



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE**  
**ALIMENTOS**

**GABRIEL BARBOSA CÂMARA**

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDAS FERMENTADAS COM COPRODUTOS DE**  
**FRUTAS COM POTENCIAL ANTIOXIDANTE**

**FORTALEZA**

**2022**

GABRIEL BARBOSA CÂMARA

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDAS FERMENTADAS COM COPRODUTOS DE  
FRUTAS COM POTENCIAL ANTIOXIDANTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dra. Larissa Morais Ribeiro da Silva.

Co-orientadora: Dra. Giovana Matias do Prado

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- C172d Câmara, Gabriel Barbosa.  
Desenvolvimento de bebidas fermentadas com coprodutos de frutas com potencial antioxidante /  
Gabriel Barbosa Câmara. – 2022.  
73 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de  
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2022.  
Orientação: Profa. Dra. Larissa Morais Ribeiro da Silva .  
Coorientação: Profa. Dra. Giovana Matias do Prado .
1. subprodutos. 2. fermentação. 3. alimento funcional. 4. inovação. I. Título.

CDD 664

---

GABRIEL BARBOSA CÂMARA

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDAS FERMENTADAS COM COPRODUTOS DE  
FRUTAS COM POTENCIAL ANTIOXIDANTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovado em: 23/02/2022

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Larissa Moraes Ribeiro da Silva (Orientadora)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dra. Giovana Matias do Prado (Co-orientadora)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Júlio Cesar Barbosa Rocha

Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Vanessa Bordin Viera

Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

---

Profa. Dra. Eveline de Alencar Costa

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Á Deus.

Aos meus pais, Luís Carlos e Valdeleida.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço ao meu bom Deus e a Nossa Senhora, que sempre está presente em minha vida com seu infinito amor e bondade, iluminando e orientando meus caminhos.

Aos meus pais, por sempre acreditarem no meu potencial e por tornarem este sonho possível, minha eterna gratidão por todo amor e carinho repassado.

Aos meus irmãos, por todo apoio e amor.

À minha família, por todo amor e apoio.

Aos meus amigos, por sempre estarem ao meu lado, apoiando e incentivando.

À minha estimada orientadora Larissa, por todo apoio, paciência e carinho durante esta caminhada, agradeço por sempre estar à disposição e por todos os conhecimentos e ensinamentos repassados durante esta jornada, obrigado por tudo.

À minha co-orientadora Giovana, por sempre estar à disposição para me orientar, deixo aqui expresso toda minha gratidão.

Aos professores Paulo Henrique, Vanessa Bordin e Helvia, por todo apoio durante o desenvolvimento desta pesquisa, vocês foram essenciais.

Aos membros participantes da banca examinadora, Dr. Júlio Cesar, Dra. Vanessa Bordin e Dra. Eveline de Alencar, pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos técnicos e bolsistas dos laboratórios de Microbiologia, NUPEA e LABFRUTOS, por todo apoio e assistência, vocês foram fundamentais.

Aos colegas e amigos, Amélia Ruth, Liandra, Augusto, Jéssica e Rafael, por todo apoio e parceria durante o desenvolvimento desta pesquisa, deixo aqui minha gratidão.

À Empresa Nossa Fruta Brasil, em especial à Kaciana e João Lima, que sempre foram muito solícitos e firmaram parceria Nossa Fruta/UFC, fornecendo matérias-primas para o desenvolvimento do produto.

À Rosana, pela doação dos SCOPY, meu muito obrigado.

À todos que fazem parte da Coordenação do Programa de Ciências e Tecnologia de Alimentos – UFC, aqui deixo minha gratidão por toda assistência prestada desde o início deste sonho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – UFC, que engrandeceram minha vida profissional com tanto conhecimento e contribuíram de forma substancial para minha formação.

À Universidade Federal do Ceará, em especial, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade concedida.

À Universidade Federal de Campina Grande, Cuité/PB e Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande/PB, pela oportunidade de parceria e apoio.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de pesquisa, possibilitando o desenvolvimento do presente trabalho.

