarose, frutose, cafeína, para a obtenção de energia. (CARVALHES; ANDRADE, 2020).

Este microbioma, compõe-se de diversos gêneros de bactérias do ácido acético, leveduras e em menor escala, bactérias do ácido láctico (COTON et al. 2017; MARSH et al. 2014). Pesquisas distintas evidenciaram *Komagataeibacter*, *Acetobacter* e *Glucanobacter* como os principais gêneros de bactérias, *Brettanomyces* e *Zygosaccaromyces* como as principais leveduras (VILLARREAL-SOTO et al. 2019). May et al., (2019), em sua revisão faz uma comparação entre estudos, pontuando numerosas espécies em diversas culturas de Kombucha como *Komagataeibacter xylinus*, *komagataeibacter intermedius*, *komagataeibacter rhaeticus*, *komagataeibacter saccharivorans*, *Komagataeibacter kombuchae*. Há uma grande variação entre as espécies de leveduras dentro do sistema e esta modificação de diversidade do perfil microbiano é relativa à sua origem geográfica.

A fermentação do Kombucha apresenta uma complexidade considerável, que ainda não foi totalmente compreendida devido à vasta diversidade de microrganismos envolvidos e suas interações simbióticas (COELHO, 2020). Villarreal-Soto (2018) afirma que independentemente das bactérias e leveduras acéticas já possuírem a sua função definida na fermentação do Kombucha, as interações de muitos microrganismos são desconhecidas.

De acordo com Coelho (2020), a composição química do Kombucha é dependente de múltiplos fatores como tempo de fermentação, temperatura, substratos usados no chá inicial e microrganismos presentes no inóculo. Porém, diferentes

estudos declaram a presença de diversos componentes, como ácidos orgânicos, vitaminas, polifenóis e aminoácidos confirmados na maioria da fermentação final.

Este potencial de bebida funcional e seus benefícios, faz com que o Kombucha ganhe bastante relevância e o seu consumo aumente. Ficando visível este movimento no mercado de bebidas funcionais, o Brasil destaca-se ao ser o primeiro país do mundo com uma legislação específica para o Kombucha (SUHRE, 2020). Determinando padrões de identidade e qualidade em todo o território nacional por meio da Instrução Normativa nº 41, de 17 de setembro de 2019, instituída pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Esta legislação integra uma identificação, classificação, rotulagem, parâmetros analíticos, composição (ingredientes obrigatórios e opcionais) e proibições relacionadas à produção de Kombucha e comercialização (BRASIL, 2019).

Com o crescimento das bebidas fermentadas visando melhorar a saúde, esta pesquisa conduziu uma avaliação na produção de kombucha a partir de dois SCOBYs (comercial e artesanal), saborizados com três frutas brasileiras: juçara, jabuticaba e grumixama. O objetivo foi comparar os efeitos resultantes das bebidas fermentadas de cada SCOBY, observando características nutricionais e qualidade sensorial de cada uma delas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Foram utilizadas as folhas de chá verde da *Camellia sinensis* produzido por YAMAMOTOYAMA® (Brasil) adquirido em uma loja de produtos naturais localizada na cidade de Londrina-PR, Brasil. O açúcar utilizado foi o demerara orgânico produzido por Native® (Brasil) adquirido no comércio local na cidade de Londrina-PR.

O *SCOBY* comercial (SKA) foi obtido através do site de compras ciadosfermentados.com.br/collections/scoby-de-kombucha e o artesanal (SCF) através de doação local. Os frutos utilizados nas bebidas, foram produzidos entre as safras de dezembro de 2022 a fevereiro de 2023. A juçara (*Euterpe edulis*) e a jubuticaba (*Myrciaria cauliflora*) foram obtidas na forma de polpas, sendo da empresa Estrela Guia Produtos Naturais (Morretes, Paraná, Brasil 25°31'25.9"S 48°48'28.1"W) e da empresa Bicudo Alimentos Congelados (São Paulo - SP, Brasil 23°32'15.3"S 46°44'04.5"W), respectivamente. Os frutos da grumixama (*Eugenia brasiliense*) foram obtidos do sítio de agroecologia *English Camp* imersão e acampamento (Itapetininga, São Paulo, Brasil 23°29'44.8"S 47°56'56.4"W) transportados diretamente ao laboratório e foram refrigeradas até o preparo de sua polpa.

Os reagentes utilizados para as análises laboratoriais foram de grau analítico e obtidos da empresa *Sigma-Aldrich* (Darmstadt, Alemanha).

4.1.1 Preparo das polpas

As frutas de grumixama, foram primeiramente selecionadas de acordo com sua cor roxa atraente, uniformidade, sabor e aroma característicos, figura 4a. Em seguida, realizou-se uma pré-lavagem com água, para retirar as sujidades, seguido de imersão em água clorada por 30 minutos em uma concentração de 200 mg/kg de cloro, seguido de enxágue. Para o processo de despulpamento da grumixama, a polpa foi manualmente extraída das sementes e posteriormente processada em uma centrífuga de alimentos juntamente com a casca. (Britânia *juicer* 700). O acondicionamento ocorreu manualmente em sacos plástico de polietileno com capacidade 100 mL, sendo fechado a vácuo com o auxílio de uma seladora industrial

(SVC 300 G, *Sulpack*®, BR), e posteriormente foi levado para o congelamento a -18° C (DA MATTA, VIRGÍNIA MARTINS et al, 2005).

Para a produção da kombucha, as polpas foram combinadas em uma proporção de 30 % de juçara, 30 % de jabuticaba, 30 % de grumixama e 10 % de água, figura 5b, resultando em uma polpa única denominada polpa mista (PFV- figura 5c). Estas concentrações de polpa foram escolhidas baseadas em testes preliminares, levando em consideração características sensoriais como cor, sabor e aroma. Em seguida, a mistura foi pasteurizada em banho-maria a 80° C por 1 minuto e resfriada imediatamente em banho de gelo (GUERGOLETTTO et al, 2016). Foram retiradas amostras das polpas análises físico-químicas e antioxidantes. A polpa foi identificada e armazenada em congelador à -18° C para caracterização e uso.

Figura 5: Etapa de produção de polpa de frutas. a) Grumixama; b) Polpa das frutas separadas; c) Polpa mista.

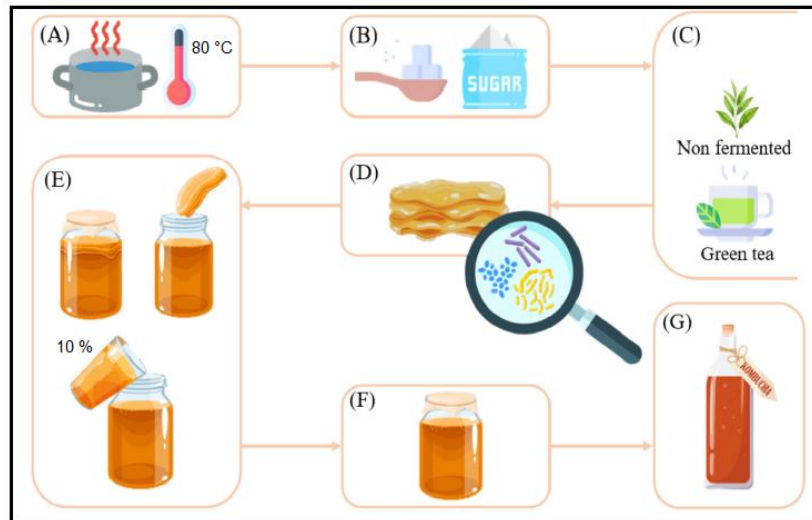


Fonte: Do autor, 2023.

4.1.2 Preparo do Kombucha

A bebida foi preparada de acordo com Jayabalan et al, (2014), seguindo o fluxograma da Figura 6. As etapas foram subdivididas em primeira fermentação (item 4.1.2.1), saborização (item 4.1.2.2), segunda fermentação e envase (item 4.1.2.3).

Figura 6: Fluxograma do preparo do Kombucha.

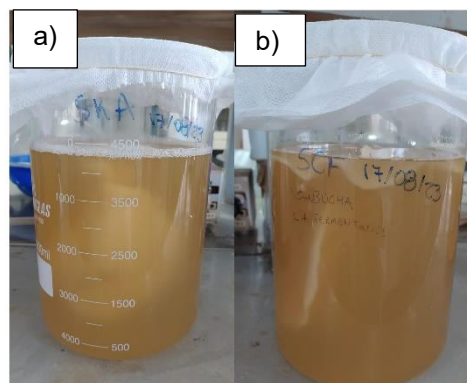


Fonte: DA SILVA JÚNIOR et al., 2022

4.1.2.1 Primeira Fermentação

Para a primeira fermentação foram preparados, 1 L da infusão de chá verde (*C. Sinensis*) com 5 % de açúcar, resfriado à 20° C, adicionado de 10 % (v/v) do *STARTER* (kombucha da fermentação anterior) em relação ao chá (JAYABALAN et al, 2014), e 2,5 % (p/v) de SCOBY (Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras), de um lote previamente fermentado. O chá foi fermentado por 7 dias sob a temperatura de 25 °C. Nesta etapa de fermentação foram avaliados 2 tipos de SCOBY distintos, comercial (SCF) e o artesanal (SKA). Após a primeira fermentação, foi realizado o procedimento de filtração, utilizando um filtro de papel para retirada dos resíduos, melhorando suas características visuais.

Figura 7: Kombucha 1ª fermentação. a) SKA; b) SCF.



Fonte: Do autor, 2023.

4.1.2.2 Saborização

A saborização e aromatização do chá fermentado (*C. Sinensis*) foi realizada pela adição da polpa. O chá foi transferido para um recipiente de vidro esterilizado e foi adicionado a polpa mista na concentração de 10 % (p/v) em relação ao volume do produto final. O recipiente foi hermeticamente fechado e levado para refrigeração a 10° C, por 24 h (CARVALHAES; ANDRADE, 2020).

4.1.2.3 Segunda Fermentação

A kombucha saborizado foi separado em garrafas pet sanitizadas de 330 mL, para realização do envase e carbonatação natural deixando uma área livre na medida de 15 % do volume total da bebida. A segunda fermentação ocorreu naturalmente na garrafa, por mais 7 dias em temperatura controlada (25 °C), obtendo o produto final SCF e SKA. Depois desse período, a bebida foi armazenada em temperatura refrigerada (5 °C) (CARVALHAES; ANDRADE, 2020).

Figura 8: Kombucha 2ª fermentação. a) SKA; b) SCF.



Fonte: Do autor, 2023.

4.1.3 Caracterização da polpa mista

A polpa mista foi caracterizada quanto para cor utilizando colorímetro digital CIELAB* (CR400, Konica Minolta®, JP), coletando os dados de L*, a* e b*. Em termos de composição centesimal foram analisadas teor de proteína por *Kjeldahl*, lipídeos por

Blight Dyer (1959), umidade, cinzas, fibras solúvel e insolúvel, acidez titulável total, sólidos solúveis (°Brix), e carboidrato por diferença, conforme Instituto Adolfo Lutz (2008).

4.1.4 Análises Físico-químicas da kombucha

Já para o kombucha, as alíquotas dos dois *SCOBYS* foram coletadas entre o tempo 0 a 7 dias e após 14 dias de fermentação, totalizando 6 amostras. Nestas foram analisadas pH, por pHmetro com eletrodo (FP20, Mettler Toledo®, EUA) (AOAC, 2007), acidez titulável, por titulação com NaOH 0,1 N e o teor de sólidos solúveis (°Brix) em refratômetro digital portátil (PAL-BX/RI, Atago®, JP) (IAL, 2008). Já para a análise de cor foram analisadas amostras nos tempos 0, 7 e 14 dias de fermentação utilizando colorímetro digital CIELAB*(CR400, Konica Minolta®, JP), coletando os dados de L*, a* e b*.

4.1.5 Análise Microbiológica

A contagem de bactérias e leveduras totais da Kombucha foi realizada após primeira fermentação e segunda fermentação, utilizando o método de contagem de placas (SIEVERS et al, 1995; CVETKOVIĆ, DRAGOLJUB et al, 2008). Para as leveduras foi utilizado o meio Ágar Batata Dextrose Acidificado (*PDA-AC*) com adição de 1 mL/L de ácido tartárico 10 % (v/v), seguido de incubação por 72 horas a 25° C. Para contagem total de bactérias de ácido acético (BAA) utilizou-se o meio ágar MYP (25 g/L manitol, 5 g/L de extrato de levedura e 3 g/L de peptona) contendo uma dupla camada de ágar manitol extrato de levedura peptona (MYP) (adição de uma camada de 0,5 % de ágar e uma camada de 1,0 % de ágar) e incubação de 72 horas a 30° C (ENTANI et al.,1985). Para as bactérias ácido lácticas totais (BAL) realizou-se a metodologia descrita por Silva *et al.*, (2007) pelo plaqueamento em profundidade em ágar MRS (*Man, Rogosa & Sharpe*), seguido de incubação por 48 horas a 37° C.

4.1.6 Compostos fenólicos e Atividade antioxidante

A determinação de compostos fenólicos e atividade antioxidante foram realizadas na polpa mista e nos kombuchas com 0, 7 e 14 dias de fermentação, para ambos os *SCOBYS*.

