

KOMBUCHAS À BASE DE INFUSÕES DE CHÁ DE HORTELÃ E CHÁ VERDE

Artur Natal Vicentin¹

Carolina Resmini Melo Marques²

Resumo: A kombucha é uma bebida milenar fermentada através da ação de uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras microbiologicamente ativas (*SCOBY*) com açúcares e chá verde, chá preto, ou outros chás derivados da planta *Camellia sinensis*. O presente trabalho teve por objetivo a produção de três tipos distintos de kombucha utilizando três diferentes chás/ervas: kombucha de chá verde, de hortelã e uma mistura entre chá verde e hortelã. As bebidas foram avaliadas de acordo com os parâmetros de teor alcoólico, acidez volátil e pH, usando como referência a Instrução Normativa Nº 41, de 17 de setembro de 2019, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Também foram realizadas análises sensoriais na Instituição UNISATC, com voluntários composta por 40 degustadores não treinados, utilizando a escala hedônica de 5 e 9 pontos para determinar o nível de satisfação do degustador, intensidade de aroma, sabor, aparência, nível de gás e intenção de compra quanto a cada bebida. Os resultados obtidos nas análises físico-químicas demonstraram a necessidade de utilizar maiores concentrações de açúcar ou até aumentar o tempo de fermentação das bebidas, para atingir os valores de acidez volátil propostos na legislação. As análises sensoriais evidenciaram que as bebidas não obtiveram altos percentuais de intenção de compra, visto que a kombucha que não passa pelo processo de saborização não tem um apelo comercial tão grande. Apesar disso, as kombuchas de hortelã e *blend* de chá verde com hortelã foram as bebidas mais bem avaliadas pelos degustadores em comparação a kombucha de chá verde, o que torna viável a utilização de outros tipos de infusão na preparação da kombucha.

Palavras-chave: Bebida. Fermentação. *Camellia sinensis*. Bactérias. Leveduras.

1 INTRODUÇÃO

As bebidas fermentadas estão presentes na vida humana desde a Idade Antiga, contendo registros históricos que evidenciam que essas eram consumidas em larga escala e muito presentes nas diversas civilizações da história. Os egípcios, por exemplo, deixaram registrados nos papiros as etapas de fabricação, produção e comercialização da cerveja e do vinho (MCGOVER, FLEMING, KATZ, 1996).

Assim como a cerveja e o vinho, o chá também se destaca por ser uma das bebidas mais populares no mundo, ficando atrás apenas da água. O chá é uma bebida

¹ Graduando em Engenharia Química, ano 2023-2. E-mail: arturnv@outlook.com

² Professora do Centro Universitário UniSATC E-mail: carolina.melo@satc.edu.br



feita a partir da planta *Camellia sinensis* (ao contrário dos "chás" de ervas que são infusões feitas de plantas que não tem relação com a *Camellia sinensis*). A partir desses chás é possível produzir uma bebida fermentada, conhecida como kombucha (FAO, 2022).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2019) define a kombucha como uma bebida fermentada obtida através da respiração aeróbia e fermentação anaeróbia do mosto, obtido pela infusão ou extrato de *Camellia sinensis* e açúcares por cultura simbiótica de bactérias e leveduras microbiologicamente ativas (SCOBY). Essa bebida é tão antiga quanto o vinho e a cerveja, tendo evidências de que ela tenha se originado na China há dois mil anos (JAYABALAN et al., 2014).

Apesar de milenar, a popularidade da kombucha só começou a crescer a partir do século XXI, esta se dá principalmente pelos seus supostos efeitos probióticos benéficos à saúde. No *Google Trends* por exemplo, a busca pela palavra "kombucha" começou a aumentar a partir do ano de 2012, tendo como pico de pesquisas o ano de 2020 (GOOGLE TRENDS, 2023), coincidindo com a época pandêmica em que o mundo vivia, onde as pessoas buscavam melhoria na qualidade de vida.

Apesar da crescente nas buscas por kombucha, a área acadêmica brasileira não acompanhou este aumento elevado nas pesquisas. Segundo a pesquisa elaborada por Ribeiro (2021) apenas 0,24% da produção acadêmica mundial sobre kombucha entre 2015 e 2020, presente em uma das maiores bases de dados do mundo, é no Brasil.

Seguindo estas pesquisas, o presente trabalho buscou fomentar as pesquisas na área, utilizando uma matéria-prima não convencional como a hortelã (*Mentha viridis*) em comparação ao chá verde (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) para a produção de kombuchas.

As bebidas foram produzidas a partir de um chá ideal para fermentação da bebida (chá verde), um chá não-ideal (hortelã) e de uma mistura desses dois tipos, a fim de comparar suas características físico-químicas e sensoriais, além de comparar os resultados obtidos com os teores requeridos na legislação brasileira. Sendo assim busca-se: determinar o potencial hidrogeniônico - pH, acidez volátil, grau brix e graduação alcoólica final das bebidas, além de avaliar a aceitabilidade e características sensoriais com degustadores não treinados para comparar aos resultados físico-químicos obtidos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A kombucha é uma bebida produzida através da fermentação a base de chás, açúcares e culturas de bactérias ativas. A produção da bebida acontece a partir do “fungo do chá”, que é uma associação de leveduras e espécies *Acetobacter* (BAA) que proporcionam a fermentação do chá (*Camellia sinensis*) açucarado, transformando-o em uma bebida refrescante levemente ácida (SIEVERS et al., 1995). Ela é composta por duas fases: um biofilme celulósico flutuante, popularmente conhecido como *SCOBY*, e uma fase líquida ácida (SOTO et al., 2018). A fase líquida ácida é formada a partir da mistura do chá doce com o chá de arranque.

A análise química da kombucha mostra a presença de vários ácidos orgânicos, tais como o ácido acético, glucônico, glucurônico, cítrico, L-láctico, málico, tartárico, malônico, oxálico, succínico, pirúvico, úsnico; também açúcares, como sacarose, glicose e frutose; as vitaminas B1, B2, B6, B12 e C; 14 aminoácidos, aminas biogênicas, purinas, pigmentos, lipídios, proteínas, algumas enzimas hidrolíticas, etanol, matéria antibioticamente ativa, dióxido de carbono, fenol, bem como alguns polifenóis do chá, minerais, ânions, DSL (D-sacárico-1,4-lactona), como produtos pouco conhecidos de leveduras e metabólitos bacterianos (JAYABALAN et al., 2014).

Esta bebida é conhecida popularmente por seus diversos efeitos probióticos benéficos à saúde. Os probióticos são microrganismos vivos, capazes de melhorar o equilíbrio da microbiota intestinal, também conhecida como flora intestinal (EPIFANIO, 2012). A kombucha é composta por substâncias com propriedades bioativas, com destaque para os compostos fenólicos. Estes representam o principal grupo de antioxidantes presentes na kombucha e são responsáveis pela maioria dos benefícios à saúde (CARDOSO et al., 2020).

Na produção da kombucha, para preparar o chá doce utiliza-se em média 5 a 6 g/L do chá para a primeira fermentação (REISS, 1994; BLANC, 1996) e 50 a 70 g/L de açúcar (REISS, 1994; MALBASA et al., 2008; Blanc, 1996). Em adição a este chá doce utiliza-se 10% (v/v) de chá de arranque para a inoculação. O tempo de produção desta bebida à temperatura ambiente pode variar entre 7 a 10 dias (JAYABALAN et al., 2014). Porém, dependendo dos níveis de pH, temperatura, quantidade de oxigênio, CO₂ dissolvido, sistema operacional e outros parâmetros microbiológicos, o tempo de fermentação pode variar (MARSH et al., 2014).

2.1 COMPONENTES

Para que a fermentação ocorra é necessária a junção de algumas matérias-primas, sendo elas: o chá adoçado, preferencialmente da planta *Camellia sinensis*, a cultura de bactérias e leveduras (*SCOBY*) e o chá de arranque.

No presente trabalho foram conduzidos testes onde os chás adoçados utilizados são a base de chá verde (*Camellia sinensis*), hortelã (*Mentha viridis*) e uma *blenda* de ambos. Os chás de arranque utilizados são a base de chá verde, disponibilizados pela produtora Benvita® kombucha.