*“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar. ”*

*(Josué 1:9)*

## RESUMO

Em um país onde milhões de pessoas passam por necessidades nutricionais, maneiras inovadoras de alimentação, provenientes de fontes de alimentos que são comumente desperdiçados, pode ser uma alternativa de fonte nutricional como a utilização de coprodutos agroindustriais. A inclusão de coprodutos oriundos das frutas como uma opção de matriz para o desenvolvimento de bebidas pode atuar potencializando o processo fermentativo. Diante disto, este estudo teve como objetivo o desenvolvimento de bebidas fermentadas utilizando os coprodutos agroindustriais do processamento de polpas de frutas tropicais. Coprodutos de frutas foram submetidos a avaliação da capacidade antioxidante, sendo selecionados para o desenvolvimento das formulações os três coprodutos que obtiveram melhor resultado (FCA: acerola, FCG: goiaba e FCT: tamarindo). As formulações desenvolvidas foram avaliadas quanto aos parâmetros físico-químicos, microbiológicos e capacidade antioxidante total e foi avaliada a cinética de fermentação durante a F1 e F2, utilizando os parâmetros de Acidez Titulável Total, Sólidos Solúveis Totais e pH. As formulações foram submetidas a testes *in vivo* (atividade locomotora e toxicidade aguda) e foi analisado o perfil sensorial com o intuito de verificar a aceitação dos consumidores. Todas as formulações apresentaram parâmetros físico- químicos atendendo a legislações vigentes. Durante a cinética de fermentação foi possível perceber que a medida que o pH e o teor de sólidos solúveis diminuam a acidez aumentava, com pH médio final de 3,12 para FCA, 2,85 para FCG e 2,78 para FCT. Já a acidez foi de 0,94% para a FCA, 0,75% para FCG e 1% para FCT. A formulação que apresentou um maior teor de sólidos solúveis totais foi a FCT (8,17). Entre todas as formulações, a FCA foi a que obteve um melhor potencial antioxidante ( $19,96 \pm 0,77$ ). As formulações de kombucha do presente estudo apresentaram qualidade microbiológica satisfatória. O teste de atividade locomotora *in vivo* sugere uma possível ação sedativa, tais como os provocados pelos benzodiazepínicos (drogas ansiolíticas), os quais diminuem atividade locomotora (mobilidade) do zebrafish (*Danio rerio*) adulto em campo aberto. Além disto, todas as formulações demonstraram ser seguras para o consumo humano ( $CL_{50} > 0,25$ ). Todas as formulações apresentaram aceitação sensorial satisfatória, com melhores resultados para FCG, FCT e FCA, respectivamente. Diante dos resultados apresentados, é possível perceber que as formulações possuem uma excelente composição nutricional, sendo ambas seguras para o consumo humano do ponto de vista microbiológico e toxicológico, na qual o presente estudo pode corroborar com o fornecimento de novas alternativas alimentares, além do aproveitamento integral dos coprodutos de frutas.