4.1.6.1 Método de extração

Para as determinações de composto fenólicos e atividade antioxidante na polpa mista, foi necessária a realização de uma extração prévia dos compostos. Para isso, realizou-se a metodologia descrita por Larrauri et al. (1997). Pesou-se 1 g de amostra em um béquer de 100 mL, e, em seguida, foi adicionado 40 mL de metanol 50 %, homogeneizou-se e deixou em repouso por 60 min à temperatura ambiente (25° C). Em seguida, foi realizada a centrifugação a 11.000 rpm durante 15 min e o sobrenadante foi transferido para um balão volumétrico de 100 mL. A partir do resíduo da primeira extração, adicionou-se 40 mL de acetona 70 %, homogeneizou e deixou em repouso por 60 min à temperatura ambiente (25 °C). Novamente a amostra foi centrifugada a 11000 rpm durante 15 min, e o sobrenadante foi para o mesmo balão volumétrico contendo a primeira etapa e foi completado com água destilada até 100 mL.

Para as amostras das bebidas durante e após a fermentação (dias 0, 7 e 14 dias) não foi preparado extrato, por já se encontrarem na forma líquida.

4.1.6.2 Fenólicos totais

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi conduzida por meio do método colorimétrico de *Folin-Ciocalteu*, seguindo as orientações de *Kumazawa et al.*, (2002) e *Singleton, Orthofer e Lamuela-Reventos* (1999), adaptado por Casagrande (2014). Utilizou-se a curva padrão de ácido gálico (2,5 – 125 mg) como referência, as leituras foram realizadas a 760 nm em espectrofotômetro (LIBRA S22, Biochrom®, UK) e o teor de compostos fenólicos totais foi expresso em mg EAG 100 g⁻¹ ou mL⁻¹.

4.1.6.3 Determinação da capacidade doadora de átomos de hidrogênio ao radical 2,2-difenil-1-picrihidrazil (DPPH)

A metodologia utilizada segue o protocolo proposto por Denis, Madeira e Almeida (1994), com adaptações de Handa et al. (2015). Neste método, a capacidade antioxidante foi avaliada pela habilidade dos compostos fenólicos em doar hidrogênio e estabilizar o radical livre DPPH, resultando em uma redução de cor. Essa redução

de cor foi mensurada em um espectrofotômetro (LIBRA S22, Biochrom®, UK) a 517 nm e a atividade antioxidante dos extratos foi expressa em $\mu\text{mol ET } 100 \text{ g}^{-1}$ ou mL^{-1} , utilizando uma curva padrão de Trolox (0 – 0,05 μmol).

4.1.6.4 Capacidade sequestradora do radical 2,2' azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácidosulfônico) (ABTS+)

A determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS+ seguiu a metodologia descrita por Re et al. (1996), com adaptações conforme Handa et al. (2015). Inicialmente, uma solução estoque do reagente ABTS+ foi preparada a 7 mmol/L em persulfato de potássio a 2,25 mmol/L em água destilada, sendo armazenada protegida da luz a 25 °C por 16 horas. Em seguida, essa solução foi diluída em tampão fosfato a 20 mmol/L (pH 7,4) até alcançar a absorbância de $0,700 \pm 0,020$ a 730 nm. Posteriormente, em um tubo de ensaio, foram adicionados 15 μL de extrato (amostra) ou padrão Trolox, juntamente com 4 mL da solução ABTS+ diluída. Essas misturas foram mantidas protegidas da luz por 6 minutos e avaliadas em espectrofotômetro (LIBRA S22, Biochrom®, UK) a 730 nm. As atividades foram expressas em $\mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1}$ ou mL^{-1} utilizando uma curva padrão de Trolox (0,004 – 0,01125 μmol).

4.1.6.5 Determinação de antocianinas e flavonoides

Para as antocianinas e flavonoides, foi utilizado a metodologia descrita por Francis (1982). Adicionou-se aproximadamente 30 mL da solução de etanol-HCl (1,5 M) em 1 g da polpa mista ou 1 mL das bebidas fermentadas, e homogeneizou em um agitador mecânico por 2 minutos na rotação aproximada de 7000 rpm. Em seguida, o conteúdo foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL (sem filtrar), envolto em papel de alumínio, completando-se para o volume final com a solução etanol-HCl (1,5 M). A solução, ficou descansando na geladeira overnight. O material foi filtrado para um béquer, mantendo-o sempre envolto em papel alumínio. Para a antocianinas, realizou-se a leitura da absorbância no espectrofotômetro (LIBRA S22, Biochrom®, UK) a um comprimento de onda de 535 nm e para os flavonoides 374 nm. Foi utilizada a solução de etanol-HCl (1,5 M) como branco para ambas leituras e o resultado foi expresso em $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ou mL^{-1} .

4.1.6.6 Carotenoides totais

Para os Carotenoides totais, foi utilizado a metodologia descrita por LICHTENTHALER e BUSCHMANN (2001). Pesou-se 2 g da polpa mista ou 2 mL das bebidas e adicionou-se aproximadamente 18 mL de acetona 100 % e homogeneizou em um agitador mecânico por 30 seg na rotação aproximada de 7.000 rpm. Em seguida, o conteúdo foi transferido para tubos de ensaio envoltos de papel alumínio. O material foi filtrado para um béquer, mantendo-o sempre envolto em papel alumínio. Em seguida, realizou-se a leitura da absorvância no espectrofotômetro a um comprimento de onda de 661 nm para clorofila A, 664 nm para clorofila B e 470nm para os cálculos dos carotenoides. O branco consiste em acetona 100% e o resultado foi expresso em $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ou mL^{-1} .

4.1.7 Microscopia Eletrônica de Varredura

Para avaliar a microestrutura dos SCOBYS foi realizada a análise de microscopia eletrônica de varredura conforme Nishio et al. (2016) e Domingos et al. (2021), adaptado. Os SCOBYS SCF e SKA passaram por um procedimento de fixação em solução de 2,5% de glutaraldeído e tampão cacodilato de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2), incubados por 20 h a $4 \text{ }^\circ\text{C}$. As amostras fixadas foram desidratadas em um gradiente de etanol (30, 50, 60, 70, 80, 90 e $100 \text{ }^\circ\text{GL}$), em seguida, houve a secagem em ponto crítico com CO_2 (BalTec CPD 030, Secador de Ponto Crítico CPD 030, Bal-Tec Union Ltd., Liechtenstein). Após a secagem, os SCOBYS foram fixados em suportes e revestidos com ouro usando um *coater* de *sputter* (BalTec SDC 050, Revestidor de Sputter SDC 050, Bal-Tec Union Ltd., Liechtenstein). As imagens foram adquiridas usando um Microscópio Eletrônico de Varredura (FEI Quanta 200) em 5.000 e 10.000 vezes.

4.1.8 Teor alcoólico por picnometria

A determinação do teor alcoólico foi realizada por meio do cálculo da densidade relativa, considerando a medição de massa com o picnômetro de 25 mL ao término da fermentação. O cálculo a seguir foi empregado para encontrar a densidade relativa (IAL, 2008).

$$\frac{M_{am} - M_p}{M_{H2O} - M_p} = \text{densidade relativa } 20^\circ C$$

m_{am} = massa do picnômetro com a amostra

m_p = massa do picnômetro vazio

m_{H2O} = massa do picnômetro com a água

O resultado foi expresso em g L⁻¹.

4.1.9 Avaliação sensorial

O estudo foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos nº 6.103.647 CEP-UEL (Anexo 1). Os testes foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimento (UEL), com participantes acadêmicos e funcionários da Universidade. Os critérios de exclusão foram menores de 18 anos de idade e pessoas com alergias a algum ingrediente do produto ou com sistema sensorial comprometido e, os critérios de inclusão, foram os maiores de 18 anos, que aceitaram participar voluntariamente da pesquisa e que não apresentem nenhuma restrição alimentar ou sensorial relativa ao consumo do produto.

Os participantes avaliaram 2 bebidas fermentadas (kombucha) saborizadas com a polpa mista. Para isso, os participantes receberam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO 1) em que foram orientados sobre a livre participação na pesquisa, os benefícios e riscos associados à sua participação e um questionário sobre as informações pessoais do participante (ANEXO 2). Após o Consentimento, foi aplicado o Teste Triangular com 50 participantes não treinados para verificar se há diferença entre os kombuchas produzidos, utilizando o modelo de Ficha de Avaliação conforme (ANEXO 3). Os dados foram analisados com base no número de respostas corretas, com o objetivo de identificar possíveis diferenças significativas. Utilizamos o número de respostas corretas conforme (ANEXO 5) como referência. Quando o número de respostas corretas atingiu ou superou o valor estabelecido na tabela, concluímos que havia diferença significativa.

Previamente à realização da análise sensorial, as amostras foram submetidas à análise microbiológica para os patógenos *E. coli* (*Escherichia coli*), *Salmonella* spp., conforme a resolução RDC nº 724/2022, arts. 3º, incisos VII, VIII e XII, I.N. Anvisa nº

161/2022, art. 3º, inciso I, e Anexo I, item 12, alíneas “e” e “f”, e I.N. Mapa nº 75/2019, art. 2º.

A avaliação da aceitação global das bebidas, realizou-se através do Teste de Aceitação com 102 participantes não treinados, podendo ser os mesmos do Teste Triangular. Uma escala hedônica de 9 pontos foi, onde o valor 1 representa "desgostei muitíssimo" e o valor 9 representa "gostei muitíssimo", respectivamente (ANEXO 5). Também foi julgada a intenção de compra dos participantes diante das amostras apresentadas, com escala de 5 pontos (certamente compraria (1), provavelmente compraria (2), talvez compraria/talvez não compraria (3), provavelmente não compraria (4) e certamente não compraria (5), conforme ANEXO 4. A partir dos resultados, aplicou-se análise de variância (ANOVA), sendo $p < 0,05$, e calculados os índices de aceitação pelo programa *Statistica*, versão 7.0 (*Statsoft.*, 2004).

Os testes sensoriais foram realizados em dias diferentes e para ambos testes, as amostras foram servidas na quantidade de 30 mL de cada amostra, em copos plásticos descartáveis codificados com três algarismos aleatorizados, com temperatura do Kombucha em torno de 5-7°C, acompanhados de água para limpeza do paladar entre as análises.

4.1.9 Análise Estatística

O processo de fabricação do Kombucha foi realizado pelo menos três (3) vezes para obtenção de réplicas verdadeiras e as análises foram realizadas em triplicatas. Os dados foram analisados com análise de variância (ANOVA), e *Tukey* à 5 % utilizando o software *Statistica*, versão 7.0 (*Statsoft*, 2004).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA da Polpa Mista de Frutas Vermelhas Nativas (PFV)

A composição físico-química da PFV), destinada a produção de kombucha, visa fornecer detalhadamente os componentes nutricionais, obtendo uma compreensão do potencial nutricional que essa adição pode ter na bebida fermentada final e os resultados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Composição centesimal da polpa mista de frutas contendo juçara, jabuticaba e grumixama (PFV).

Composição centesimal	Polpa de frutas vermelhas nativas
pH	3,6±0,01
Cor	
L*	24,40±0,28
a*	5,11±0,24
b*	-1,41±0,06
Acidez titulável (g de ácido cítrico/100g)	0,5±0,01
Sólidos solúveis(°Brix)	7,40±0,14
Umidade (%)	91,3±0,01
Cinzas (%)	0,34±0,01
Proteína (%)	0,20±0,01
Lipídeos (%)	0,20±0,01
Fibras solúveis (%)	0,8±0,01
Fibras Insolúveis (%)	2,2±0,01
Carboidratos (%)	4,96±0,01
Fenólicos totais (mg EAG 100 mL ⁻¹)	35,02±0,38
Antocianinas (mg 100 mL ⁻¹)	0,01659±0,38
Carotenoides (µg100 mL ⁻¹)	574,390± 6,06
Flavonóides (mg 100 mL ⁻¹)	0,037380± 0,01
ABTS+(mM eq trolox 100 mL ⁻¹)	1033,382± 5,13
DPPH° (mM eq trolox 100 mL ⁻¹)	705,71± 0,01

Os valores apresentados estão em base seca, exceto a umidade.

Os resultados apresentados na Tabela 1, demonstram a composição final da polpa, após a mistura de cada uma das frutas e água potável. Quando se observa as frutas individualmente, há variações decorrentes da mistura. Por exemplo, para o percentual de carboidratos, há uma diferença em relação aos valores obtidos para polpa mista em relação a grumixama, sendo 4,96% na PFV e 8,25% com polpa contendo 100% de grumixama (XU, KAWAI ET AL., 2020).

Em relação ao teor de fibras, é possível observar que a polpa mista foi maior do que na juçara (0,04%), além de na mista apresentar mais de 26% de fibras solúveis em relação a juçara (MARINHO, 2016).

O valor de °Brix foi reduzido por diluição tanto das polpas como de água na PFV, as polpas puras apresentam, 6,03 para grumixama, 2,03 para juçara e 15,6 para jabuticaba, o que era esperado, já que a mistura das polpas e adição de 10% de água, aumentaram a umidade e com isso a dispersão/solubilidade dos sólidos presentes (SILVA, et al., 2008; MARINHO, 2016 e XU, KAWAI ET AL., 2020).