2.1.1 Chá verde

O chá verde, assim como o chá preto, branco, amarelo, vermelho e oolong, é obtido através da planta *Camellia sinensis* (DUARTE, MENARIM, 2006). Embora existam centenas de variedades de chás, a maioria pode ser classificada em três tipos, dependendo do nível de fermentação ou oxidação, ou seja, verde (não fermentado), oolong (parcialmente fermentado) e chá preto (fermentado) (CHENG, 2006).

Utilizam-se chás derivados da planta *Camellia sinensis* para a produção da kombucha devido seus altos níveis de taninos (polifenóis), cafeína e nitrogênio, tornando-os chás ideais para o crescimento das diversas famílias de bactérias e leveduras presentes na bebida (COSKUN, KAYISOGLU, 2020).

Os flavonoides e as catequinas são os principais componentes químicos terapêuticos da planta *Camellia sinensis*, considerados potentes antioxidantes, potenciais transformadores de radicais livres, quelantes de metais e inibidores da peroxidação lipídica (RENZ, 2003). As catequinas pertencem a um grupo de polifenóis e são compostos incolores e hidrossolúveis que contribuem para o amargor e a adstringência do chá (SAIGG, SILVA, 2009).

2.1.2 Chá de hortelã

A hortelã produz um dos mais consumidos chás de ervas do mundo. Suas folhas contêm compostos fenólicos como o ácido rosmarínico (AR) e vários flavonoides como a eriocitrina, luteolina e hesperidina (COSKUN, KAYISOGLU, 2020).



A flavonona hesperidina influencia a permeabilidade vascular, aumenta a resistência capilar e tem propriedades analgésicas e anti-inflamatórias, além do efeito antioxidante nos radicais livres relacionados ao câncer (DEL RÍO et al., 2004). Já a eriocitrina possui potentes ações biológicas devido à sua forte atividade antioxidante, antitumoral, antialérgica, antidiabética e anti-inflamatória (YAO et al., 2022).

O interesse no uso de chás de ervas e plantas medicinais como substratos de kombucha aumentou ao longo dos anos, com vários estudos buscando aproveitar ao máximo os benefícios à saúde e propriedades funcionais associados às ervas (NYHAN et al., 2022). As ervas tais como a hortelã, camomila, alecrim, sálvia e outras foram consideradas inadequadas inicialmente para a produção da kombucha devido aos efeitos negativos de seus óleos voláteis e sua fraca acidificação (REISS, 1987). Porém, o estudo de Velicanski, Cvetkovic e Markov (2012) comprovou que a bebida poderia ser produzida utilizando chás de hortelã-pimenta ou tomilho, resultando em comparáveis ou mais curtos períodos de fermentação.

2.1.3 Chá de arranque

O chá de arranque ou chá *starter* é uma solução líquida ácida de kombucha que já passou pelo processo de fermentação (HARRISON, CURTIN, 2021). Por ser um líquido com baixo pH, confere proteção à cultura contra organismos estranhos à bebida, que não sobrevivem à baixos níveis de pH, inibindo o desenvolvimento destes (REISS, 1994). Os pesquisadores de partes diversas do mundo estudaram diferentes quantidades de chá de arranque para a inoculação inicial: 20% do volume total da bebida que se deseja produzir (CHEN, LIU, 2000), 15% (MALBASA et al., 2006; LONCAR et al., 2006) e 10% (LONCAR et al., 2006; MALBASA et al., 2002; JAYABALAN et al., 2007). A partir desses estudos, a porcentagem de inoculação na maioria dos experimentos posteriores passou a utilizar 10% (v/v), pois essa quantidade já possui os microrganismos necessários para a fermentação da bebida.

2.1.4 Substrato

O açúcar é parte essencial para a fermentação da bebida, uma vez que serve de substrato para o crescimento das bactérias e leveduras. Usualmente ele é

adicionado ao chá a uma concentração de 10%, dependendo da quantidade de bebida que se deseja produzir (CHEN, LIU, 2000; LONCAR et al., 2006; JAYABALAN et al., 2007). Em 1994, o microbiologista alemão Jürgen Reiss também efetuou testes fermentativos com diferentes concentrações de açúcar na primeira fermentação da bebida: 30 g/L, 50 g/L, 70 g/L e 100 g/L. No estudo de Reiss (1994) é notável que 50 gramas de sacarose por litro forneceu as maiores quantidades de etanol e ácido láctico, e exatamente essa mesma concentração de açúcar tem sido utilizada em receitas tradicionais para a produção de kombucha por um longo tempo.

2.2 PROCESSO DE FERMENTAÇÃO

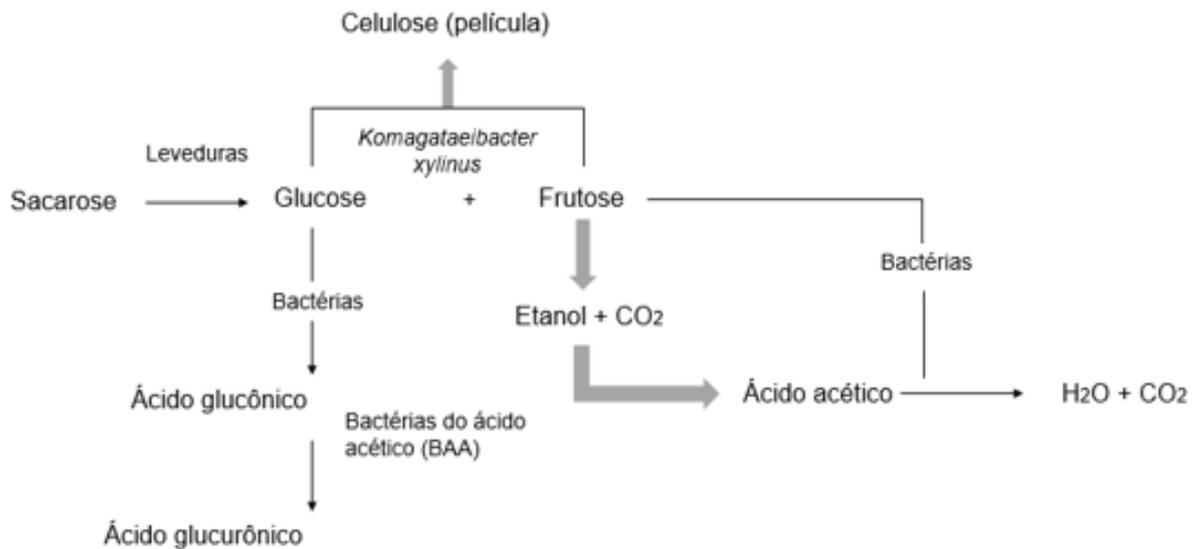
A fermentação da kombucha acontece em dois estágios quando não há a saborização da bebida. A primeira fermentação com duração de 7 a 10 dias (JAYABALAN et al., 2014) para a fermentação da bebida em si, e a segunda fermentação de 3 a 10 dias para a carbonatação (gaseificação).

2.2.1 Primeira fermentação

A primeira fermentação ocorre quando as leveduras fermentam o açúcar no meio de cultivo em etanol, que é posteriormente oxidado pelas bactérias acetogênicas para produzir ácido acético, resultando na redução do pH do meio. As bactérias dominantes na cultura da kombucha são as *Acetobacter* (AAB), que são bactérias aeróbicas capazes de utilizar o álcool como substrato para formar o ácido acético. Essas bactérias, ao contrário das leveduras, requerem grandes quantidades de oxigênio para seu crescimento e atividade (SOTO et al., 2018).

O ácido acético produzido protege as leveduras contra outras espécies que não estão tão bem adaptadas a um substrato ácido (REISS, 1994). Além do ácido acético, o líquido fermentado também contém ácido glucônico, glucurônico e láctico (MARKOV, VELIĆANSKI, CVETKOVIĆ, 2006). A Fig.1 apresenta o esquema de fermentação da bebida proposto por Markov (2003).

Figura 1: Processo de fermentação da kombucha.



Fonte: (SOTO et al., 2018) adaptado de (MARKOV et al., 2003).