**Palavras-chave:** subprodutos; fermentação; alimento funcional; inovação.

## ABSTRACT

In a country where millions of people have nutritional needs, innovative ways of eating, from food sources that are commonly wasted, can be an alternative nutritional source such as the use of agro-industrial by-products. The inclusion of by-products from fruits as a matrix option for the development of beverages can act by enhancing the fermentation process. Therefore, this study aimed to develop fermented beverages using agro-industrial by-products from the processing of tropical fruit pulp. Fruit co-products were submitted to evaluation of the antioxidant capacity, being selected for the development of the formulations the three co-products that obtained the best results (FCA: acerola, FCG: guava and FCT: tamarind). The formulations developed were evaluated for physical-chemical and microbiological parameters and total antioxidant capacity and the fermentation kinetics were evaluated during F1 and F2, using the parameters of Total Titratable Acidity, Total Soluble Solids and pH. The formulations were subjected to in vivo tests (locomotive activity and acute toxicity) and the sensory profile was analyzed in order to verify consumer acceptance. All formulations presented physicochemical parameters in compliance with current legislation. During the fermentation kinetics, it was possible to notice that as the pH and the soluble solids content decreased, the acidity increased, with a final average pH of 3.12 for FCA, 2.85 for FCG and 2.78 for FCT. The acidity was 0.94% for FCA, 0.75% for FCG and 1% for FCT. The formulation that presented the highest content of total soluble solids was FCT (8.17). Among all the formulations, FCA had the best antioxidant potential ( $19.96 \pm 0.77$ ). The kombucha formulations in the present study showed satisfactory microbiological quality. The locomotor activity test in vivo suggests a possible sedative action, such as those caused by benzodiazepines (anxiolytic drugs), which decrease locomotor activity (mobility) of adult zebrafish (*Danio rerio*) in open field. In addition, all formulations proved to be safe for human consumption ( $LC_{50} > 0.25$ ). All formulations showed satisfactory sensory acceptance, with better results for FCG, FCT and FCA, respectively. In view of the results presented, it is possible to perceive that the formulations have an excellent nutritional composition, both being safe for human consumption from a microbiological and toxicological point of view, in which the present study can corroborate the provision of new food alternatives, in addition to the use of fruit co-products.

**Keywords:** by-products; fermentation; functional food; innovation.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Fluxograma do processo para o desenvolvimento das bebidas fermentadas .	29
Figura 2	– Médias de pH das formulações FCA, FCG e FCT no decorrer da fermentação 1 .....	38
Figura 3	– Médias de pH das formulações FCA, FCG e FCT no decorrer da fermentação 2 .....	39
Figura 4	– Médias da % de acidez em ácido acético das formulações FCA, FCG e FCT no decorrer da fermentação 1 .....	40
Figura 5	– Médias da % de acidez em ácido acético das formulações FCA, FCG e FCT no decorrer da fermentação 2 .....	41
Figura 6	– Médias do Teor de Sólidos solúveis total (°Brix) das formulações FCA, FCG e FCT no decorrer da fermentação 1 .....	42
Figura 7	– Médias do teor de Sólidos solúveis total (°Brix) das formulações FCA, FCG e FCT no decorrer da fermentação 2 .....	43
Figura 8	– Cruzamento de linhas referente a formulação FCA, nas concentrações de 25, 50 e 100% .....	48
Figura 9	– Cruzamento de linhas referente a formulação FCG, nas concentrações de 25, 50 e 100% .....	49
Figura 10	– Cruzamento de linhas referente a formulação FCT, nas concentrações de 25, 50 e 100% .....	49
Figura 11	– Análise dos componentes principais a partir dos dados CATA .....	54
Figura 12	– Histograma com as porcentagens de presença e ausência dos atributos que apresentaram significância no nível de 5% no CATA .....	55

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição centesimal de coprodutos de frutas tropicais .....	20
Tabela 2 – Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante total de coprodutos de frutas tropicais .....	21
Tabela 3 – Composição das Formulações .....	30
Tabela 4 – Atividade antioxidante total (ABTS) dos coprodutos de frutas .....	37
Tabela 5 – Caracterização Físico-química das Formulações de Kombucha .....	43
Tabela 6 – Características Microbiológicas das Formulações selecionadas .....	47
Tabela 7 – Mortalidade por dose analisada para o teste de toxicidade aguda das amostras FCA, FCG e FCT frente ao zebrafish adulto .....	52
Tabela 8 – Teste de Cochran para comparação de cada atributo .....	52
Tabela 9 – Comparação múltipla entre os resultados do teste CATA para cada atributo em todas as amostras por meio do procedimento de McNemar (Bonferroni).	53
Tabela 10 – Média das intensidades dos termos da análise de <i>Rate-All-That-Apply</i> (RATA) .....	55
Tabela 11 – Médias para o teste de aceitação das formulações FCA, FCG e FCT para os parâmetros de aparência, aroma, sabor, avaliação global e intenção de compra aplicado aos provadores .....	56