5.2 AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA ANTES E DURANTE A FERMENTAÇÃO DO KOMBUCHA

A tabela 2 estão apresentados os resultados dos parâmetros para acompanhamento do processo de fermentação, pH, °Brix, acidez titulável e cor. Segundo pesquisa realizada por Leonarski et al. (2021) em processos fermentativos, o pH, °Brix e acidez são critérios essenciais para monitorar as diferentes fases de fermentação (início, meio e fim). Além disso, o pH por si só é um fator crucial para controlar o crescimento de microrganismos patogênicos, sendo recomendável mantê-lo abaixo de 4,2.

Ao analisar os produtos finais (tabela 2), observou-se que as amostras SCF e SKA apresentaram valores de pH de 3,21 e 3,17, respectivamente. Entretanto, ao longo dos dias de fermentação, as respostas aos fatores pH, °Brix e acidez titulável total seguiram um padrão esperado, onde segundo Da Silva Júnior, 2022 a variação da bebida está diretamente ligada aos ingredientes e suas proporções, incluindo sua microbiota. Bem como a variação dos parâmetros de fermentação levando em consideração o efeito do processo fermentativo. Os grupos microbianos observados consumiram os substratos (glicose e frutose) e sintetizaram ácidos orgânicos (LOPES, 2021).

Tabela 2: Valores de pH, °Brix, acidez titulável e cor antes e durante a fermentação dos kombuchas utilizando os SCOBYS comercial (SCF) e artesanal (SKA).

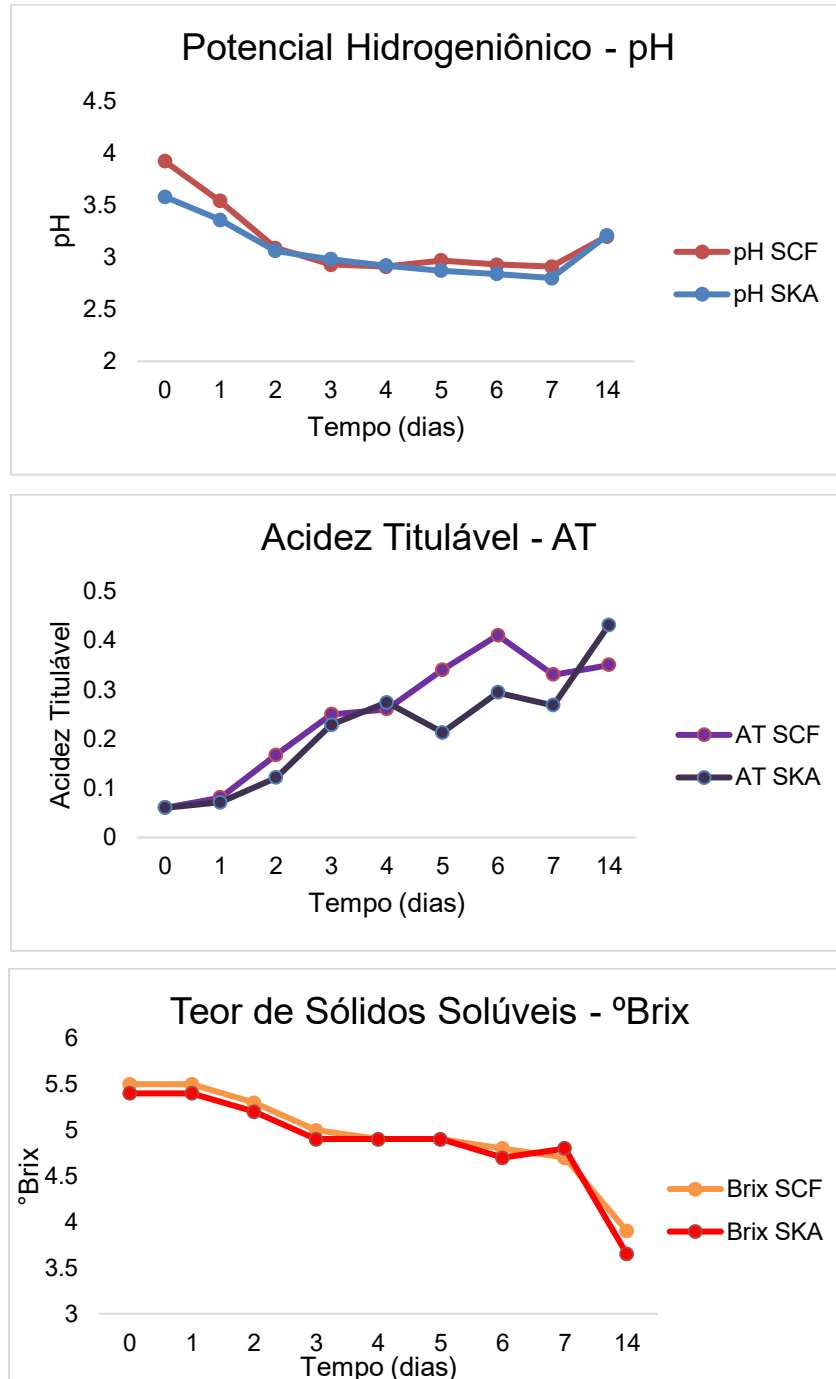
Amostras	Acidez titulável	pH	°Brix	L	Cor	
					A*	B*
PFV	0,532 ^A (± 0,01)	3,48 ^{A,B,C} (±0,03)	7,40 ^A (± 0,14)	24,40 ^D (±0,28)	5,11 ^C (± 0,24)	-1,41 ^E (± 0,06)
SCF0	0,061 ^{b,E} (± 0,000)	3,74 ^{a,A} (± 0,41)	5,47 ^{aB} (± 0,12)	48,38 ^{bB} (±0,09)	0,36 ^{bD} (±0,02)	7,13 ^{bB} (± 0,08)
SCF7	0,340 ^{a,C} (± 0,007)	2,95 ^{b,B,C} (±0,16)	4,73 ^{bC} (± 0,12)	56,98 ^{aA} (±0,01)	0,18 ^{bD} (±0,02)	8,02 ^{aA} (± 0,01)
SCF14	0,350 ^{a,C} (± 0,007)	3,21 ^{a,b,A,B,C} (± 0,09)	3,90 ^{cD} (± 0,00)	32,95 ^{cC} (±0,01)	9,23 ^{aA} (± 0,01)	0,56 ^{cC} (± 0,02)
SKA0	0,061 ^{c,E} (± 0,000)	3,52 ^{a,A} (± 0,29)	5,33 ^{aB} (± 0,09)	48,24 ^{bB} (±0,09)	0,33 ^{bD} (±0,01)	7,10 ^{bB} (± 0,04)
SKA7	0,269 ^{b,D} (± 0,007)	2,82 ^{b,C} (± 0,18)	4,73 ^{bC} (± 0,09)	57,24 ^{aA} (±0,01)	0,19 ^{bD} (±0,01)	8,06 ^{aA} (± 0,01)
SKA14	0,431 ^{a,B} (± 0,007)	3,17 ^{a,b,A,B,C} (± 0,05)	3,65 ^{cD} (± 0,21)	32,67 ^{cC} (±0,42)	6,96 ^{bB} (± 0,04)	-0,20 ^{cD} (±0,23)

^{a,b} letras minúsculas comparam os diferentes tempos de fermentação com o mesmo SCOBY.

^{A,B} letras maiúsculas comparam os diferentes SCOBYS. SCF- SCOBY Companhia dos Fermentados; SKA- SCOBY Artesanal; SCF0- SCOBY Companhia dos Fermentados tempos inicial da fermentação; SCF7- SCOBY Companhia dos Fermentados 7 dias de fermentação; SCF14- SCOBY Companhia dos Fermentados saborizado com mais 7 dias de fermentação; SKA0- SCOBY Artesanal tempo inicial da fermentação; SKA7- SCOBY Artesanal 7 dias de fermentação; SKA14- SCOBY Artesanal saborizado com mais 7 dias de fermentação.

Após a adição da polpa de fruta (pH 3,48 ± 0,03) em uma concentração de 10%, observou-se um aumento na escala dos gráficos da figura 4; no entanto, não foram registradas diferenças significativas entre o dia 7 e o produto final (14). Já em relação ao resultado em °Brix, quando a polpa é adicionada, observa-se uma redução em comparação com o sétimo dia de fermentação. Essa diminuição é notada durante a segunda etapa de fermentação, que ocorre quando o produto está envasado. Tal redução é atribuída ao consumo do açúcar disponível na polpa, como também evidenciado pelo aumento da acidez titulável (SILVA JÚNIOR et al., 2021).

Figura 9: Variação do pH, acidez titulável e teor de sólidos solúveis durante a fermentação do kombucha das amostras SCF (SCOBY Companhia dos Fermentados) e SKA (.SCOBY Artesanal) durante 14 dias de fermentação.



Fonte: Do autor, 2023.

A polpa mista (PFV) apresentou diferenças significativas em L^* , a^* e b^* em relação a todas as outras amostras, sendo facilmente notável sem análises estatísticas. Até o 7º dia de fermentação, os valores de L^* , a^* e b^* para ambas as bebidas foram semelhantes, como evidenciado na tabela 2. No entanto, a partir

desses valores, nota-se uma redução na luminosidade do kombucha, ou seja, tonando-se mais clara, acompanhado pela predominância de tonalidades amarelas e verdes em ambas as amostras.

Ao analisar a fermentação das kombuchas SCF e SKA ao longo do processo, com base no valor L^* , é possível observar diferenças significativas entre as amostras individualmente. Contudo, ao comparar as duas bebidas ao longo dos dias, não há diferenças significativas, apresentando um comportamento uniforme. No entanto, os produtos finais apresentaram diferenças significativas nos valores de a^* e b^* , sugerindo uma possível influência do pH nos grupos cromóforos dos compostos.

A coloração é um aspecto crucial a ser considerado devido à sua relação direta com a aparência e aceitabilidade do produto final. A redução dos valores de L^* , a^* e b^* era esperada devido à presença de pigmentos como carotenoides, antocianinas e flavonoides. Esses pigmentos sofrem alterações em decorrência das variações de pH durante a fermentação, sujeitos à degradação por enzimas associadas a bactérias e fungos presentes na bebida.

Os microrganismos que transformam fitoquímicos e outras fontes de nitrogênio contribuem para a redução da intensidade da cor durante o processo fermentativo. Este fenômeno ilustra a complexidade das interações microbiológicas e químicas que ocorrem durante a fermentação do kombucha, influenciando diretamente nas características visuais do produto final.

5.1.3 Teor alcóolico

O teor alcóolico das bebidas prontas foi avaliado por meio do método de picnometria, revelando uma notável disparidade entre as amostras SKA ($1,16 \pm 0,05$) e SCF ($0,56 \pm 0,07$), ultrapassando o limite regulamentar do Brasil de 0,5% (v/v) (BRASIL, 2019). Embora ambas as produções de kombucha sigam o mesmo processo de fabricação, a divergência nas concentrações de etanol é atribuída à composição microbiológica distinta de cada SCOBY (SUHRE, 2020).

A variação significativa na amostra SKA sugere uma complexa interação durante a simbiose no processo fermentativo, influenciando diretamente na produção de álcool (XIA et al., 2019). Durante o processo, as bactérias utilizam a glicose para gerar ácidos orgânicos, como ácido glucônico e ácido lático, enquanto metabolizam o

etanol em ácido acético (ETGETON, 2022). O acúmulo de ácido acético, por sua vez, estimula as leveduras a intensificarem a produção de etanol (CHEN; LIU, 2000; VILLARREAL-SOTO et al., 2018).

5.2 COMPOSTOS BIOATIVOS

Os teores de fenólicos totais, carotenoides, flavonoides e antioxidantes na polpa mista e durante a fermentação do kombucha estão apresentados na Tabela 3. Os resultados revelaram diferenças significativas entre as PFV, SCF e SKA. A presença desses compostos na composição nos alimentos é crucial, pois desempenham diversas funções na estabilidade do produto e na promoção da saúde humana, com ênfase em sua atividade antioxidante.

Tabela 3: Compostos bioativos e atividade antioxidante na polpa mista e durante a fermentação (0, 7 e 14 dias) dos kombuchas comercial e artesanal.