De forma resumida, neste processo as leveduras hidrolisam a sacarose do chá em frutose e glicose pela ação da enzima invertase, e produzem etanol e dióxido de carbono (JAYABALAN et al., 2014).

O processo da primeira fermentação deve ocorrer à temperatura ambiente, pois a maioria das bactérias e leveduras presentes na bebida sobrevivem nestas condições. Geralmente, os valores de temperatura da fermentação do kombucha variam entre 22 °C e 30 °C (SOTO et al., 2018). Outros autores ainda consideram 28 °C a temperatura ideal para a fermentação (PETROVIC et al., 1995–1996 *apud* LONCAR et al., 2006).

Em relação ao pH, este é um fator usado para controlar a fermentação e determinar o fim do processo fermentativo (MALBASA et al., 2008). O pH é um dos parâmetros mais importantes que afetam a fermentação da kombucha, pois alguns dos ácidos formados como acético e glucônico, podem ser responsáveis pelas atividades biológicas das bebidas resultantes (SOTO et al., 2018). Segundo Jayabalan et al. (2010), um pH final de 2,5 sinaliza o fim do processo fermentativo. Em contrapartida, Loncar et al. (2006) sugere que o valor de pH aceitável não deve cair abaixo de 3, que é o mesmo nível do pH do aparelho digestivo do corpo humano.

2.2.2 Segunda fermentação

Diferente da primeira fermentação, esta acontece em ambiente anaeróbico, onde o líquido será filtrado, envasado numa garrafa fechada e deixado à temperatura ambiente. Para garrafas de plástico, a kombucha estará carbonatada assim que a garrafa ficar firme (SANTOS, 2016). Após, deverá ser armazenada em ambiente refrigerado a cerca de 4 °C, para melhorar seu aspecto sensorial e reduzir a velocidade de fermentação, pois as bactérias e leveduras ainda são viáveis na bebida (MIRANDA et al., 2022). Este processo irá conferir gás à bebida devido a intensificação na geração de CO₂ desta etapa.

2.3 SCOBY E PELÍCULA CELULÓSICA

O SCOBY é o acrônimo para cultura simbiótica de bactérias e leveduras microbiologicamente ativas, que são as culturas de bactérias e leveduras que compõe a bebida e realizam os processos microbiológicos da fermentação (TEOH, HEARD, COX, 2004). Já a película celulósica é apenas um subproduto desta fermentação, que é formada durante a primeira fermentação (MALBASA et al., 2011).

Existem vários tipos de bactérias que podem produzir a celulose. Entre o gênero *Acetobacter*, a espécie dominante é a *Acetobacter xylinum*, que foi reclassificada como *Gluconacetobacter xylinus* e depois para *Komagataeibacter xylinus* (YAMADA et al., 2012). Durante a fermentação, o *Acetobacter xylinum* (*Komagataeibacter xylinus*) produzirá uma fina película de celulose, onde se liga uma massa celular de bactérias e leveduras (MALBASA et al., 2011).

Apesar dessa película ser um subproduto e não ser a essencial fonte da fermentação, o estudo de Marsh et al. (2014) propõe que na película existe uma variedade maior de microrganismos em comparação à bebida, pois muitas das bactérias e leveduras preferem o ambiente da celulose ao do líquido.

2.4 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) determinou em 2019 as características aceitas para a comercialização das kombuchas no Brasil.

A legislação traz consigo alguns ingredientes obrigatórios que devem compor a bebida como: Água potável, conforme estabelecido em legislação específica do Ministério da Saúde, de acordo com a Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011); Infusão ou extrato aquoso de *Camellia sinensis*; Açúcares, conforme legislação específica da ANVISA, Resolução RDC nº 271, de 22 de setembro de 2005 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005); Cultura simbiótica de bactérias e leveduras (SCOPY) adequadas para fermentação alcoólica e acética, desde que garantida a sua inocuidade à saúde humana (MAPA, 2019).

O MAPA (2019) define também níveis aceitos de pH, teor alcoólico para kombucha alcoólica e não alcoólica, acidez volátil e pressão (para kombuchas com carbonatação forçada). Os níveis aceitos estão apresentados na Tab. 1.

Tabela 1: Parâmetros definidos pelo MAPA para comercialização da kombucha.

Parâmetro	Mínimo	Máximo
pH	2,5	4,2
Graduação alcoólica (% v/v) kombucha sem álcool	-	0,5
Graduação alcoólica (% v/v) kombucha com álcool	0,6	8,0
Acidez volátil (mEq/L)	30	130
Pressão (atm a 20 °C) na kombucha adicionada de CO ₂	1,1	3,9

Fonte: MAPA (2019).

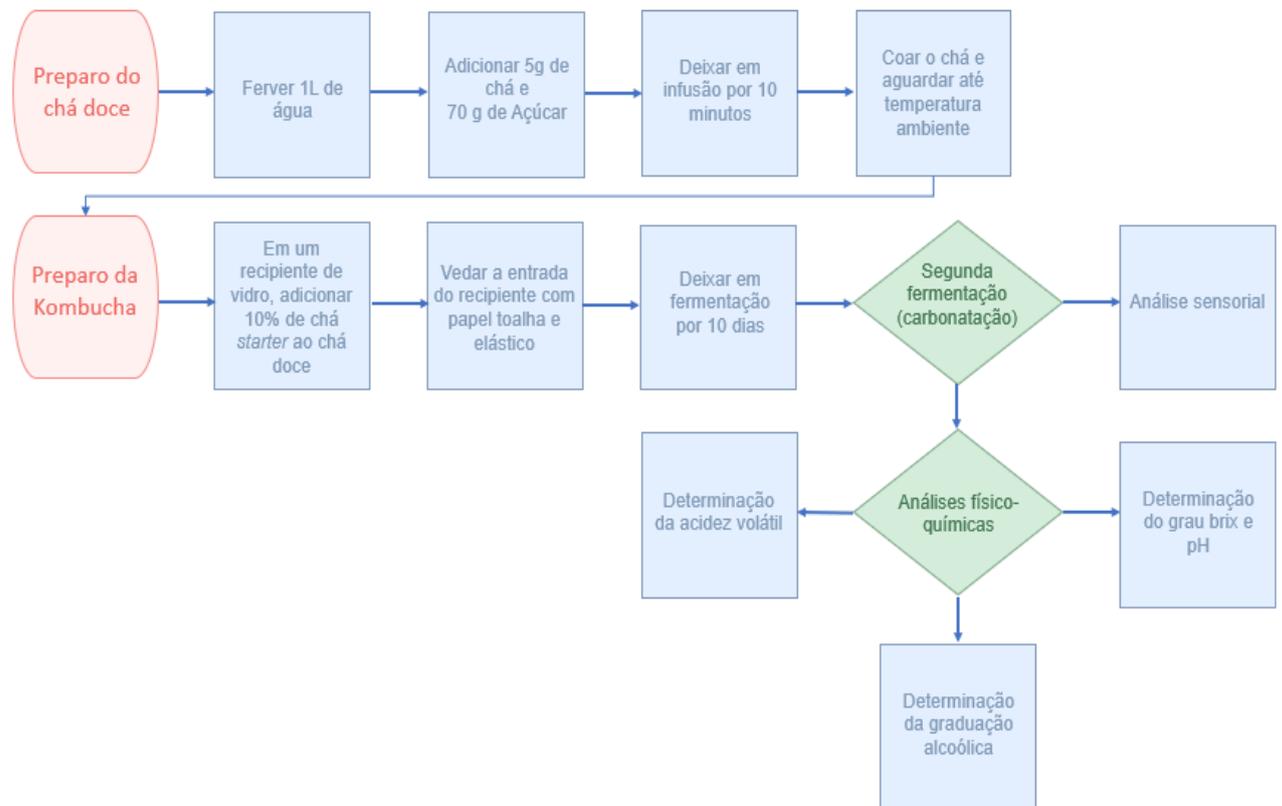
3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

O procedimento experimental foi dividido em três etapas: Na preparação das bebidas, nos testes físico-químicos e na análise sensorial das mesmas. O método de preparo e as análises efetuadas foram as mesmas para as três infusões propostas. As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Química II do curso de Engenharia Química da UNISATC e no Instituto de Pesquisas Ambientais Tecnológicas (IPAT).