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
2	<b>OBJETIVO</b> .....	18
2.1	<b>Objetivos Específicos</b> .....	18
3	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	19
3.1	<b>Coprodutos Agroindustriais</b> .....	19
3.2	<b>Processo fermentativo</b> .....	22
3.3	<b>Kombucha e Cultura Starter</b> .....	23
3.4	<b>Açúcar como fonte de carboidrato para fermentação</b> .....	24
3.5	<b>Desenvolvimento de novos produtos alimentares funcionais</b> .....	25
4	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	27
4.1	<b>Tipo de estudo, matéria-prima e local de execução</b> .....	27
4.2	<b>Seleção das formulações</b> .....	27
4.2.1	<i>Teste de atividade antioxidante</i> .....	28
4.3	<b>Elaboração das formulações selecionadas</b> .....	28
4.4	<b>Caracterização das formulações selecionadas</b> .....	30
4.4.1	<i>Cinética de fermentação</i> .....	30
4.4.2	<i>Análises físico-químicas</i> .....	31
4.4.2.1	<i>Umidade</i> .....	31
4.4.2.2	<i>Atividade de Água</i> .....	31
4.4.2.3	<i>Cinzas</i> .....	31
4.4.2.4	<i>Proteína Bruta</i> .....	32
4.4.2.5	<i>Lipídios</i> .....	32
4.4.3	<i>Análises Microbiológicas</i> .....	33
4.4.3.1	<i>Contagem de coliformes totais, termotolerantes e Escherichia coli</i> .....	33
4.4.3.2	<i>Salmonella sp</i> .....	33
4.4.3.3	<i>Mesófilos aeróbios</i> .....	34
4.4.4	<i>Determinação da atividade antioxidante total</i> .....	34
4.4.5	<i>Atividade locomotora (Teste de CampoAberto) e Teste de toxicidade aguda 96 h das formulações selecionadas</i> .....	34
4.4.6	<i>Análise Sensorial</i> .....	35
4.4.6.1	<i>Teste de aceitação, CATA e RATA</i> .....	36

4.4.7	<i>Estatística</i> .....	36
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	37
5.1	<b>Teste de seleção dos coprodutos de frutas a serem utilizados no desenvolvimento das bebidas fermentada, por via da atividade antioxidante total</b> .....	37
5.2	<b>Cinética de fermentação</b> .....	38
5.3	<b>Caracterização Físico-química das formulações de kombucha</b> .....	44
5.4	<b>Análises microbiológicas</b> .....	47
5.5	<b>Atividade locomotora (Teste de Campo Aberto)</b> .....	48
5.6	<b>Teste de toxicidade aguda - 96 h das formulações selecionadas</b> .....	51
5.7	<b>Análise sensorial</b> .....	53
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	58
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	59
	<b>ANEXO A - FICHA PARA TESTE DE ACEITAÇÃO E CATA</b> .....	71

## 1 INTRODUÇÃO

A elevada produção de frutas, as quais muitas vezes apresentam alta perecibilidade, exige a utilização de técnicas apropriadas, que possam reduzir as perdas desses vegetais. Manejos inadequados durante a colheita e a pós-colheita aceleram os processos fisiológicos, afetando as propriedades físico-químicas e diminuindo assim a qualidade e o tempo de vida útil desses alimentos (AZZOLINI *et al.*, 2004).

O descarte dessas frutas que não são consumidas provoca um grande desperdício no mercado de produtos. Visando reduzir esse desperdício e oferecer aos consumidores novas opções para consumo das frutas, as mesmas são submetidas ao processamento na forma de sucos, polpas, concentrados, balas, geleias, entre outros, produtos que de forma geral apresentam maior vida útil quando comparados às frutas *in natura*, influenciando diretamente na redução dos desperdícios (NASCIMENTO FILHO & FRANCO, 2015).