Amostra	Fenólicos totais (mg EAG 100 mL ⁻¹)	Antocianina (mg 100 mL ⁻¹)	Carotenoides (µg 100 mL ⁻¹)	Flavonóides (mg 100 mL ⁻¹)	ABTS+ (mM eq trolox 100 mL ⁻¹)	DPPH° (mM eq trolox 100 mL ⁻¹)
PFV	35,02 ^C (± 0,38)	0,016593 ^A (±0,01)	574,390 ^A (±6,06)	0,037380 ^A (±0,01)	1033,382 ^G (±5,13)	705,71 ^B (±0,00)
SCF0	53,72 ^{aB} (±0,59)	0,000331 ^{bB} (±0,01)	35,9331 ^{cE} (±4,02)	0,007980 ^{bBC} (±0,01)	2770,68 ^{aA} (±0,01)	880,41 ^{aA} (±1,85)
SCF7	24,40 ^{bD} (±0,23)	0,000700 ^{aB} (±0,01)	197,2380 ^{aB} (±5,81)	0,011537 ^{aB} (±0,01)	1599,41 ^{cE} (±15,39)	328,08 ^{cE} (±3,70)
SCF14	53,08 ^{aB} (±0,39)	0,000679 ^{aB} (± 0,01)	177,3164 ^{bC} (±11,82)	0,004671 ^{cD} (±0,01)	2248,18 ^{bB} (±51,31)	536,85 ^{bC} (±24,10)
SKA0	35,357 ^{bC} (±0,94)	0,000318 ^{bB} (±0,01)	23,1826 ^{bE} (±5,49)	0,003525 ^{cD} (±0,01)	1849,78 ^{aC} (±0,01)	410,70 ^{bD} (± 3,70)
SKA7	23,43 ^{cD} (±1,14)	0,000344 ^{bB} (±0,01)	37,7172 ^{bE} (±4,43)	0,010428 ^{bB} (±0,01)	1211,17 ^{cF} (±20,52)	360,21 ^{bDE} (±12,05)
SKA14	65,60 ^{aA} (±1,77)	0,001109 ^{aB} (± 0,01)	105,6134 ^{aD} (±10,90)	0,005882 ^{bCD} (±0,01)	1719,15 ^{aD} (±41,05)	576,18 ^{aC} (±27,81)

^{a,b} letras minúsculas comparam os diferentes tempos de fermentação com o mesmo SCOBY.

^{A,B} letras maiúsculas comparam os diferentes SCOBYs. SCF- SCOBY Companhia dos Fermentados; SKA- SCOBY Artesanal; SCF0- SCOBY Companhia dos Fermentados tempos inicial da fermentação; SCF7- SCOBY Companhia dos Fermentados 7 dias de fermentação; SCF14- SCOBY Companhia dos Fermentados saborizado com mais 7 dias de fermentação; SKA0- SCOBY Artesanal tempo inicial da

fermentação; SKA7- SCOBY Artesanal 7 dias de fermentação; SKA14- SCOBY Artesanal saborizado com mais 7 dias de fermentação.

A polpa de frutas(PFV) apresentou valores inferiores em comparação com polpas provenientes de uma única fruta, que apresentaram um teor de fenólicos de, 173,85 mg EAG 100 g⁻¹ para grumixama, 661,2 mg EAG 100 g⁻¹ para jabuticaba e 45,4 mg EAG 100 g⁻¹ para juçara, enquanto a polpa mista registrou 35,05 mg EAG 100 g⁻¹(RAMOS, 2020; BOESCO et al., 2020; GUERGOLETTTO et al., 2016). Essa disparidade pode ter ocorrido devido à interação e diluição com água de compostos entre as polpas ou a variáveis relacionadas ao armazenamento e transporte, uma vez que as polpas de jabuticaba e juçara utilizadas são comerciais, e a polpa mista foi preparada utilizando 30% de cada polpa.

Segundo Souza et al. (2020), o suchá de maçã e cardamomo apresentou teores semelhantes aos das amostras de polpa e kombucha, variando de 27,59 a 31,79 mg EAG 100 g⁻¹.

Ao analisar os valores da tabela 3, nota-se que a fermentação do dia 0 ao dia 7, ocasionou um decréscimo em todos os componentes. Essa redução pode ser justificada pela mudança de pH ocorrida na primeira etapa da fermentação, onde o pH inicial variou de 3,58 a 3,92, terminando no 7º dia de fermentação com valores entre 2,8 e 2,91. Vale ressaltar que, abaixo de 3,0, os flavonoides tornam-se neutros, podendo ocasionar uma redução na atividade antioxidante, considerando que os métodos utilizados levam em consideração a presença de cargas parciais positivas ou negativas (JOVANOVIC et al., 1996).

As amostras de kombucha apresentaram diferenças significativas entre si, com exceção no 7º dia, indicando uma influência da extração aquosa do chá verde e do processo de fermentação. A adição da polpa de fruta teve impacto direto nesses valores, contribuindo para o aumento, especialmente em comparação com o 7º dia de fermentação. A presença da polpa sugere que sua inserção foi benéfica para tornar os valores fenólicos totais, ABTS⁺ e DPPH° mais relevantes e melhorar as características da bebida final.

5.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

5.3.1 Contagem em placas de leveduras, BAA e BAL

Durante o processo de fermentação nos kombuchas pronto para consumo, é possível acompanhar a evolução microbiológica dos grupos e bactérias e leveduras, conforme a Tabela 4. A contagem das BAAs nas bebidas finais SCF e SKA foi de $3,42 \pm 0,40 \log \text{ UFC mL}^{-1}$ e $4,56 \pm 0,34 \log \text{ UFC mL}^{-1}$, respectivamente, revelando uma diferença significativa entre elas. Essa disparidade pode ter influenciado nas características sensoriais da bebida final, considerando as contagens de BAA na amostra SKA e a diversidade microbiológica que não é definida. A amostra SKA apresentou mais características sensoriais de sabor acético e acidez, o que é justificado pelos resultados de acidez titulável e pH, indicando uma maior produção de ácidos orgânicos provenientes do metabolismo bacteriano.

Tabela 4: Contagem de microrganismos nos Kombuchas produzidos com SCOBYs comercial (SKA) e doação (SCF) antes (0), durante (7) e após (FN) o processo fermentativo

Amostra	log UFC mL ⁻¹		
	Bactérias acéticas	Bactérias lácticas	Leveduras
SCF0	5,04 ^{aBC} (±0,04)	4,62 ^{cC} (±0,12)	4,21 ^{bCD} (±0,33)
SCF7	5,58 ^{aAB} (±0,40)	6,21 ^{aA} (±0,06)	5,19 ^{aB} (±0,25)
SCF14	3,42 ^{bD} (±0,40)	5,38 ^{bB} (±0,25)	4,85 ^{abBC} (±0,07)
SKA0	5,35 ^{bABC} (±0,11)	5,44 ^{aAB} (±0,20)	4,06 ^{bD} (±0,04)
SKA7	6,17 ^{aA} (±0,21)	5,33 ^{aABC} (±0,47)	6,43 ^{aA} (±0,07)
SKA14	4,56 ^{cC} (±0,34)	6,14 ^{aAB} (±0,20)	6,32 ^{aA} (±0,08)

^{a,b} letras minúsculas comparam os diferentes tempos de fermentação com o mesmo SCOBY.

^{A,B} letras maiúsculas comparam os diferentes SCOBYs. SCF- SCOBY Companhia dos Fermentados; SKA- SCOBY Artesanal.\

Para as Bactérias Ácido Lácticas (BAL), as contagens finais (14 dias) foram de $5,38 \pm 0,25 \log \text{ UFC mL}^{-1}$ e $6,14 \pm 0,20 \log \text{ UFC mL}^{-1}$, não revelando diferença significativa. Essa contagem é similar ao observado por Etgeton (2022), que obteve uma contagem inicial de $4,19 \log \text{ UFC mL}^{-1}$ e uma contagem final de $6,64 \log \text{ UFC mL}^{-1}$. As BAL desempenham um papel crucial no processo fermentativo, contribuindo para as características sensoriais e apresentando potencial probiótico. as bactérias acéticas oxidam o etanol e geram ácido acético, conferindo o sabor característico à kombucha. Além disso, essas bactérias também são responsáveis pela produção de celulose, vista como uma barreira física que protege o ambiente do processo fermentativo. As principais características observadas em bebidas como kombucha

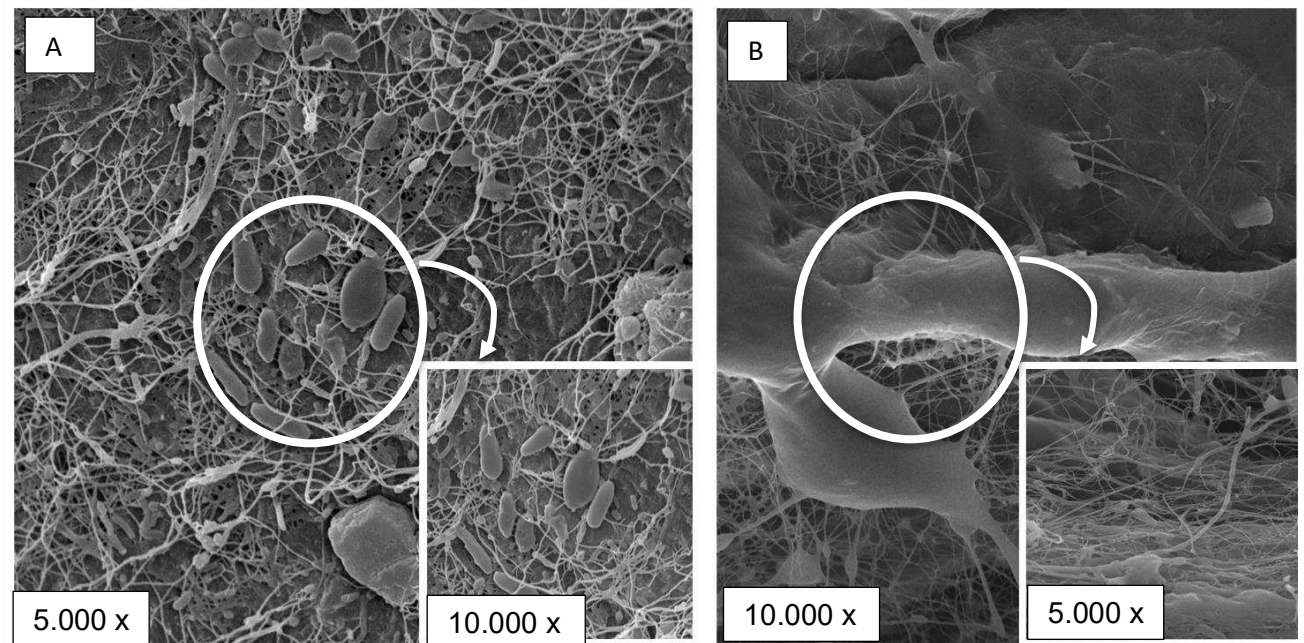
estão relacionadas à palatabilidade do produto, uma vez que o ácido láctico é mais aceito sensorialmente do que o ácido acético, devido a diferença de sabor e tolerância sensorial em contextos de fermentação (VARGAS; FABRICIO; AYUB, 2021).

A análise das leveduras revelou contagens de $4,85 \pm 0,07 \log \text{ UFC mL}^{-1}$ e $6,32 \pm 0,08 \log \text{ UFC mL}^{-1}$, destacando diferença significativa. A dinâmica ao longo do período de fermentação das leveduras nas amostras SCF e SKA demonstrou diferença a partir do sétimo dia de fermentação, atribuíveis à variação nos níveis de ácido acético e etanol. Esses resultados suscitam uma compreensão mais profunda da variação fermentativa, ressaltando a importância das leveduras não apenas na produção de compostos, como álcool, CO_2 e ácidos orgânicos, mas também na modulação do perfil de sabor do kombucha final. O comportamento distinto observado por Neffe-Skoncinska *et al.* (2017), com um aumento após o décimo dia de fermentação, destaca a complexidade e a diversidade desses microrganismos. No entanto, a dinâmica observada na SCF e SKA, com um aumento significativo já a partir do sétimo dia de fermentação, ressalta a importância dessas leveduras desde as fases iniciais do processo, impactando positivamente na qualidade do kombucha. Outro fator importante, considerando a relação simbiótica entre bactérias e leveduras nos SCOBYs é a produção de celulose. As leveduras presentes no kombucha realizam a hidrólise da sacarose através da produção de invertases, convertendo monossacarídeos que são fontes de carbono acessíveis aos microrganismos. Este processo resulta na produção de etanol e dióxido de carbono (LEONARSKI *et al.*, 2020; MAY *et al.* 2019).

5.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Os SCOBYs analisados em MEV (figura 8) foi coletado após os 7 dias de fermentação das bebidas. As imagens sugerem que é composto por um emaranhado de microfibrilas de celulose (70 a 80 %) e microcristais, formados a partir do consumo do substrato que ficam aderidos na estrutura do biofilme, sendo na sua grande maioria compostos secundário da fermentação. Além disso, o MEV sugere a presença de microrganismos na estrutura, observado pelas formas bacilos e esféricas de bactérias e leveduras, respectivamente (TAPIAS *et al.*, 2022).

Figura 10: Microscopia eletrônica de varredura dos SCOBYs (A) SCF (SCOBY Companhia dos Fermentados) e (B) SKA (SCOBY Artesanal) com aumentos de 5.000 e 10.000 vezes (detalhe):



Fonte: Do autor, 2023.