3.1 FLUXOGRAMA DE PREPARO DAS KOMBUCHAS

A Fig. 2 apresenta o fluxograma do processo, com as etapas de preparo das bebidas desde o preparo dos chás adoçados.

Figura 2: Fluxograma do processo de preparação e análise das kombuchas.



Fonte: Do autor (2023).

3.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas das kombuchas produzidas foram feitas a fim de comparar os níveis de pH, acidez volátil e graduação alcoólica requeridos na legislação brasileira. Também foi medido o grau brix para analisar o consumo de açúcar ao longo do processo.

3.2.1 Potencial hidrogeniônico (pH)

O pH das bebidas foi medido a cada três dias até o final da fermentação, tendo a primeira medição no momento em que o chá adoçado foi adicionado ao chá *starter*. Nesta etapa foi utilizado o pHmetro de bancada da marca QUIMIS modelo Q400AS.

3.2.2 Acidez volátil

A metodologia utilizada para a obtenção da acidez volátil das bebidas seguiu a norma MTFQ-072 rev.02 para bebidas fermentadas, utilizando a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008). A medição da acidez volátil foi realizada no fim do período fermentativo das bebidas, e o cálculo utilizado para determinação de acidez volátil é observado na Eq. (1).

$$\text{acidez volátil em } \frac{mEq}{L} = \frac{n * f * N * 1000}{V} \quad (1)$$

n = volume de solução de hidróxido de sódio gasto na titulação (mL);

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio (adimensional);

N = normalidade da solução de hidróxido de sódio (adimensional);

V = volume da amostra (mL).

3.2.3 Etanol

Para a análise do teor alcoólico das bebidas, foi reproduzida a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008), segundo a norma MTFQ-072 rev.02 para bebidas fermentadas. A análise foi realizada ao fim do período de fermentação.

3.2.4 Grau brix

Brix (símbolo °Bx) é uma escala numérica que mede a quantidade de sólidos solúveis em uma solução de sacarose. A escala Brix é utilizada na indústria de alimentos para medir a quantidade aproximada de açúcares em sucos de fruta, vinhos e na indústria de açúcar (UNIVAP, 2011).

Ao longo do processo fermentativo foi realizada a análise de grau brix das bebidas, a fim de acompanhar o decaimento nos níveis de açúcar das culturas. A medição foi efetuada no primeiro e último dia de fermentação, para comparar a quantidade consumida de açúcar no processo utilizando um refratômetro analógico da marca Lorben.



3.3 ANÁLISE SENSORIAL

As análises sensoriais foram realizadas na UNISATC, composta por 40 degustadores não treinados, utilizando a escala hedônica de 9 pontos para determinar o nível de satisfação do degustador quanto a cada bebida. Para isto, as três amostras de kombuchas produzidas foram dispostas em copos para degustação, posteriormente as fichas foram preenchidas entre “gostei extremamente” (9) e “desgostei extremamente” (1) em relação a cada uma das bebidas.

Os degustadores também avaliaram individualmente a intensidade de aroma, sabor, aparência, nível de gás e intenção de compra de cada uma das kombuchas, utilizando a escala hedônica de 5 pontos. Para as avaliações de aroma, sabor e nível de gás a classificação varia entre “imperceptível” (1) e “muito perceptível” (5). Para as avaliações de aparência, as bebidas foram classificadas entre “muito desagradável” (1) e “muito agradável” (5). Por fim, a intenção de compra pôde ser classificada entre “certamente não compraria” (1) a “certamente compraria” (5). A Fig. 3 apresenta a Ficha de Análise Sensorial utilizada para a avaliação sensorial das bebidas produzidas.

Figura 3: Ficha de Análise Sensorial.

FICHA DE ANÁLISE SENSORIAL

Nome: _____ Idade: _____ Sexo: _____

Você está recebendo três amostras de Kombucha. A partir da degustação dessas três amostras, avalie-as de forma geral utilizando a escala hedônica de 9 pontos:

Nota geral para cada amostra

(9) Gostei extremamente	() Amostra 1 () Amostra 2 () Amostra 3
(8) Gostei muito	
(7) Gostei moderadamente	
(6) Gostei ligeiramente	
(5) Indiferente	
(4) Desgostei ligeiramente	
(3) Desgostei moderadamente	
(2) Desgostei muito	
(1) Desgostei extremamente	

Características específicas

Utilizando a escala hedônica de 5 pontos, avalie as bebidas quanto ao aroma, sabor e nível de gás:

Escala	Aroma	Sabor	Nível de gás
(5) Muito perceptível	() Amostra 1 () Amostra 2 () Amostra 3	() Amostra 1 () Amostra 2 () Amostra 3	() Amostra 1 () Amostra 2 () Amostra 3
(4) Perceptível			
(3) Indiferente			
(2) Pouco perceptível			
(1) Imperceptível			

Aparência da bebida e intenção de compra

Utilizando a escala hedônica de 5 pontos, avalie as bebidas quanto a sua aparência e intenção de compra:

Escala	Aparência	Escala	Intenção de compra
(5) Muito agradável	() Amostra 1 () Amostra 2 () Amostra 3	(5) Certamente compraria	() Amostra 1 () Amostra 2 () Amostra 3
(4) Agradável		(4) Talvez compraria	
(3) Indiferente		(3) Indiferente	
(2) Pouco agradável		(2) Talvez não compraria	
(1) Muito desagradável		(1) Certamente não compraria	

Fonte: Do autor (2023).

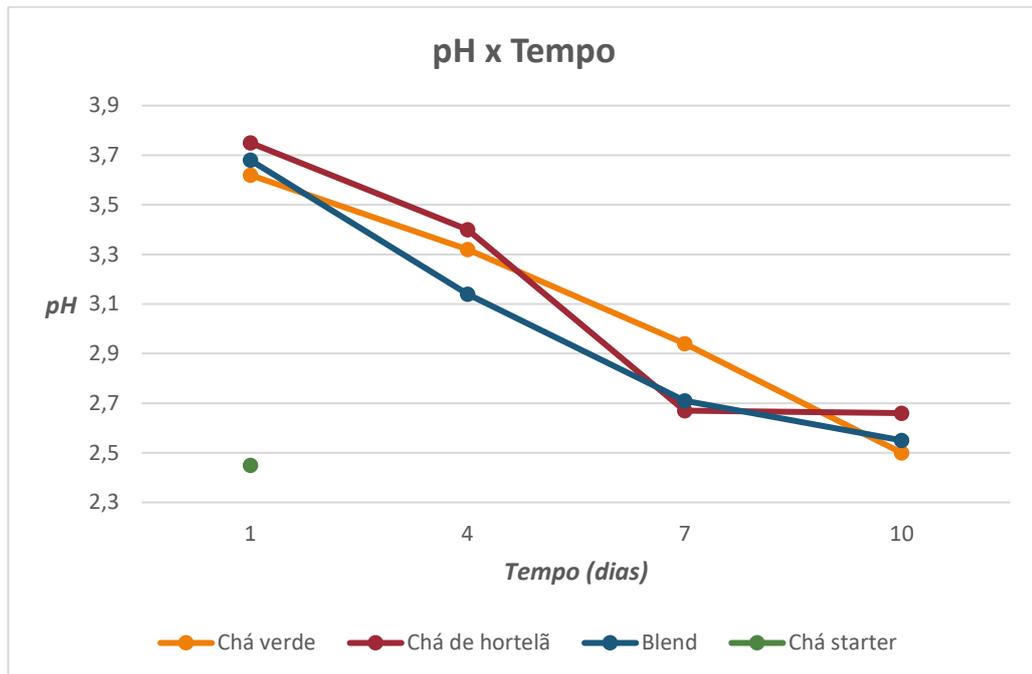
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Abaixo estão discorridos os resultados e discussões obtidos através dos testes físico-químicos e análises sensoriais efetuadas para cada uma das amostras, após 10 dias totais da primeira fermentação.