Entretanto, o processamento de alguns produtos, como as polpas de frutas, provoca inexoravelmente uma perda de cerca de 30% a 40% de coprodutos orgânicos da matéria-prima processada. Uma grande fração desses coprodutos é descartada irregularmente, contrariamente à legislação ambiental brasileira (NASCIMENTO FILHO & FRANCO, 2015).

Os coprodutos de frutas podem conter um elevado teor nutricional, muitas das vezes sendo superior ao encontrado nas suas partes comestíveis. Fora isto, esses coprodutos podem apresentar também compostos bioativos com maior capacidade antioxidante do que a polpa, visto que os perfis desses fitoquímicos são diferenciados quando comparados com as demais partes da fruta (WANG *et al.*, 2018).

Além disto, os coprodutos de origem agroindustrial contêm uma elevada quantidade de açúcares fermentáveis e nutrientes, os quais podem ser utilizados por micro-organismos, que podem produzir várias substâncias de importância industrial (MOREIRA *et al.*, 2012; PANDA *et al.*, 2016; RAFATULLAH *et al.*, 2010).

O aproveitamento de coprodutos agroindustriais como fonte de matéria prima para geração de novos produtos vem ocasionando o interesse tanto de pesquisadores como das indústrias produtoras. Cada ano que se passa a utilização sustentável desses coprodutos gerados no setor agroalimentar vem tornando-se cada vez mais importante, gerando um grande desafio para a área de alimentos (NOCENTE *et al.*, 2019).

No Brasil, a área de alimentos funcionais lucra em média US\$ 10 bilhões ao ano, com projeções de crescimento em todo o mundo (PADILHA *et al.*, 2017). Os produtos funcionais que possuem em sua composição probióticos e prebióticos têm sido alvo de novas pesquisas

em razão do aparecimento de indivíduos mais críticos e conscientes sobre suas escolhas alimentares, impactando no investimento da indústria alimentícia em formulações que possuam compostos bioativos (ROLIM, 2015; VILLALVA *et al.*, 2017).

As bebidas funcionais probióticas tem como principal característica a presença de micro-organismos benéficos para a saúde humana. Os micro-organismos mais aplicados na indústria e no mercado brasileiro são as bactérias ácido-lácticas do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (ROLIM, 2015; VILLALVA *et al.*, 2017).

A kombucha é considerada uma bebida simbiótica, que nada mais é que uma combinação de probiótico com prebiótico. Probióticos são micro-organismos que quando consumidos em quantidades adequadas podem fornecer benefícios para a saúde, auxiliando no equilíbrio da flora intestinal e agindo contra o crescimento excessivo de bactérias nocivas. Prebióticos são ingredientes nutricionais não digeríveis que auxiliam seletivamente o crescimento e atividade dos micro-organismos benéficos presentes no corpo humano. No caso da kombucha, as bactérias e leveduras atuam como probióticos e a celulose formada atua como prebiótico (WATAWANA *et al.*, 2015).

Diante do exposto, esse estudo teve como objetivo o desenvolvimento de uma bebida fermentada utilizando os coprodutos agroindustriais do processamento de polpas de frutas. Além de nova opção de produto para o consumidor de alimentos, a elaboração da bebida estará associada ao aproveitamento dos coprodutos de frutas gerados pela indústria, o que diminuirá o impacto na poluição ambiental, promovida pelo descarte errôneo desses coprodutos.

## 2 OBJETIVO

Desenvolver bebidas fermentadas com potencial antioxidante, utilizando coprodutos de frutas.

### 2.1 Objetivos Específicos

- Selecionar os coprodutos de frutas que serão utilizados, por via do teste de atividade antioxidante;
- Promover o processo de fermentação por via da junção de diferentes coprodutos de frutas, açúcar, água e Cultura Starter e de saborização com a polpa da fruta correspondente ao coproduto testado;
- Avaliar as características físicas, químicas e microbiológicas das bebidas fermentadas;
- Determinar a atividade antioxidante total presente nas formulações;
- Realizar a cinética de fermentação (pH, Acidez e °Brix) nos tempos de 0, 48, 72, 96 e 168 horas para Fermentação (F1) e de 0 e 24 horas para a Fermentação 2 (F2), nas formulações (FCA, FCG e FCT);
- Realizar testes *in vivo* utilizando *Danio rerio* (Teste de Campo Aberto e Toxicidade aguda) das formulações desenvolvidas;
- Realizar a análise sensorial das formulações.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Coprodutos Agroindustriais