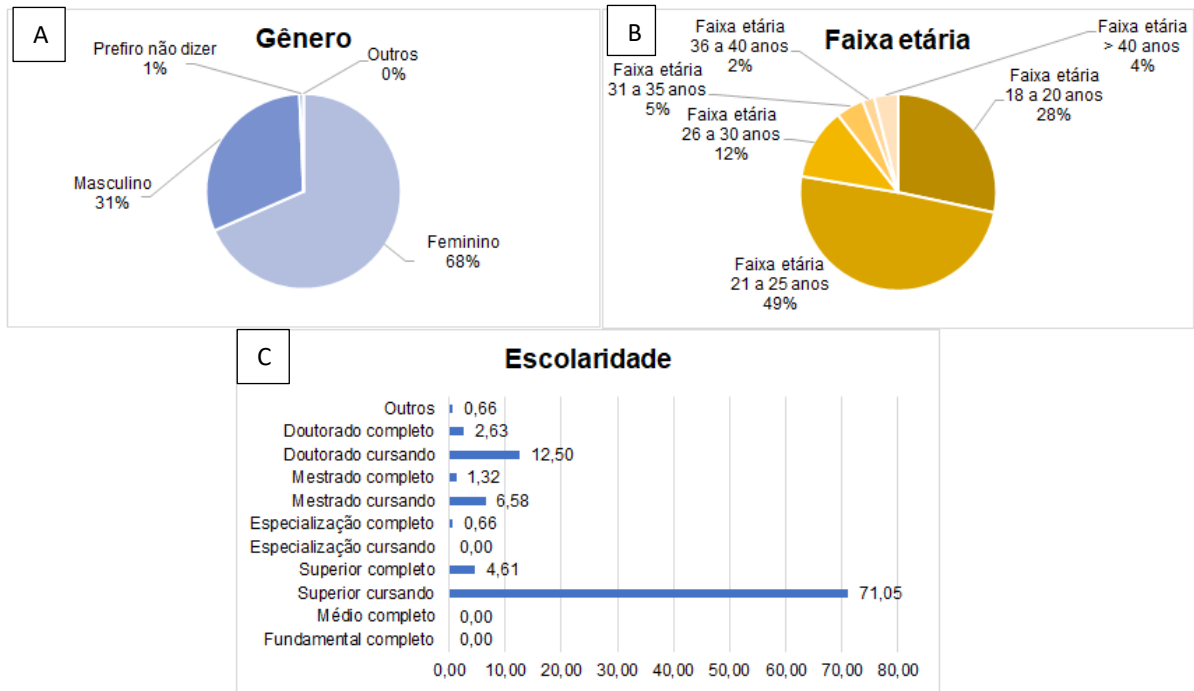
Nas imagens de MEV em 10.000 vezes é observado uma diferença entre os SCOBYs na organização da celulose. Na imagem A, a celulose está mais dispersa e com estrutura de teia, enquanto que na imagem B a celulose mantém esta mesma configuração, porém está mais compactada e densa. Isso pode ser explicado pela diferença na contagem de bactérias acéticas nas duas amostras, sabendo que são as responsáveis pela produção da celulose. Com o avanço do crescimento e produção da celulose a mesma tende a se aglutinar, o que aconteceu e é observado na imagem B, para o SKA, que teve maior contagem de BAA e formou uma estrutura mais densa e compacta (VILLARREAL-SOTO et al., 2020).

5.4 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial foi realizada com 50 avaliadores para o teste triangular e 102 avaliadores para a aceitação global e intenção de compra do produto. Do total de avaliadores, 69% (n=106) foram do sexo feminino, 30% (47) do sexo masculino e 1% (n=1) prefiro não dizer (figura 9). Com relação a faixa etária, a grande maioria (50%)

se enquadraram entre 21 a 25 anos, sendo a grande maioria estudantes que estavam cursando o ensino superior (71%) (figura 11).

Figura 11: Perfil dos avaliadores da análise sensorial.



Fonte: Do autor, 2023.

Em relação ao consumo de frutas vermelhas, 39,61 % dos avaliadores consomem eventualmente e a fruta mais conhecida entre eles, é a jabuticaba com 84 % (figura 10). Referente ao conhecimento da bebida, 51 % já ouviu falar do kombucha, porém 67% nunca consumiram, conforme evidências dos gráficos abaixo (figura 12).

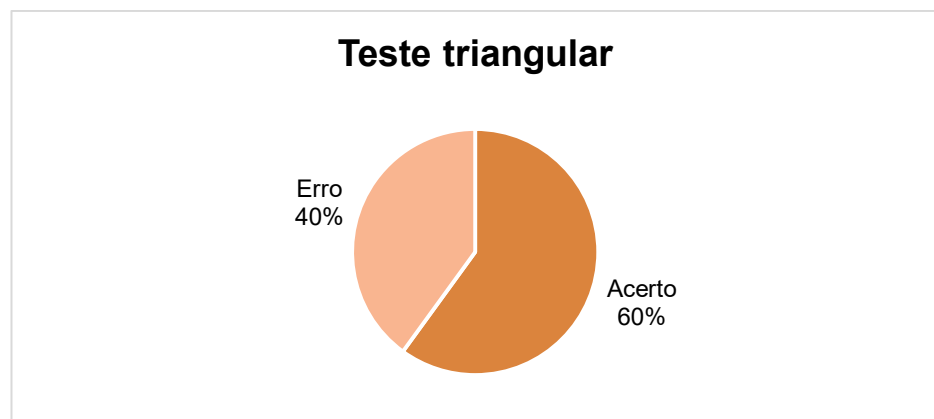
Figura 12: Consumo das frutas e bebida.



Fonte: Do autor, 2023.

O teste triangular foi aplicado para verificar se existe diferenças sensoriais entre os kombuchas produzidos com os SCOBYs, SCF e SKA. Quanto ao resultado é possível verificar que houve diferença significativa e a maioria dos avaliadores 60 % (n=30) conseguiram identificar qual era a amostra correta (figura 13). Levando em consideração o número mínimo de respostas corretas (25) com α de 0,01, β 0,10 e Pd 40 %, conclui-se que existe diferença sensorial significativa entre as amostras. Os avaliadores destacaram no teste que a diferença das amostras estava relacionada a intensidade do sabor que é caracterizada principalmente, pela acidez que foi palatável nas respectivas amostras, Esse resultado foi possível observar pelos comentários registrados nas fichas do teste triangular (ANEXO 3), onde 44%(n=22) colocaram observações, destas observações, 68%(n=15) referiram-se que conseguiram observar a diferença através da intensidade de acidez das amostras.

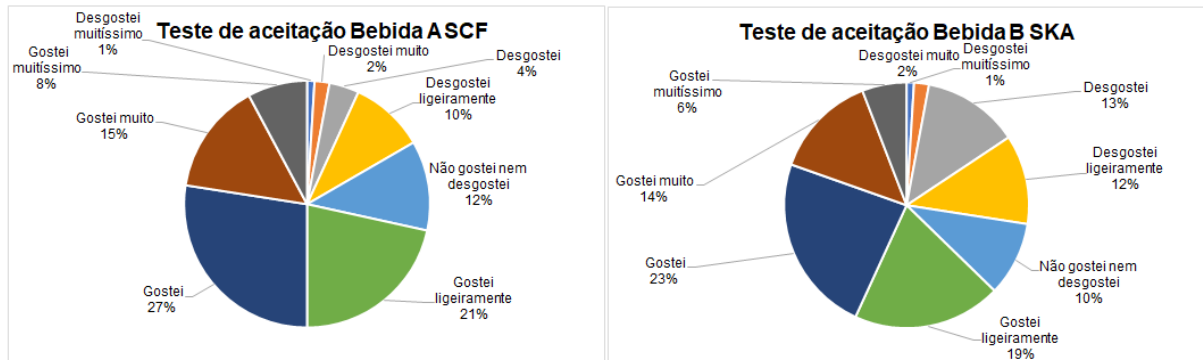
Figura 13: Gráfico do teste triangular.



Fonte: Do autor, 2023.

Com o objetivo de avaliar a aceitação das bebidas produzidas com os SCOBYs SCF e SKA, o teste de aceitação foi realizado para os atributos aceitação global e intenção de compra dos kombuchas. Nesta pesquisa, o teste de aceitação (figura 14) das kombuchas apresentaram notas médias de 5,77 para a SKA e 6,24 para a SCF, no qual não foi apresentada diferença significativa ($p > 0,05$) entre as amostras e sugerindo que os avaliadores gostaram ligeiramente dos kombuchas. Estes valores são considerados positivos na presente pesquisa, visto que existe uma certa resistência ao consumo de bebidas fermentadas tipo kombucha no Brasil, devido ao seu preço elevado e seu alto teor de acidez (FABRICIO *et al.*, 2022).

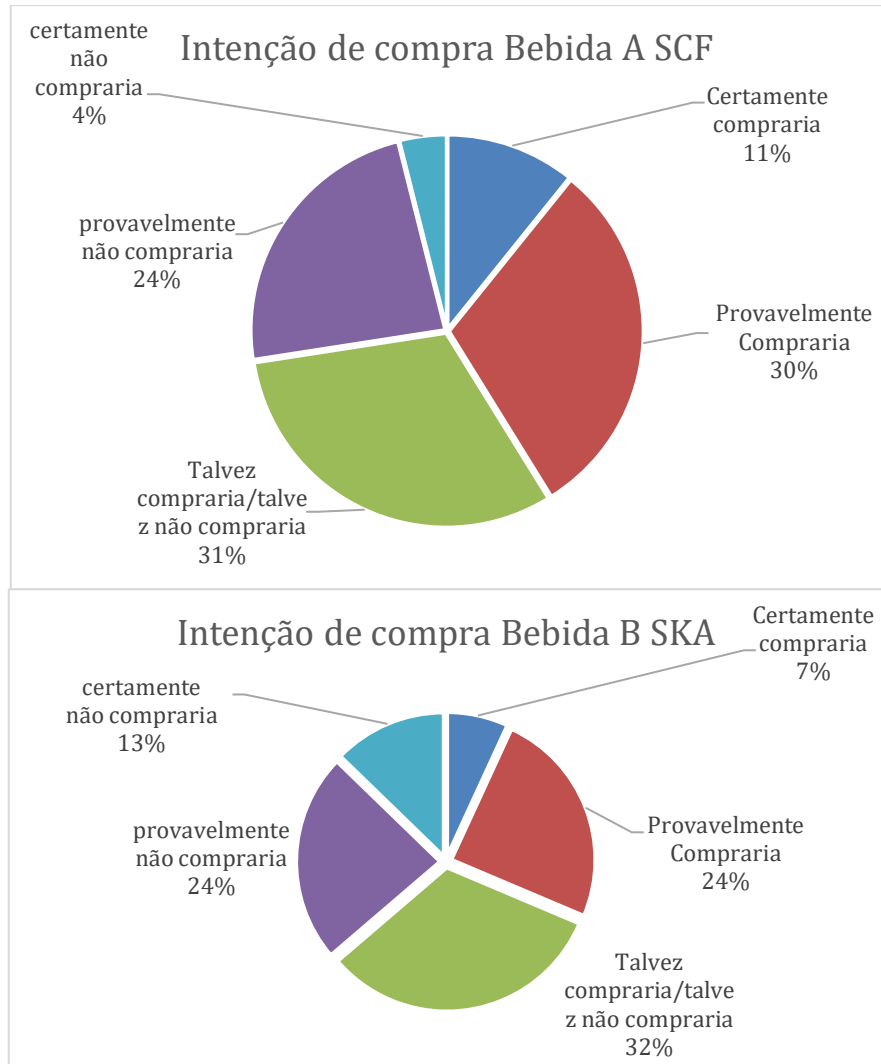
Figura 14: Teste de aceitação.



Fonte: Do autor, 2023.

Na avaliação da intenção de compra (figura 15) do produto, 32% (n=33) para o kombucha SKA e 31% (n=32) para o kombucha SCF responderam que talvez comprariam, talvez não comprariam onde não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre as amostras. Lembrando que 102 dos 152 avaliadores nunca tinham consumido kombucha anteriormente. Tsuru et al. (2021) alega em sua pesquisa que a interferência negativa de seus avaliadores está diretamente ligada a faixa etária (18-26 anos) onde os mesmos não estão acostumados a consumir produtos fermentados com características ácidas, considerando que seu palato ainda está em formação.

Figura 15: Gráficos de Intenção de compra das bebidas.



Fonte: Do autor, 2023.

6 CONCLUSÃO

A composição final da PFV varia significativamente dependendo da fruta utilizada e da proporção de água adicionada, revelando diferenças nos teores de nutrientes quando comparamos as frutas individualmente com a PFV, como carboidratos e fibras, trazendo informações essenciais para garantir a qualidade nutricional e as características sensoriais de um produto final desejado.

Ao acompanhar o processo de fermentação (pH, °Brix, acidez e cor) das amostras SCF e SKA, foi observado que não existe diferença significativa nos valores de pH apresentados no produto final, trazendo um controle desejado para evitar o crescimento de microrganismos patogênicos. Ao longo dos dias de fermentação, ambas as amostras mostraram resultados esperados, seguindo um padrão típico de fermentação em simbiose, onde os grupos microbianos presentes consumiram os substratos disponíveis, resultando na síntese de ácidos orgânicos, como observado na variação de acidez titulável total que apontou uma diferença significativa entre as bebidas prontas SCF e SKA. É possível observar que quando a polpa é adicionada, há uma influência direta no processo de fermentação; embora as amostras tenham mostrado comportamentos semelhantes durante o processo, a adição da polpa teve um impacto distinto.

Para os compostos bioativos, a adição da PFV traz uma diferença significativa no produto final, contribuindo para o aumento, especialmente em comparação com o 7º dia da fermentação. A presença da PFV sugere que sua inserção foi benéfica para o aumento dos valores de fenólicos totais, ABTS+ e DPPH°, melhorando assim as características antioxidantes das bebidas finais. As amostras apresentaram variações notáveis ao longo do processo de fermentação, sugerindo que as escolhas dos ingredientes podem ser ajustadas para otimizar a qualidade e os benefícios à saúde na bebida final.