4.1 pH

A Fig. 4 expressa o decaimento dos valores de pH com o passar dos dias no acompanhamento da fermentação das bebidas, onde os dados foram coletados em uma diferença de três dias para cada valor.

Figura 4: pH das bebidas *versus* Tempo de fermentação em dias.



Fonte: Do autor (2023).

Os resultados comprovam que com o passar dos dias as bactérias e leveduras estavam efetuando a fermentação das bebidas, com a transformação do substrato (açúcar) em ácido acético, promovendo assim a diminuição do potencial hidrogeniônico das amostras. No último dia da primeira fermentação, observou-se que todas as três bebidas estavam dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira para pH das kombuchas, com mínimo de 2,5 e máximo 4,2 (MAPA, 2019). Os resultados também cumprem com os valores propostos por Jayabalan et al. (2010), onde o pH final de 2,5 sinaliza o fim do processo fermentativo.

Comparando os resultados entre si, observa-se que as curvas de decaimento das culturas compostas por chá verde e *blend* de chás mantiveram um decaimento proporcional e linear, enquanto o chá de hortelã teve uma variação abrupta na segunda medição, isso pode ser derivado de um erro de medição ou pela lenta acidificação inicial da própria hortelã, onde teve maior atividade microbiológica a partir dos primeiros dias de medição.

4.2 GRAU BRUX

A Tab. 2 representa as medições de grau brix (açúcar) de cada uma das bebidas no primeiro e último dia de fermentação.

Tabela 2: Medições do grau brix das bebidas.

Tipo de chá	Grau brix do início da fermentação (°Bx)	Grau brix do fim da fermentação (°Bx)
Chá verde	5,0	2,0
<i>Blend</i>	5,0	1,2
Chá de hortelã	5,0	1,9

Fonte: Do autor (2023).

No primeiro dia em que as culturas foram inoculadas e o processo fermentativo ainda não tinha sido iniciado, o grau brix de todas as bebidas marcou em 5 °Bx, isso porque a mesma quantidade de açúcar, de 70 g, foi adicionada a cada litro de cultura. Ao fim do processo observa-se que o grau brix de todas elas diminuíram semelhantemente, expressando o consumo de açúcar pelas bactérias e leveduras. A mistura de chá verde e hortelã resultou no maior consumo entre os chás, com uma diminuição de 3,8 °Bx.

Em teoria como o chá verde é o chá mais adequado para a fermentação da kombucha, haveria um maior consumo de açúcar pela atividade das bactérias e leveduras, o que não ocorreu. Portanto, a presença do chá de hortelã influenciou a fermentação do *Blend*.

4.3 ACIDEZ VOLÁTIL E GRADUAÇÃO ALCOÓLICA

A Tab. 3 representa os resultados dos testes de acidez volátil e porcentagem alcoólica das bebidas ao fim do processo fermentativo, realizados no Instituto de Pesquisas Ambientais Tecnológicas (IPAT), seguindo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008), segundo a norma MTFQ-072 rev.02 para bebidas fermentadas.

Tabela 3: Acidez volátil e graduação alcoólica das kombuchas.

Tipo de chá	Acidez volátil (mEq/L)	Graduação alcoólica (%)
Chá verde	15,07	0,0
<i>Blend</i>	14,58	0,0
Chá de hortelã	17,49	0,0

Fonte: Do autor (2023).

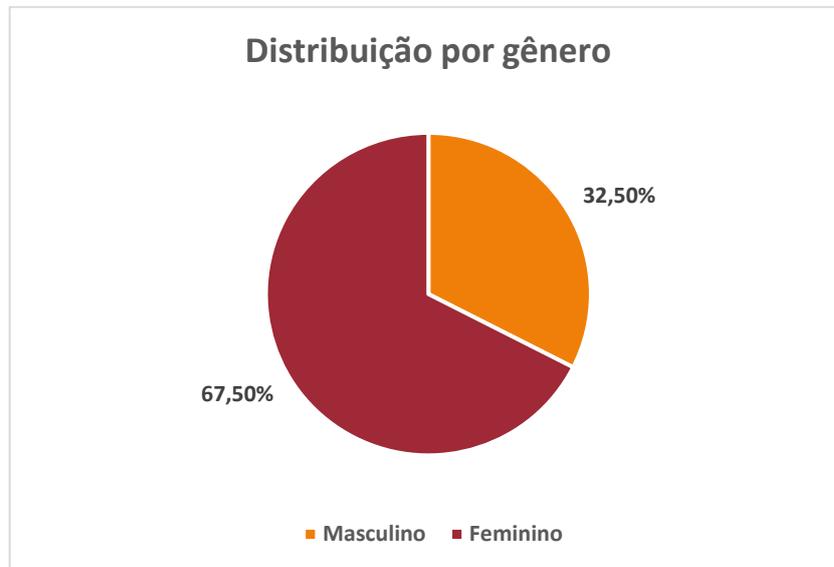
Em termos de acidez volátil todas as bebidas tiveram valores aproximados a 15 mEq/L, que é metade do nível mínimo requerido pela legislação (30mEq/L e 130mEq/L). Em relação a graduação alcoólica, todos os tipos de chás estavam dentro dos padrões exigidos pelo MAPA para kombuchas não alcoólicas, resultando em um valor satisfatório de 0% de álcool.

Os resultados descritos expressaram que, apesar das bactérias converterem todo o álcool em ácidos, a quantidade não foi suficiente para alcançar a acidez volátil requerida pela legislação, então as kombuchas não estavam ácidas o suficiente. Para suprir a necessidade de ácidos, seria interessante adicionar quantidades maiores de açúcar na fermentação, para que as leveduras possam produzir mais álcoois e conseqüentemente, para que as bactérias consigam converter maiores números de ácidos voláteis, conforme proposto por Markov (2003) na Fig. 1.

4.4 ANÁLISES SENSORIAIS

Quarenta voluntários não treinados participaram das análises sensoriais conduzidas na UNISATC. A Fig. 5 apresenta a distribuição por gênero dos participantes, onde observa-se mais participantes do gênero feminino, com um resultado de 67,50% registrado para mulheres e 32,50% para homens.

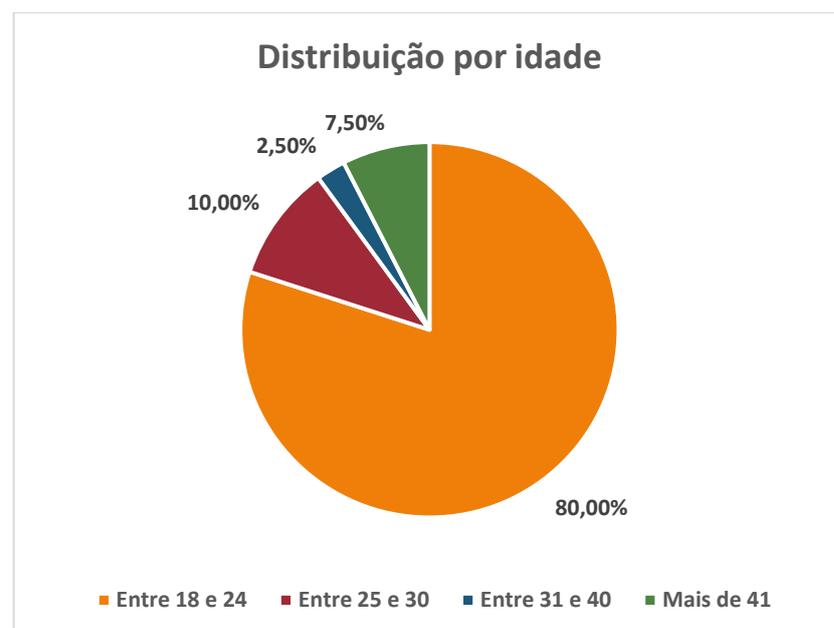
Figura 5: Distribuição de gênero dos degustadores.



Fonte: Do autor (2023).

Já a Fig. 6 apresenta a distribuição por faixa etária dos participantes. Como as análises foram feitas com alunos e colaboradores da Instituição, a maior parcela amostrada foi de jovens entre 18 e 24 anos, representando um percentual de 80%, seguido por 10% de voluntários entre 25 e 30 anos, 2,5% entre 31 e 40 anos e 7,5% com 41 anos ou mais.