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, perdendo apenas para a China e a Índia, onde a produção de frutas se destaca no agronegócio brasileiro, chegando a ser superior a 40 milhões de toneladas nos últimos anos (ABRAFRUTAS, 2019; IBGE, 2019). Vale salientar também que o Brasil é considerado um dos maiores produtores de sucos da América, onde o processamento gera em torno de 40% de coprodutos orgânicos. Sendo estes, ricos em nutrientes como minerais, fibra alimentar e compostos bioativos, que podem ser aplicados e utilizados facilmente na alimentação humana (SENA *et al.*, 2015).

A área cultivada com frutas corresponde a aproximadamente 3 milhões de hectares e a produção brasileira é em especial aplicada ao mercado interno, com exportação de apenas 3% de sua produção. Existe uma vasta variedade na produção de frutas no Brasil, isso porque as culturas estão espalhadas por todo o país, onde as frutas são comumente consumidas em sua forma natural ou processada (LEITE FILHO *et al.*, 2020).

As frutas podem ser classificadas em climatéricas e não-climatéricas, de acordo com sua atividade respiratória após a colheita. Uma das características principais das frutas climatéricas é que as mesmas contêm rápido e acentuado aumento na atividade respiratória e síntese de etileno durante o amadurecimento, já as não-climatéricas, não possuem este pico (CHITARRA *et al.*, 2005). Logo, os produtos climatéricos podem sofrer alterações fisiológicas e bioquímicas indesejáveis que atenuam para maiores perdas durante o processo de comercialização (AMORIM *et al.*, 2017).

Os coprodutos oriundos das frutas, como: cascas, sementes e bagaços contêm excelente fontes de compostos funcionais, e apesar de serem produzidos mundialmente em altas quantidades, são ainda pouco aproveitados. Em alguns casos, estas partes das frutas podem ter em sua composição um teor de nutrientes maior quando comparado com sua parte comestível. Constantes estudos apontam a presença de relevantes nutrientes como vitamina C, compostos fenólicos e carotenóides nas frutas, com maiores concentrações em suas sementes e cascas. O consumo equilibrado de alimentos fontes desses compostos está associada a efeitos benéficos para a saúde humana (ABRAHÃO *et al.*, 2010).

Na Tabela 1 é possível observar que os coprodutos de frutas tropicais possuem em sua composição uma alta quantidade de carboidratos, nutriente considerado essencial para uma boa

fermentação, além disso, possuem também uma excelente composição centesimal, enfatizando assim o que foi abordado anteriormente.

Tabela 1 - Composição centesimal de coprodutos de frutas tropicais.

Constituinte	Umidade (g/100g)	Cinzas (g/100g)	Proteínas (g/100g)	Lipídios (g/100g)	Carboidratos (g/100g)	Valor Calórico (Kcal)	Autores
<b>Coproducto de Acerola</b>	6,64±0,51	1,76±0,0 4	9,12±0,18	3,40±0,3 2	79,07±0,23	-	(MAGALH ÃES <i>et al.</i> , 2021).
<b>Coproducto desidratado de Goiaba</b>	6,09±1,02	2,12±0,0 3	10,91±0,83	7,15±0,5 4	73,73±1,86	402,91±1, 90	(DE MENESES <i>et al.</i> , 2018).
<b>Farinha das Sementes de Tamarindo</b>	9,6 ±0,43	1.8±0,01	10,3±0,09	3,2±0,04	58,7±0,50	304,5±2,4	(GARCIA <i>et al.</i> , 2020).
<b>Farinha da Casca do Maracujá</b>	85,34 ± 0,50	1,97 ± 0,49	2,05 ± 0,07	0,02 ± 0,25	10,57 ± 0,42	52,28	(JINKINGS ; GONÇAL VEZ; DA SILVA, 2020)
<b>Farinha da Casca do Abacaxi</b>	5,76±0,07	4,43±0,0 3	3,10±0,05	1,25±0,0 9	77,94±0,10	342,80±0, 28	(ERKEL <i>et al.</i> , 2015).
<b>Coproducto de Cajá</b>	7,37 ± 0,04	4,04 ± 0,04	8,36 ± 0,09	3,61 ± 0,02	-	459 ± 1	(SOBRINH O, 2014).