O acompanhamento da evolução microbiológica durante o processo de fermentação da kombucha pronta para o consumo revelou-se importante entre os grupos de bactérias e leveduras, e as características sensoriais. Não houve diferença significativa entre as amostras SCF e SKA em relação às bebidas prontas quando se trata de BAL, indicando sua contribuição fundamental para o potencial probiótico e características sensoriais. Enquanto isso, as BAA conferiram à amostra SKA um sabor mais pronunciado e uma maior acidez em comparação com SCF. A dinâmica das

leveduras apresentou diferenças significativas entre as amostras, mostrando uma contagem mais elevada para a SKA, especialmente no 7º dia, além de desempenhar um papel importante na produção de álcool, CO₂ e ácidos orgânicos; as mesmas contribuem para a modulação do perfil do sabor da bebida final. Estes resultados destacam a complexidade e a diversidade de microrganismos envolvidos no processo fermentativo da kombucha, bem como a importância de entender suas interações para otimizar a qualidade do produto final.

A presente pesquisa buscou também analisar a aceitação sensorial e a intenção de compra de kombuchas produzidas com diferentes culturas de fermentação (SCF e SKA), além de investigar o conhecimento e hábitos de consumo relacionados a bebidas fermentadas ácidas entre os avaliadores. Com o teste triangular, foi possível constatar uma diferença significativa entre as amostras, com a maioria dos participantes conseguindo identificar corretamente a amostra diferente. A intensidade do sabor, especialmente a acidez, foi destacada como fator distintivo entre as amostras na maioria das observações registradas pelos avaliadores. Para o teste de aceitação global, as notas médias das amostras não apresentaram diferença significativa, indicando uma leve preferência pelos kombuchas avaliados. Não houve diferença significativa para intenção de compra entre as amostras, sendo que aproximadamente um terço dos avaliadores expressaram interesse em adquirir as bebidas avaliadas, mesmo considerando que a maioria dos participantes nunca havia consumido kombucha anteriormente. Os resultados apresentados sugerem um potencial de aceitação crescente dessas bebidas para desenvolvimento e comercialização, considerando tanto a qualidade sensorial quanto as preferências dos consumidores, mesmo sendo um perfil sensorial desafiador.

Com isso, o desenvolvimento de bebidas fermentadas saborizadas com frutas nativas revela-se promissora, oferecendo potencialidades para alimentos funcionais e probióticos. No entanto, faz-se necessário novas pesquisas para confirmar tais efeitos.

REFERÊNCIAS

- ABE, Lucile T.; LAJOLO, Franco M.; GENOVESE, Maria Ines. Potential dietary sources of ellagic acid and other antioxidants among fruits consumed in Brazil: Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 92, n. 8, p. 1679-1687, 2012.
- Aguiar, T.M., Sabaa-Srur, A.U.O., Barbosa, N., 2015. Determinação física e química da polpa de grumixama (*Eugenia brasiliensis*, Lam). **J. Fruits Veg.** 1 (1), 67_70.
- LUTZ, Instituto Adolfo. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. **São Paulo: ANVISA**, 2008.
- ALJAHANI, Amani; CHEIKHOUSMAN, Rana. Nutritional and sensory evaluation of pumpkin-based (*Cucurbita maxima*) functional juice. **Nutrition & Food Science**, 2017.
- ALMEIDA NETA, Maria Carmélia et al. Fermented dessert with whey, ingredients from the peel of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and an indigenous culture of *Lactobacillus plantarum*: composition, microbial viability, antioxidant capacity and sensory features. **Nutrients**, v. 10, n. 9, p. 1214, 2018.
- ALMEIDA, Raphael Lucas Jacinto et al. Análise granulométrica diferencial da farinha da casca de jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) Differential particle size analysis of jaboticaba bark flour (*Myrciaria cauliflora* Berg). **Research, Society and Development**, v. 9, n. 1, p. e156911875-e156911875, 2020.
- ANTUNES, A. E. C. et al. Acerola nectar with added microencapsulated probiotic. **LWT-Food Science and Technology**, v. 54, n. 1, p. 125-131, 2013.
- ANTUNES, Bruna da Fonseca et al. Qualidade de frutas nativas do Brasil. **Revista da Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa-Congrega Urcamp**, p. 2367-2379, 2017.
- ÁRVORES DO BRASIL. Palmito juçara - *Euterpe edulis*. s/a. Disponível em: <https://www.arvores.brasil.nom.br/new/palmitojucara/index.html>. Acesso em 10 de janeiro de 2024
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (method 991.20). Arlington:**A.O.A.C.**, 1995, chapter 33. p. 10-12.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official methods of analysis of the association of the official analytical chemists. 18.ed. Washington: **AOAC**, 2007. 1750p.
- ATLÂNTICA, SOS Mata. Fundação SOS Mata Atlântica. Fundação. Disponível em: <https://www.sosma.org.br/noticias>. Acesso em 09 jan. 2024. 2019.
- Bagchi, D. Nutraceutical and Functional Food Regulations in the United States and around the World, 3rd ed.; **Academic Press**: London, UK, 2019.

BANERJEE, Debashish et al. Comparative healing property of kombucha tea and black tea against indomethacin-induced gastric ulceration in mice: possible mechanism of action. **Food & function**, v. 1, n. 3, p. 284-293, 2010.

BARBOSA, Cosme Damião et al. Data fusion of UPLC data, NIR spectra and physicochemical parameters with chemometrics as an alternative to evaluating kombucha fermentation. **Lwt**, v. 133, p. 109875, 2020.

BARBOSA, Cosme Damião et al. Microbial–physicochemical integrated analysis of kombucha fermentation. **LWT**, v. 148, p. 111788, 2021.

BARREIRO, Nathalia Lanchin et al. Influência dos conhecimentos nutricionais e de alimentos funcionais nos hábitos alimentares de frequentadores de feira livre. **Revista Thema**, v. 19, n. 1, p. 79-94, 2021.

BHATTACHARYA, Debanjana et al. Antibacterial activity of polyphenolic fraction of kombucha against enteric bacterial pathogens. **Current microbiology**, v. 73, n. 6, p. 885-896, 2016.

BORGES, Graciele Da Silva Campelo et al. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2128-2133, 2011.

BRAND-WILLIAMS, Wendy; CUVÉLIER, Marie-Elisabeth; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. (1999a). Resolução RDC ANVISA n.º 17, de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para a Avaliação de Risco e Segurança dos Alimentos.

BRASIL. (1999b). Resolução RDC ANVISA n.º 18, de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos.

BRASIL. (1999c). Resolução RDC ANVISA n.º 19, de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem.

BRASIL. Instrução Normativa Mapa n.º 41, de 17 de setembro de 2019. Estabelece o Padrão de Identidade e Qualidade da Kombucha em todo o território nacional. (Alterada pela IN n.º 54/2020).

BLIGH, E. Graham; DYER, W. Justin. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian journal of biochemistry and physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BOESSO, Francine Fricher et al. AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE SUCO DE JABUTICABA INTEGRAL EM FUNÇÃO DOS TEORES DE COMPOSTOS FENÓLICOS. **ENERGIA NA AGRICULTURA**, v. 35, n. 3, p. 457-467, 2020.

BROGNOLLI, J. S. et al. Relação entre estado nutricional e conhecimento sobre alimentação adequada e saudável de escolares. **Revista Brasileira de Qualidade de Vida, Ponta Grossa**, v. 10, n. 2, 2018.

CARDOSO, Alyne Lizane et al. An update on the biological activities of *Euterpe edulis* (juçara). **Planta Medica**, v. 50, n. 08, p. 487-499, 2018.

CARVALHO, Ana Vânia; MATTIETTO, Rafaella de Andrade; BECKMAN, Jacqueline Chaves. Estudo da estabilidade de polpas de frutas tropicais mistas congeladas utilizadas na formulação de bebidas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, 2017.

CARVALHAES, Fernando Goldenstein; DE ANDRADE, Leonardo Alves. **Fermentação à Brasileira: Explore o universo dos fermentados com receitas e ingredientes nacionais**. Editora Melhoramentos, 2020. 320 pags.

CARVALHO, José Edmar Urano de. Frutas da Amazônia na era das novas culturas. In: **Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 2., 2012, Belém, PA. Anais... Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos, 2012., 2012.

CHAKRAVORTY, Somnath et al. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. **International journal of food microbiology**, v. 220, p. 63-72, 2016.

CVETKOVIĆ, Dragoljub et al. Specific interfacial area as a key variable in scaling-up Kombucha fermentation. **Journal of Food Engineering**, v. 85, n. 3, p. 387-392, 2008.

COELHO, Raquel Macedo Dantas et al. Kombucha. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, p. 100272, 2020.

COELHO, B. M.; GERALDI, M. V.; JUNIOR, M. R. M. Utilização de jabuticaba no desenvolvimento de novos produtos funcionais: revisão sistemática. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 12, n. 2, p. 38-60, jun. 2021.

COTON, Monika et al. Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, n. 5, 2017.

DA CONCEIÇÃO, Aline Rosignoli; DE CASTRO MORAIS, Dayane; DE SOUZA, Eliana Carla Gomes. Impact of food processing on antioxidants in adults living in rural areas. **MUNDO DA SAÚDE**, v. 42, n. 2, p. 516-524, 2018.

DANIEL, Peter F. et al. Quantitative microanalysis of oligosaccharides by high-performance liquid chromatography. **Carbohydrate Research**, v. 97, n. 2, p. 161-180, 1981.

DA MATTA, Virgínia Martins et al. Polpa de fruta congelada. Área de Informação da Sede-Col Criar Plantar ABC 500P/500R Saber (INFOTECA-E), 2005.

DA SILVA CARVALHO, Ana Gabriela et al. Anthocyanins from jussara (*Euterpe edulis* Martius) extract carried by calcium alginate beads pre-prepared using ionic gelation. **Powder Technology**, v. 345, p. 283-291, 2019.

DA SILVA JÚNIOR, Jayme César et al. Kombucha: Formulation, chemical composition, and therapeutic potentialities. **Current Research in Food Science**, 2022.

DA SILVA OLIVEIRA, Marina et al. Consumption of fruit and vegetables and the health conditions of men and women attended in the primary healthcare network/Consumo de frutas e hortaliças e as condições de saúde de homens e mulheres atendidos na atenção primária à saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 20, n. 8, p. 2313-2323, 2015.

DA SILVA, Rodrigo Ozelame; PEREZ-CASSARINO, Julian; STEENBOCK, Walter. Rescue and multiplication of native fruits at the Núcleo Luta Camponesa for Agroecology. **Agrociencia Uruguay**, v. 26, n. NE3, p. e958-e958, 2022.

DE FILIPPIS, Francesca et al. Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during Kombucha tea fermentation. **Food microbiology**, v. 73, p. 11-16, 2018.

FÜRST, Omar. Grumixama. In: **Biboca ambiental**. 21 de dezembro de 2018. Disponível em: <http://bibocaambiental.blogspot.com/2018/12/grumixama-voce-conhece.html>. Acesso em: 15/09/2022.

DENIS, T. C; MADEIRA, V. M; ALMEIDA, L. M. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicyte and 5-aminosalicyte) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. 1994, p.161-169.

DOMINGOS, Susan Christina Braga et al. Antibacterial activity of honeys from Amazonian stingless bees of *Melipona* spp. and its effects on bacterial cell morphology. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 101, n. 5, p. 2072-2077, 2021.

ENTANI, Etsuzo et al. *Acetobacter polyoxogenes* sp. nov., a new species of an acetic acid bacterium useful for producing vinegar with high acidity. **The Journal of General and Applied Microbiology**, v. 31, n. 5, p. 475-490, 1985.

ETGETON, Schaina Andriela Pontarollo; ZANETTE, Cristina Maria. Desenvolvimento de kombucha: caracterização microbiológica, físico-química e aspectos de mercado. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 11, n. 4, p. 1-14, 2022.

FABRICIO, Mariana Fensterseifer et al. Effect of freeze-dried kombucha culture on microbial composition and assessment of metabolic dynamics during fermentation. **Food Microbiology**, v. 101, p. 103889, 2022.

FRANCIS, F. J. Analysis of Anthocyanins. [s.l.] **ACADEMIC PRESS, INC.**, 1982.

FERNÁNDEZ HERRERA, Fredesvindo. Formulacon de una bebida funcional a base de Beta vulgaris L. Y Equisetum arvense L. para su evaluacon de la capacidad antioxidante y polifenoles totales. 2018.

FLORES, Gema et al. Anthocyanins from Eugenia brasiliensis edible fruits as potential therapeutics for COPD treatment. **Food Chemistry**, v. 134, n. 3, p. 1256-1262, 2012.

FONTES, Claudia Patrcia Mouro Lima. Produoo de oligossacardeos pre-biticos em suco de frutas. 2013.

FRACASSETTI, Daniela et al. Ellagic acid derivatives, ellagitannins, proanthocyanidins and other phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of two powder products from camu-camu fruit (Myrciaria dubia). **Food chemistry**, v. 139, n. 1-4, p. 578-588, 2013.

GARCIA, Jssica AA et al. Chemical composition and biological activities of Juara (Euterpe edulis Martius) fruit by-products, a promising underexploited source of high-added value compounds. **Journal of Functional Foods**, v. 55, p. 325-332, 2019.