Figura 6: Distribuição por idade dos degustadores.

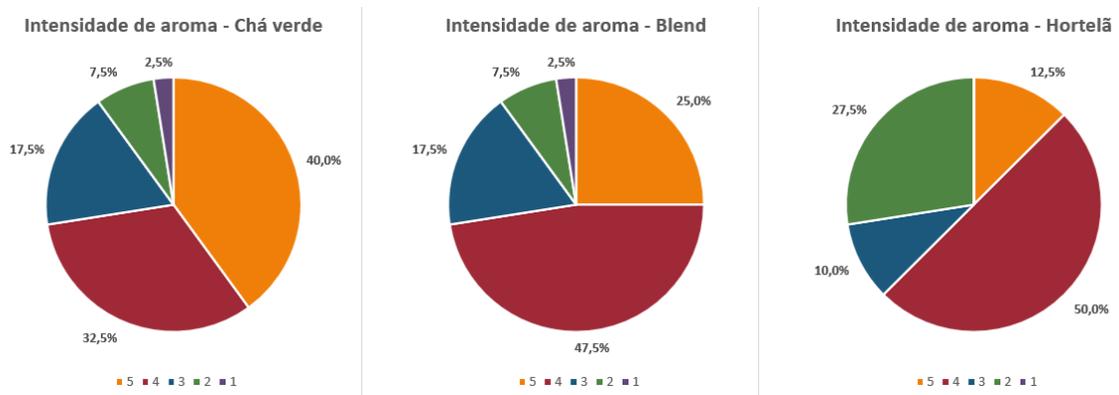


Fonte: Do autor (2023).

Foi solicitado aos degustadores para que avaliassem as bebidas em cinco parâmetros: intensidade de aroma, intensidade de sabor, nível de gás, aparência e intenção de compra. Além disso, os participantes também deram uma nota geral para cada bebida amostrada.

Os degustadores avaliaram o aroma, sabor e nível de gás entre 5 (“Muito perceptível”), 4 (“Perceptível”), 3 (“Indiferente”), 2 (“Pouco perceptível”) e 1 (“Imperceptível”). A Fig. 7 representa a distribuição das avaliações quanto a intensidade de aroma.

Figura 7: Avaliação da intensidade de aroma das kombuchas.

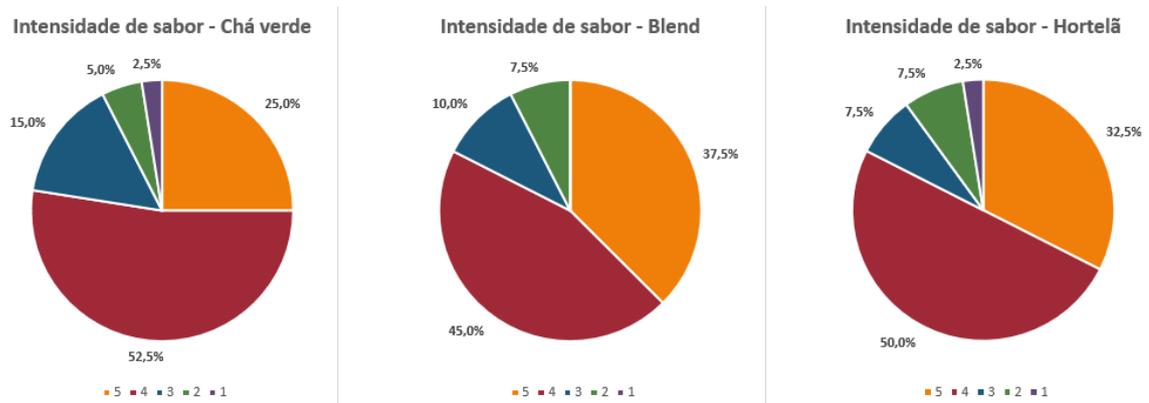


Fonte: Do autor (2023).

Para todas as bebidas amostradas observa-se que o aroma estava bem perceptível, visto que todas as kombuchas atingiram porcentagens maiores que 60% para a soma das notas 4 e 5. A kombucha de hortelã foi a que mostrou maiores avaliações de aroma “pouco perceptível” ou “imperceptível”, o que pode ser resultado do cheiro suave proveniente da hortelã em comparação ao chá verde.

As avaliações quanto ao sabor estão apresentadas na Fig. 8, onde observa-se que todas as bebidas seguiram um padrão com fortes avaliações de sabor “perceptível” ou “muito perceptível”, visto que a característica da kombucha ser ácida e refrescante continua presente em todos os sabores amostrados igualmente.

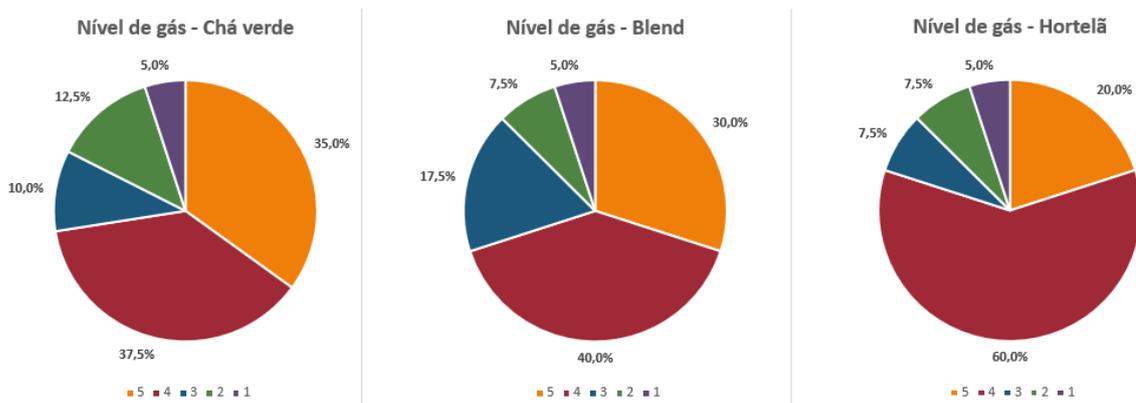
Figura 8: Avaliação da intensidade de sabor das kombuchas.



Fonte: Do autor (2023).

Em relação ao nível de gás (Fig. 9), as amostras também demonstraram grande perceptibilidade, com destaque para a bebida de chá verde que apontou o maior percentual de avaliações “muito perceptível”, com 35% registrados. Além disso, mais da metade dos degustadores (60%) indicou que o nível de gás da kombucha de hortelã aparentava “perceptível”, então a bebida adquiriu gás suficiente para degustação, com o mesmo tempo da segunda fermentação das outras amostras.

Figura 9: Avaliação do nível de gás das kombuchas.



Fonte: Do autor (2023).

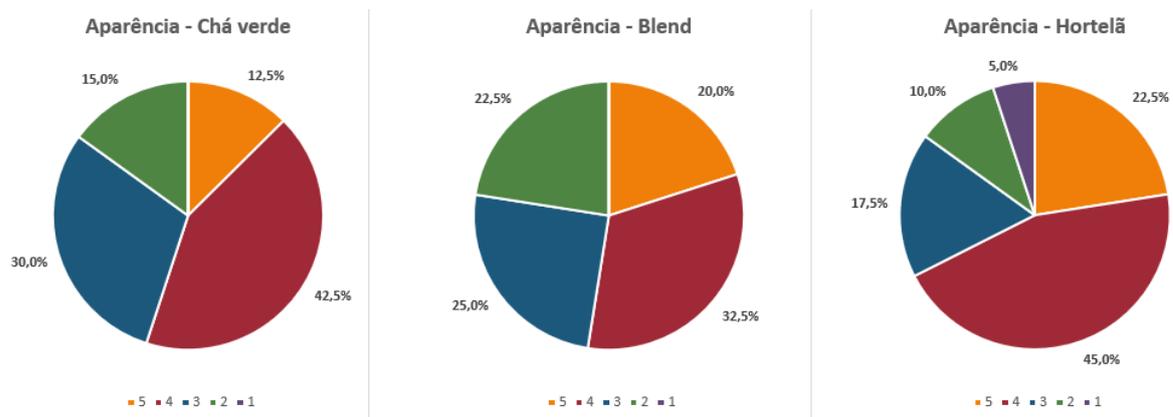
Os degustadores também avaliaram a aparência das bebidas, classificando-as entre 5 (“Muito agradável”), 4 (“Agradável”), 3 (“Indiferente”), 2 (“Pouco agradável”) e 1 (“Muito desagradável”).