GARCIA, Karla Bigetti Guergoletto Sandra. Juara (Euterpe edulis) pulp as a substrate for probiotic bacteria fermentation: Optimisation process and antioxidant activity. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, p. 949-959, 2017.

GERALDI, Marina V. et al. Development of yoghurt with juara pulp (Euterpe edulis M.) and the probiotic Lactobacillus acidophilus La5. **Probiotics and antimicrobial proteins**, v. 10, n. 1, p. 71-76, 2018.

GOMES, Gustavo Crizel; RODRIGUES, Walter Fagundes; GOMES, Fernando Rogrio Costa; BARBIERI Rosa La; GARRASTAZU, Marilice Costa. **Conservaoo de frutferas nativas: localizaoo, fenologia e reproduoo** / Gustavo Crizel Gomes... [et al.]. - Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 36 p. - (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 183). ISSN 1516-8840.

GUERGOLETTTO, Karla Bigetti et al. In vitro fermentation of juara pulp (Euterpe edulis) by human colonic microbiota. **Food Chemistry**, v. 196, p. 251-258, 2016.

HANDA, C. L.; LIMA, F. S.; GUELFY, M. F. G.; GEOGETTI, S. R.; IDA, E. I. Multi-responsoptimisation of the extraction solvent system for phenolics and antioxidant activities from fermented soy flour using a simplex-centroid design. **Food Chemistry**, 197, p. 175-184, Maio/2015.

INADA, Kim OP et al. High hydrostatic pressure processing affects the phenolic profile, preserves sensory attributes and ensures microbial quality of jaboticaba (Myrciaria jaboticaba) juice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 1, p. 231-239, 2018.

INFANTE, Juliana et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of unexplored Brazilian native fruits. **PLoS One**, v. 11, n. 4, p. e0152974, 2016.

ISAS, Ana Sofia et al. Functional fermented cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) juice using autochthonous lactic acid bacteria. **Food Research International**, v. 138, p. 109729, 2020.

JACOBSON, J. L. Introduction to wine laboratory practices and procedures. New York, NY: **Springer Science Business Media Editora**. 2006. 390p.

JAYABALAN, R., Chen, P-N., Hsieh, Y-S., Prabhakaran, K., Pitchai, P., Marimuthu, S., Thangaraj, P., Swaminathan, K., Yun, S.E., 2011. Effect of solvent fractions of kombucha tea on viability and invasiveness of cancer cells - Characterization of dimethyl 2-(2 hydroxy-2-methoxypropylidene) malonate and vitexin. **Indian Journal of Biotechnology** 10, 75–82.

JAYABALAN, Rasu et al. A review on kombucha tea—microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 13, n. 4, p. 538-550, 2014.

JAYABALAN, R., Malbasa, R., Sathishkumar, M., 2016. Kombucha. **Reference module in food science**. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03032-8>.

JAYABALAN, R.; WAISUNDARA, Viduranga Y. Kombucha as a functional beverage. In: Functional and medicinal beverages. Academic Press, 2019. p. 413-446.

JOVANOVIC, Slobodan V. et al. Reduction potentials of flavonoid and model phenoxyl radicals. Which ring in flavonoids is responsible for antioxidant activity?. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, n. 11, p. 2497-2504, 1996.

JUNIOR, Alexander Georges Meytre et al. Desconhecimento e indisponibilidade das frutas nativas da Mata Atlântica contribuem com hábitos alimentares restritos e sem diversidade. **South American Development Society Journal**, v. 6, n. 17, p. 269, 2020.

KAUR, Navdeep; SINGH, Devinder Pal. RETRACTED: Deciphering the consumer behaviour facets of functional foods: A literature review. **Appetite**, v. 112, p. 167-187, 2017.

KAUSAR, Humaira et al. Studies on the development and storage stability of cucumber-melon functional drink. **J. Agric. Res**, v. 50, n. 2, p. 239-248, 2012.

KAYISOGLU, Serap; COSKUN, Fatma. Determination of physical and chemical properties of kombucha teas prepared with different herbal teas. **Food Science and Technology**, v. 2061, p. 1–5, 2020.

KINUPP, V. F.; LORENZI, Harri. Plantas alimentícias não convencionais no Brasil. **Nova Odessa: Instituto Plantarum**, 2014. 768 pags.

LA CHINA, Salvatore et al. Kombucha tea as a reservoir of cellulose producing bacteria: Assessing diversity among Komagataeibacter isolates. **Applied Sciences**, v. 11, n. 4, p. 1595, 2021.

- LARRAURI, J.A.; RUPÉREZ, P.; SAURACALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 45, p. 1390-1393, 1997.
- LEITE, Sabrina Torres et al. Polpa de juçara: Fonte de compostos fenólicos, aumento da atividade antioxidante e da viabilidade de bactérias probióticas de iogurte. *Revista Ceres*, v. 65, p. 16-23, 2018.
- LEONARSKI, Eduardo et al. Production of kombucha-like beverage and bacterial cellulose by acerola byproduct as raw material. *Lwt*, v. 135, p. 110075, 2021.
- LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*, F4.3.1-F4.3.8, 2001.
- LOPES, Danielle Rubim; SANTOS, Lucielen Oliveira; PRENTICE-HERNÁNDEZ, Carlos. Antioxidant and antibacterial activity of a beverage obtained by fermentation of yerba-maté (*Ilex paraguariensis*) with symbiotic kombucha culture. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 45, n. 2, p. e15101, 2021.
- LORENZI, Harri et al. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 1992.
- MARINHO, Júlia Fernanda Urbano. Desenvolvimento e avaliação de sorbets probióticos e simbióticos elaborados com polpa de juçara (*Euterpe edulis*). 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- MARSIGLIA, Wanda Izabel Monteiro de Lima et al. Evaluation of bioactive compounds in an infused drink prepared from the powder of jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) peels. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 45, n. 9, p. e15731, 2021.
- MARSH, Alan J. et al. Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. *Food microbiology*, v. 38, p. 171-178, 2014.
- MATHEUS, M. T. et al. Efeitos de tratamentos térmicos na germinação de sementes de grumixama (*Eugenia brasiliensis*). *ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA*, v. 9, p. 620-622.
- MAY, Alexander et al. Kombucha: a novel model system for cooperation and conflict in a complex multi-species microbial ecosystem. *PeerJ*, v. 7, p. e7565, 2019.
- MEDEIROS, Stéphaney Christine Guimarães; CECHINEL-ZANCHETT, Camile Cecconi. Kombucha: Efeitos in Vitro E in Vivo. *Infarma-Ciências Farmacêuticas*, v. 31, n. 2, p. 73-79, 2019.
- MEIRA, Nicole de Almeida Nunes; PEREIRA, Neila de Paula. FLAVONÓIDES E ANTOCIANINAS EM MYRICARIA CAULIFLORA (JABUTICABA) VISANDO À APLICABILIDADE COSMÉTICA. *Visão Acadêmica*, v. 17, n. 3, 2017.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (Brasil). Instrução Normativa 41/2019. **Padrão de Identidade e Qualidade de Kombucha**. Processo nº 21000.052620/2017-51, setembro de 2019. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-41-de-17-de-setembro-de-2019-216803534>. Acesso em 27 de ago. 2021.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Functional foods. Part 2: the impact on current regulatory terminology. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 99-112, 2006.

MORALES, Patricia et al. Non-fermented and fermented jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Mart.) pomaces as valuable sources of functional ingredients. **Food chemistry**, v. 208, p. 220-227, 2016.

MORENO, Paulo Roberto H. et al. Essential oil composition of fruit colour varieties of *Eugenia brasiliensis* Lam. **Scientia Agricola**, v. 64, p. 428-432, 2007.

NABAVI, S. M. et al. Determination of antioxidant activity, phenol and flavonoids content of *Parrotia persica* Mey. **Pharmacologyonline**, v. 2, n. 9, p. 560-567, 2008.

NEFFE-SKOCIŃSKA, Katarzyna et al. Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. **Cyta-journal of food**, v. 15, n. 4, p. 601-607, 2017.

NEGRI, T. C.; BERNI, P. R. A.; BRAZACA, S. G. C. Nutritional value of native and exotic fruits from Brazil. **Biosaúde**, v. 18, p. 82-96, 2016.

NEHRING, Priscila et al. Avaliação da capacidade antioxidante e compostos fenólicos em diferentes estádios de maturação da grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck). 2016.

NELSON, Norton et al. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **J. biol. Chem**, v. 153, n. 2, p. 375-380, 1944.

NIJVELDT, Robert J. et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **The American journal of clinical nutrition**, v. 74, n. 4, p. 418-425, 2001.

NISHIO, E. K. et al. Antibacterial synergic effect of honey from two stingless bees: *Scaptotrigona bipunctata* Lepeletier, 1836, and *S. postica* Latreille, 1807. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 21641, 2016.

NOSSA FLORA NOSSO MEIO. Palmeira-juçara (*Euterpe edulis*): uma importante espécie botânica da Mata Atlântica. 2017. Disponível em: <https://www.nossafloranossomeio.eco.br/2017/11/palmeira-jucara-euterpe-edulis.html>. Acesso em: 10 de janeiro de 2024.

OKUDA, Takuo et al. Ellagitannins of the casuarinaceae, stachyuraceae and myrtaceae. **Phytochemistry**, v. 21, n. 12, p. 2871-2874, 1980.

PARK, Seo-Yeon et al. Changes in the phenolic compounds and antioxidant activities of mustard leaf (*Brassica juncea*) kimchi extracts during different fermentation periods. **Food science and biotechnology**, v. 26, n. 1, p. 105-112, 2017.

PEIXOTO, A. L.; LUZ, J. R. P.; BRITO, M. A. Conhecendo a biodiversidade. Brasília: MCTIC, CNPq, PPBio, 196 p., 2016.

PEREIRA, Luciane Dias et al. Polyphenol and ellagitannin constituents of jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) and chemical variability at different stages of fruit development. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 65, n. 6, p. 1209-1219, 2017.

PHILLIPS, Melissa M. et al. Determination of organic acids in *Vaccinium* berry standard reference materials. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 398, n. 1, p. 425-434, 2010.

PRICE, Martin L.; VAN SCOYOC, Steve; BUTLER, Larry G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 26, n. 5, p. 1214-1218, 1978.

RAMOS, Ana Luiza Coeli Cruz et al. Bebida fermentada com potencial probiótico à base de extrato hidrossolúvel de soja com adição de grumixama (*Eugenia brasilienses*). 2020.

RENUKA, B. et al. Fructooligosaccharide fortification of selected fruit juice beverages: Effect on the quality characteristics. **LWT-Food Science and Technology**, v. 42, n. 5, p. 1031-1033, 2009.

REYNERTSON, Kurt A. et al. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food chemistry**, v. 109, n. 4, p. 883-890, 2008.

ROBERFROID, Marcel B. Global view on functional **foods**: European perspectives. **British Journal of Nutrition**, v. 88, n. S2, p. S133-S138, 2002.

ROCHA, Juliana de Cássia Gomes et al. Protein beverages containing anthocyanins of jabuticaba. **Food Science and Technology**, v. 39, p. 112-119, 2018.

RODRIGUES, Sueli et al. Ultrasound extraction of phenolics and anthocyanins from jabuticaba peel. **Industrial Crops and Products**, v. 69, p. 400-407, 2015.

RUFINO, Maria do Socorro Moura. **Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais**. 237 fls. Tese (Doutorado em Fitotecnia – Área de concentração: Agricultura Tropical – Linha de Pesquisa: Bioquímica, Fisiologia e Tecnologia Pós-Colheita) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró Reitoria de Pós-Graduação. 2008.

SANCHES, Marcio Augusto Ribeiro et al. Development, characterization and optimization of biopolymers films based on starch and flour from jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) peel. **Food Chemistry**, v. 343, p. 128430, 2021.

SANGIOVANNI, Enrico et al. Ellagitannins from Rubus berries for the control of gastric inflammation: in vitro and in vivo studies. **PloS one**, v. 8, n. 8, p. e71762, 2013.

SANTOS, Josué Souza dos et al. Kombuchá: consumo, benefícios e comercialização. **SEMOC-Semana de Mobilização Científica**, 2019.

SANGIOVANNI, Enrico et al. Ellagitannins from Rubus berries for the control of gastric inflammation: in vitro and in vivo studies. **PloS one**, v. 8, n. 8, p. e71762, 2013.

SANTOS, Mafalda Jorge dos. **Kombucha: caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração**. 2016. Tese de Doutorado.

SCHREINER, Camila Traesel. **Importância das frutíferas nativas para famílias agricultoras na Cantuquiriguaçu, PR**/ Camila Traesel Schreiner. -- 2016. 107 fls. Dissertação (Mestrado em Agroecologia e Desenvolvimento Rural) - Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Laranjeiras do Sul, PR, 2016.

SCHULZ, Mayara et al. Juçara fruit (*Euterpe edulis* Mart.): sustainable exploitation of a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 89, p. 14-26, 2016.

M. SIEVERS, C. Lanini, A. Weber, U. Schuler-Schmid, M. Teuber, *Syst. Applic. Microbiol.* 18(1995) 590-594

SILVA, Nathalia Azevedo da et al. Phenolic compounds and carotenoids from four fruits native from the Brazilian Atlantic forest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 22, p. 5072-5084, 2014.