Como todas as bebidas apresentavam coloração semelhante a um chá com cor esverdeada, as avaliações atingiram altos níveis de percentuais “Indiferentes”,

com 30% para o chá verde, 25% para o *blend* e 17,5% para a hortelã. Por ser uma bebida fermentada pela ação de bactérias e leveduras ainda havia resquícios de levedos em algumas amostras que, apesar de não serem prejudiciais, podem causar estranhamento dos degustadores, o que pode ter influenciado avaliações “pouco agradável” ou “muito desagradável” em todas as kombuchas.

Os resultados podem ser observados na Fig. 10.

Figura 10: Avaliação da aparência das kombuchas.

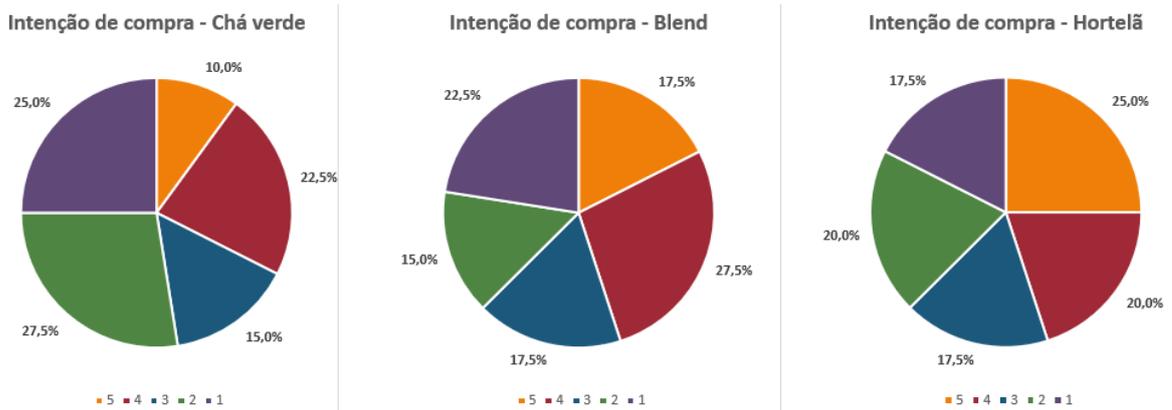


Fonte: Do autor (2023).

Para avaliar a intenção de compra das bebidas os degustadores classificaram cada amostra entre 5 (“Certamente compraria”), 4 (“Talvez compraria”), 3 (“Indiferente”), 2 (“Talvez não compraria”) e 1 (“Certamente não compraria”).

Como as kombuchas preparadas neste estudo não passaram pelo processo de savorização com frutas, especiarias ou outros chás, elas não possuíam o apelo necessário para a comercialização, não atingindo altos valores de aceitabilidade. Apesar disso é possível observar que as kombuchas de hortelã e *blend* foram as mais bem avaliadas neste quesito, visto que alcançaram porcentagens de “Certamente compraria” e “Talvez compraria” somadas de 45%, enquanto a kombucha de chá verde obteve apenas 32,5%. Os resultados estão amostrados na Fig. 11.

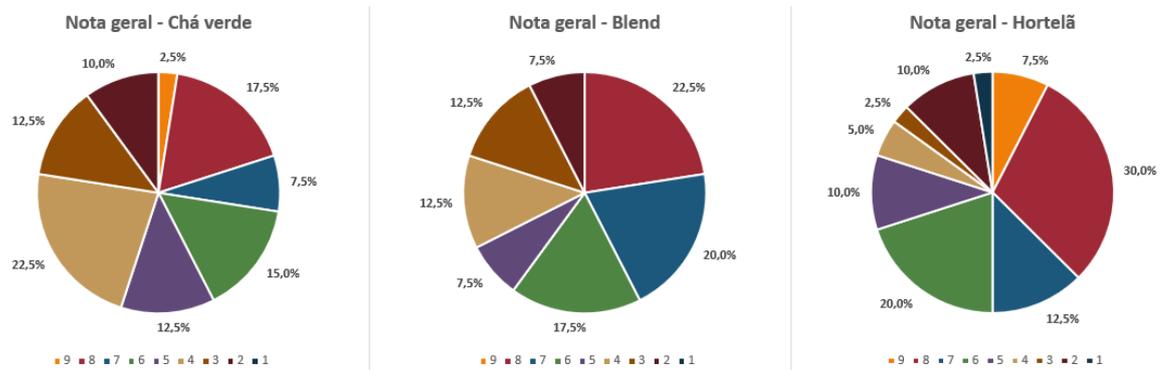
Figura 11: Avaliação de intenção de compra das kombuchas.



Fonte: Do autor (2023).

Por fim, os participantes utilizaram a escala hedônica de 9 pontos para avaliar as bebidas de maneira geral, dando notas entre 1 (“Desgostei extremamente”) e 9 (“Gostei extremamente”), conforme a Fig. 12.

Figura 12: Avaliação geral para cada kombucha.



Fonte: Do autor (2023).

Observando os resultados, a kombucha de hortelã teve a soma das avaliações de 6 a 9 em maiores percentuais, com 70% registrados, seguido por 60% da kombucha do *blend* de chá verde com hortelã e 42,5% da kombucha de chá verde. Esses valores mostram que a kombucha de hortelã foi a mais bem avaliada entre as três amostras.

5 CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos no trabalho evidencia-se que é possível utilizar outros tipos de infusões para a produção de kombuchas, e que estas obtenham até melhores resultados quando comparadas às infusões tradicionais utilizando chás derivados da planta *Camellia Sinensis*.

As análises físico-químicas realizadas estavam de acordo com os resultados propostos na legislação para teores de graduação alcoólica e pH, apesar dos valores de acidez volátil não alcançarem os requeridos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Para suprir a falta de acidez recomenda-se a utilização de concentrações maiores de açúcar por litro de bebida, de 80g/L a 100g/L, ou até maiores tempos de fermentação.

Além disso, a kombucha de hortelã recebeu boas notas gerais na avaliação sensorial, com 70% das notas entre 6 e 9. Em contrapartida, como todas as análises foram feitas no mesmo tempo de fermentação de 10 dias, para trabalhos futuros seria interessante a utilização de tempos diferentes de fermentação de cada sabor, visto que a kombucha de chá verde pode fermentar mais rápido que as outras culturas.

REFERÊNCIAS

- BLANC, P.J. **Characterization of the tea fungus metabolites**. 18. ed. Países Baixos: Biotechnology Letters, 1996. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/BF00128667>>. Acesso em: 29 abr. 2023.
- CARDOSO, R. R. et al. **Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities**. [S. l.]: Food Research International, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108782>>. Acesso em: 23 abr. 2023.
- CHEN, C.; LIU, BY. **Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation**. 5. ed. Reino Unido: J Appl Microbiol., 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01188.x>>. Acesso em: 25 abr. 2023.
- CHENG, T. O. **All teas are not created equal: The Chinese green tea and cardiovascular health**. [S. l.]: International Journal of Cardiology, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2005.05.038>>. Acesso em: 23 abr. 2023.
- COSKUN, S.; KAYISOGLU, F. **Determination of physical and chemical properties of kombucha teas prepared with different herbal teas**. Campinas,



Brasil: Food Science and Technology, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/fst.12720>>. Acesso em: 22 abr. 2023.

DEL RÍO, J.A. et al. **Citrus limon: a source of flavonoids of pharmaceutical interest**. 3. ed. Barking, Reino Unido: Food Chemistry, 2004. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00272-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00272-3)>. Acesso em: 23 abr. 2023.

DUARTE, M. R.; MENARIM, D. O. **Morfodiagnose da anatomia folicular e caulinar de *Camellia sinensis* Kuntze, Theaceae**. 2006. Revista Brasileira de Farmacognosia, São Paulo, 16(4) v. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000400018>>. Acesso em: 23 abr. 2023.

EPIFANIO, M. **Prebióticos e probióticos nas fórmulas infantis: o que temos de evidência?** 2012. Disponível em: <https://www.sprs.com.br/sprs2013/bancoimg/131210152040bcped_12_01_03.pdf>. Acesso em: 14 abr. 2023.

FAO. **Tea**. 2022. Disponível em: <<https://www.fao.org/markets-and-trade/commodities/tea/en/>>. Acesso em: 26 mar. 2023.

GOOGLE TRENDS. **Kombucha**. 2023. Disponível em: <<https://trends.google.com.br/trends/explore?date=all&q=Kombucha&hl=pt-BR>>. Acesso em: 26 mar. 2023.

HARRISON, K.; CURTIN, C. **Microbial Composition of SCOBY Starter Cultures Used by Commercial Kombucha Brewers in North America**. 5. ed. [S. l.]: Microorganisms, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/microorganisms9051060>>. Acesso em: 30 abr. 2023.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 1020. Disponível em: <<https://wp.ufpel.edu.br/nutricaoobromatologia/files/2013/07/NormasADOLFOLUTZ.pdf>>. Acesso em: 30 abr. 2023.

JAYABALAN, R. et al. **A Review on Kombucha Tea: Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus**. [S. l.], 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>>. Acesso em: 23 abr. 2023.

JAYABALAN, R. et al. **Biochemical characteristics of tea fungus produced during kombucha fermentation**. 19. ed. Coréia: Food Science and Biotechnology, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10068-010-0119-6>>. Acesso em: 30 abr. 2023.

JAYABALAN, R. et al. **Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation**. 1. ed. Barking, Reino Unido: Food Chemistry, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.032>>. Acesso em: 25 abr. 2023.



LONČAR, E. et al. **Influence of Working Conditions Upon Kombucha Conducted Fermentation of Black Tea**. 3. ed. [S. l.]: Food and Bioproducts Processing, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1205/fbp.04306>>. Acesso em: 24 abr. 2023.

MALBAŠA, R. V. et al. **Effect of sucrose concentration on the products of Kombucha fermentation on molasses**. 3. ed. Barking, Reino Unido: Food Chemistry, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.069>>. Acesso em: 25 abr. 2023.

MALBAŠA, R. V. et al. **Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage**. 4. ed. Barking, Reino Unido: Food Chemistry, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.048>>. Acesso em: 24 abr. 2023.

MALBAŠA, R. V. et al. **Scale-Up of Black Tea Batch Fermentation by Kombucha**. 3. ed. [S. l.]: Food and Bioproducts Processing, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1205/fbp.05061>>. Acesso em: 25 abr. 2023.

MALBAŠA, R. V.; LONČAR, E. S.; KOLAROV, LJ. A. **Sucrose and Inulin Balance During Tea Fungus Fermentation**. Itália: PERIODICO di MINERALOGIA, 2002. Disponível em: <<https://periodicodimineralogia.it/wp-content/uploads/2022/02/20198816.pdf>>. Acesso em: 24 abr. 2023.

MAPA. **Instrução Normativa nº 41, de 17 de setembro de 2019**. 2019. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-41-de-17-de-setembro-de-2019-216803534>>. Acesso em: 26 mar. 2023.

MARKOV, S. et al. **Kombucha - functional beverage: Composition, characteristics and process of biotransformation**. 10. ed. Servia: Hemijska industrija, 2003. Disponível em: <<https://doiserbia.nb.rs/Article.aspx?id=0367-598X0310456S>>. Acesso em: 29 abr. 2023.

MARKOV, S. VELIĆANSKI, A.; CVETKOVIĆ, D. **Use of tea fungus isolate as starter culture for obtaining of kombucha**. Annals of the faculty of engineering hunedoara, 2006. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/267678812>>. Acesso em: 24 abr. 2023.

MARSH, A. et al. **Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples**. Alemanha: Food Microbiology, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.09.003>>. Acesso em: 22 abr. 2023.

MCGOVERN, P. E; FLEMING, S. J; KATZ, S. H. **The Origins and Ancient History of Wine**. 1996. Disponível em: <<https://doi.org/10.4324/9780203392836>>. Acesso em: 25 mar. 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Anvisa. **RESOLUÇÃO-RDC Nº 271, DE 22 DE SETEMBRO DE 2005**. 2005. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0271_22_09_2005.html>. Acesso em: 30 abr. 2023.



MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Gabinete do Ministro. **Portaria Nº 2.914, de 12 de Dezembro de 2011**. 2011. Disponível em:

<https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html>. Acesso em: 30 abr. 2023.

MIRANDA, J. F. de et al. **Kombucha: A review of substrates, regulations, composition, and biological properties**. 5. ed. Chicago: Food Science, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/1750-3841.16029>>. Acesso em: 20 maio 2023.

NYHAN, L. M. et al. **Advances in Kombucha Tea Fermentation: A Review**. 1. ed. Reino Unido: Applied Microbiology, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/applmicrobiol2010005>>. Acesso em: 24 abr. 2023.

REISS, J. **Der Teepilz und seine Stoffwechselproducte**. Alemanha. Leb. 1987, v 83, p 286–290.

REISS, J. **Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus**. 6. ed. Alemanha: European Food Research and Technology, 1994. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/BF01192606>>. Acesso em: 25 abr. 2023.

RENZ, S. V. **OXIDAÇÃO E ANTIOXIDANTES**. [S. l.], 2003. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2020/11/oxidacao_antioxidantes.pdf>. Acesso em: 23 abr. 2023.

RIBEIRO, L. S. **KOMBUCHA: O QUE DIZEM AS PESQUISAS BRASILEIRAS DOS ÚLTIMOS CINCO ANOS (2015 – 2020)?**. [S. l.], 2021. Disponível em: <<http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/59479>>. Acesso em: 25 mar. 2023.

SAIGG, N. L, SILVA M. C. **EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DO CHÁ VERDE NA SAÚDE HUMANA**. [S. l.], 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.5102/ucs.v7i1.882>>. Acesso em: 22 abr. 2023.

SANTOS, M. F. dos. **Kombucha: caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração**. [S. l.], 2016. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10362/19346>>. Acesso em: 20 maio 2023.

SIEVERS, M. et al. **Microbiology and Fermentation Balance in a Kombucha Beverage Obtained from a Tea Fungus Fermentation**. 4. ed. [S. l.]: Systematic and Applied Microbiology, 1995. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(11\)80420-0](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(11)80420-0)>. Acesso em: 23 abr. 2023.

SOTO, S. A. V. et al. **Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review**. [S. l.], 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/1750-3841.14068>>. Acesso em: 23 abr. 2023.



TEOH, A. L.; HEARD, G.; COX, J. **Yeast ecology of Kombucha fermentation**. 2. ed. Alemanha: International Journal of Food Microbiology, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.12.020>>. Acesso em: 30 abr. 2023.

UNIVAP. Universidade do Vale do Paraíba. Refratometria. Determinação do índice de refração de líquidos. **2011**. Disponível em: <https://www1.univap.br/spilling/FQE2/FQE2_EXP11_Refratometria.pdf> Acesso em: 10 nov. 2023.

VELIĆANSKI, A.; CVETKOVIĆ, D.; MARKOV, S. **Characteristics of kombucha fermentation on medicinal herbs from Lamiaceae family**. 1. ed. Romania: Biotechnological Letters, 2012. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/267032775>>. Acesso em: 24 abr. 2023.

YAMADA, Y. et al. **Description of Komagataeibacter gen. nov., with proposals of new combinations (Acetobacteraceae)**. 5. ed. Tokyo, Japão: The Journal of General and Applied Microbiology, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.2323/jgam.58.397>>. Acesso em: 29 abr. 2023.

YAO, L. et al. **Eriocitrin: A review of pharmacological effects**. [S. l.]: Biomedicine & Pharmacotherapy, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113563>>. Acesso em: 24 abr. 2023.