SILVA JÚNIOR, Jayme César da et al. Kombucha tradicional e saborizadas com pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e com umbu-cajá (*Spondia tuberosa*): caracterização química, compostos voláteis, bioativos e potencial antioxidante. 2021.

SILVA, Paulo Henrique Alves da et al. Avaliação da composição química de fermentados alcoólicos de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba*). **Química Nova**, v. 31, p. 595-600, 2008.

SINGLETON, Vernon L.; ROSSI, Joseph A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SOMOGYI, Michael et al. Notes on sugar determination. **Journal of biological chemistry**, v. 195, p. 19-23, 1952.

SOUZA, Caroline Cardoso de et al. Physicochemical characteristics and sensory acceptance of a mixed beverage based on organic apple juice and cardamom tea (*Elettaria cardamomum*) with allegation of functional properties. **Food Science and Technology**, v. 40, p. 669-676, 2020.

SREERAMULU, Guttapadu; ZHU, Yang; KNOL, Wieger. Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 6, p. 2589-2594, 2000.

STONE, Herbert; SIDEL, Joel L. Introduction to sensory evaluation. **Sensory Evaluation Practices (Third Edition)**. Academic Press, San Diego, p. 1-19, 2004.

SUÁREZ, Daniel Felipe Toro et al. Physicochemical and sensorial characterization of yacon mixed juice with bioactive properties. **Ciência Rural**, v. 52, 2021.

SUGUINO, Eduardo et al. Effect of pinus bark substrate porosity in the development of grumixama plant seedlings. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. SPE1, p. 643-648, 2011.

SUHRE, Tais. Kombuchas produzidas e comercializadas no Brasil: características físico-químicas e composição microbiana. 2020.

TEIXEIRA, LdL et al. Potential antiproliferative activity of polyphenol metabolites against human breast cancer cells and their urine excretion pattern in healthy subjects following acute intake of a polyphenol-rich juice of grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lam.). **Food & function**, v. 8, n. 6, p. 2266-2274, 2017.

TEIXEIRA, Luciane de L.; HASSIMOTTO, Neuza MA; LAJOLO, Franco M. Grumixama—*Eugenia brasiliensis* Lam. In: **Exotic fruits**. Academic Press, 2018. p. 219-224.

TEIXEIRA, Luciane de L. et al. Human urine metabolomic signature after ingestion of polyphenol-rich juice of purple grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lam.). **Food Research International**, v. 120, p. 544-552, 2019.

TEOH, Ai Leng; HEARD, Gillian; COX, Julian. Yeast ecology of Kombucha fermentation. **International journal of food microbiology**, v. 95, n. 2, p. 119-126, 2004.

TIBOLLA, Heloisa; PELISSARI, Franciele Maria; MENEGALLI, Florencia Cecilia. Cellulose nanofibers produced from banana peel by chemical and enzymatic treatment. **LWT-Food Science and Technology**, v. 59, n. 2, p. 1311-1318, 2014.

TSURU, Vitor Hugo et al. Propriedades físico-químicas, antioxidantes e sensoriais de Kombuchas obtidas da fermentação de oolong e erva mate. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e62101118790-e62101118790, 2021.

VEGA, S. Bebida funcional de guaraná (*paullinia cupana*), coca (*erythroxylum coca*), arándanos (*vaccinium corymbosum*) y su capacidad antioxidante. **Huacho-Peru: Universidad Nacional Jose Faustino Sanchez Carrión**, 2021.

VIANI, Ricardo Augusto Gorne; RODRIGUES, Ricardo Ribeiro. Árvores frutíferas nativas do Brasil. **Plantas, Flores & Jardins**, v. 51, p. 50-57, 2005. Disponível em: http://lerf.eco.br/img/publicacoes/2005_12%20arvores%20frutiferas%20nativas%20do%20Brasil.pdf. Acesso em 26 de ago. 2021.

VILLARREAL-SOTO, Silvia Alejandra et al. Understanding kombucha tea fermentation: a review. **Journal of food science**, v. 83, n. 3, p. 580-588, 2018.

VILLARREAL-SOTO, Silvia Alejandra et al. Impact of fermentation conditions on the production of bioactive compounds with anticancer, anti-inflammatory and antioxidant properties in kombucha tea extracts. **Process Biochemistry**, v. 83, p. 44-54, 2019.

VILLARREAL-SOTO, Silvia Alejandra et al. Metabolome-microbiome signatures in the fermented beverage, Kombucha. **International Journal of Food Microbiology**, v. 333, p. 108778, 2020.

XIA, Xiudong et al. Kombucha fermentation enhances the health-promoting properties of soymilk beverage. **Journal of Functional Foods**, v. 62, p. 103549, 2019.

XU, KaWai et al. Grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lam.) cultivated in the Cerrado has high content of bioactive compounds and great antioxidant potential. **Ciência Rural**, v. 50, p. e20190630, 2020.

YU, Huan; BOGUE, Joe. Concept optimisation of fermented functional cereal beverages. **British Food Journal**, 2013.

ANEXO 1

(TCLE)

Projeto: “Desenvolvimento de bebida fermentada de frutas nativas vermelhas: Juçara, Jabuticaba e Grumixama”

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo (a) para participar da pesquisa “Desenvolvimento de bebida fermentada de frutas nativas vermelhas: Juçara, Jabuticaba e Grumixama”, a ser realizada no “Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos”. A Kombucha é uma bebida fermentada que tem como base o chá verde em um processo fermentativo que envolve uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras (scooby) adicionado no chá adoçado. A saborização com a polpa de frutas vermelhas brasileiras (grumixama, jabuticaba e juçara) cria uma bebida com potencial saudável e perfil sensorial exclusivo. Um dos objetivos da pesquisa é desenvolver bebidas fermentadas de Kombucha saborizadas com frutas vermelhas brasileiras (juçara, jabuticaba e grumixama), avaliando o processo fermentativo com o uso de scooby comercial ou artesanal e sua influência na atividade antioxidante in vitro.

Os ingredientes da kombucha serão: Chá verde, açúcar, scooby (filme de polissacarídeo que contém a mistura de bactérias e leveduras que fermentam o chá para a produção da bebida), starter (líquido fermentado da Kombucha anterior usado para auxiliar no início da fermentação), água, polpa de frutas vermelhas brasileiras (produzida com partes iguais de polpas pasteurizadas de grumixama, juçara e jabuticaba). Sua participação no teste sensorial é muito importante e ela se daria da seguinte forma: o (a) senhor (a) faria parte da equipe de avaliadores da aceitação e perfil sensorial da bebida recém-preparada, inicialmente será solicitado a preencher um questionário de informações pessoais e em seguida irá identificar descrições relacionadas as características sensoriais da bebida e avaliar o quanto gostou ou desgostou das amostras apresentadas durante uma sessão de avaliação com duração de no máximo 15 minutos. Esclarecemos que sua participação é totalmente voluntária, podendo o (a) senhor (a): recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento, sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos, também, que suas informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. Esclarecemos ainda, que o(a) senhor(a) não pagará e nem será remunerado(a) por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas desta pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação. O benefício esperado é contribuir no fomento e na proteção de frutas nativas brasileiras localizadas na Mata Atlântica e disponibilizar uma bebida fermentada com alto valor nutricional junto a propriedades antioxidantes e diversos metabólitos que são importantes para o corpo humano em simultâneo com alternativas para novos sabores. Os riscos associados à ingestão das formulações da bebida são mínimos, pois se trata de um produto preparado de forma segura, com ingredientes pasteurizados e o produto submetido à avaliação microbiológica de patógenos. Além disso, a ingestão do produto durante o teste é pequena, sendo a quantidade apenas para fins de pesquisa sensorial. Entre os riscos mínimos, o provador poderá sentir leves distensões abdominais e solta do intestino, sendo que estes sintomas caso apareçam, são passageiros e não perduram por mais de 6h após a realização do teste.

Caso ocorra qualquer tipo de desconforto, os pesquisadores comprometem-se a amparar o participante da pesquisa em alguma eventualidade, sendo prontamente atendido e amparado. Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá nos contatar (Prof.a. Dra. Karla Bigetti Guergoletto DCTA/UEL, e-mail: karla@uel.br e Vinicius Domingues Santos DCTA/UEL, e-mail: vinicius.dsantos@uel.br, ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone 3371-5455, e-mail: cep268@uel.br. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas devidamente preenchida, assinada e entregue ao (à) senhor(a).

Londrina, _____ de _____ de
2023.

Profa. Dra. Karla Bigetti Guergoletto
Vinicius Domingues Santos

Eu, _____ (**NOME POR EXTENSO DO SUJEITO DE PESQUISA**), tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____

Data: _____

ANEXO 2:

QUESTIONÁRIO DE INFORMAÇÕES PESSOAIS DO PARTICIPANTE

Projeto: “Desenvolvimento de bebida fermentada de frutas nativas vermelhas: Juçara, Jabuticaba e Grumixama”

Nome: _____

E-mail: _____

1. Faixa etária:

- 18-20 anos 21-25 anos 26-30 anos 31-35 anos
 36-40 anos >40 anos

2. Gênero: Feminino Masculino Prefiro não dizer outro

3. Escolaridade:

- Fundamental completo
 Médio completo
 Superior - cursando completo
 Especialização - cursando completo
 Mestrado - cursando completo
 Doutorado - cursando completo
 Outro: Especifique: _____

4. Indique a sua ocupação:

- Estudante _____
 Trabalho. Especifique qual: _____
 Outro: _____

5. Você consome frutas vermelhas?

- diariamente semanal mensal eventualmente nunca

6. Você conhece alguma destas frutas?

- juçara grumixama jabuticaba

Qual frequência de consumo? (escreva):

7. Você conhece o Kombucha?

- Sim Não

8. Indique a frequência de consumo de Kombucha:

- diário semanal mensal eventualmente nunca

9. Se a frequência for semanal, qual é o sabor que você mais consome:

ANEXO 3:

Ficha de avaliação sensorial para Teste triangular.

Nome: _____ Data: __ / __ / __

Teste Triangular

Você está recebendo 3 amostras de bebida fermentada. Por favor, prove as amostras da esquerda para a direita. Antes de seguir para a próxima amostra, deve realizar a limpeza do paladar com a água fornecida. Duas amostras são iguais e uma é diferente. Identifique com um círculo a amostra diferente.

Comentários: _____

ANEXO 4

Teste de Aceitação

TESTE DE ACEITAÇÃO

Nome:..... **Data:**

Por favor, avalie a amostras de kombucha utilizando a escala abaixo, para dizer o quanto gostou ou desgostou do produto e, se desejado, faça comentários sobre ele.

- 1- Desgostei muitíssimo
- 2- Desgostei muito
- 3- Desgostei
- 4- Desgostei ligeiramente
- 5- Não gostei nem desgostei
- 6- Gostei ligeiramente
- 7- Gostei
- 8- Gostei muito
- 9- Gostei muitíssimo

Amostra	Nota

Você compraria este produto?

- 1- Certamente compraria
- 2- Provavelmente compraria
- 3- Talvez compraria/talvez não compraria
- 4- Provavelmente não compraria
- 5- Certamente não compraria

Amostra	Nota

Comentários:.....

.....

ANEXO 5

Tabela 38 – Número mínimo de respostas corretas necessárias para estabelecer diferença significativa entre as amostras ao nível de erro alfa (α) para o Teste Triangular para o correspondente número de julgadores (n). Rejeite a hipótese de que não há diferença se o número de respostas corretas for maior ou igual ao tabelado

n	α					n	α				
	0,20	0,10	0,05	0,01	0,001		0,20	0,10	0,05	0,01	0,001
6	4	5	5	6	...	32	14	15	16	18	20
7	4	5	5	6	7	33	14	15	17	18	21
8	5	5	6	7	8	34	15	16	17	19	21
9	5	6	6	7	8	35	15	16	17	19	22
10	6	6	7	8	9	36	15	17	18	20	22
11	6	7	7	8	10	37	16	17	18	20	22
12	6	7	8	9	10	38	16	17	19	21	23
13	7	8	8	9	11	39	16	18	19	21	23
14	7	8	9	10	11	40	17	18	19	21	24
15	8	8	9	10	12	41	17	19	20	22	24
16	8	9	9	11	12	42	18	19	20	22	25
17	8	9	10	11	13	43	18	19	20	23	25
18	9	10	10	12	13	44	18	20	21	23	26
19	9	10	11	12	14	45	19	20	21	24	26
20	9	10	11	13	14	46	19	20	22	24	27
21	10	11	12	13	15	47	19	21	22	24	27
22	10	11	12	14	15	48	20	21	22	25	27
23	11	12	12	14	16	54	22	23	25	27	30
24	11	12	13	15	16	60	24	26	27	30	33
25	11	12	13	15	17	66	26	28	29	32	35
26	12	13	14	15	17	72	28	30	32	34	38
27	12	13	14	16	18	78	30	32	34	37	40
28	12	14	15	16	18	84	33	35	36	39	43
29	13	14	15	17	19	90	35	37	38	42	45
30	13	14	15	17	19	96	37	39	41	44	48
31	14	15	16	18	20	102	39	41	43	46	50

Fonte: ASTM E1885 – 04.