Fonte: Dados da Pesquisa, 2022.

Além disso, os coprodutos de frutas podem conter também compostos bioativos com maior capacidade antioxidante do que a polpa, visto que os perfis desses fitoquímicos são diferenciados das outras partes da fruta (WANG *et al.*, 2018). Na Tabela 2 é possível verificar

uma alta quantidade de compostos fenólicos totais presentes nos coprodutos de frutas tropicais, como também uma alta atividade antioxidante total.

Tabela 2 - Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante total de coprodutos de frutas tropicais.

<b>Constituinte</b>	<b>Compostos fenólicos (mg GAE/g m.s.)</b>	<b>Atividade antioxidante (DPPH - <math>\mu\text{mol TE/g}</math>)</b>	<b>Autores</b>
<b>Coproduto de Goiaba vermelha desidratado</b>	133,73 $\pm$ 7,03	29,06 $\pm$ 0,03	(MORAES, <i>et al.</i> , 2015).
<b>Coproduto de Abacaxi</b>	6,09 $\pm$ 1,02	2,12 $\pm$ 0,03	(SOUSA; SOUSA, 2014).
<b>Coproduto de Maracujá</b>	3,43 $\pm$ 0,24	10,29 $\pm$ 0,44	(SOUSA; SOUSA, 2014).
<b>Coproduto de Acerola</b>	428,46 $\pm$ 3,90	113,40 $\pm$ 7,87	(MAGALHÃES <i>et al.</i> , 2021).
<b>Coproduto de Cajá</b>	306,8 $\pm$ 5,1	216,90	(SOBRINHO, 2014).

**Fonte:** Dados da Pesquisa, 2022.

Vale ressaltar que os termos “perdas de alimentos” e “desperdícios de alimentos” possuem diferença entre si. As perdas, de um modo geral, são ocasionadas principalmente no decorrer da produção, associadas à pós-colheita e ao processamento, na qual envolvem situações nas quais o alimento acaba sendo danificado em alguma destas etapas, como o armazenamento e o transporte. Estes fatores corroboram para a redução dos alimentos disponíveis para o consumo humano e caracterizam-se como consequências das ineficiências na cadeia produtiva, tais como infraestrutura e logística deficientes e/ou falta de tecnologias para a produção. Já o termo desperdício refere-se ao descarte intencional de produtos alimentícios apropriados para o consumo humano, sendo gerado pelo comportamento dos seres humanos (FAO, 2013).

No momento atual, o Brasil encontra-se no ranking dos 10 países que mais perdem alimentos no mundo, atingindo 35% da produção desperdiçada todos os anos (FAO, 2015).

A Organização das Nações Unidas Para a Alimentação e a Agricultura – FAO sinaliza que a produção mundial de coprodutos agroindustriais deve atingir 1,3 bilhões de toneladas por ano, visto que 1/3 dos alimentos que possivelmente são designados para o consumo humano são desperdiçados, seja como coprodutos, gerados do processamento ou como perda na cadeia produtiva (FAO, 2019).

Em um país onde milhões de pessoas passam por necessidades nutricionais, maneiras inovadoras de alimentação, provenientes de fontes de alimentos que são comumente desperdiçados, pode ser uma alternativa de fonte nutricional no desenvolvimento de coprodutos agroindustriais. Fora isto, a elaboração e comercialização destes produtos é tida como uma alternativa comercial viável, inerente ao pequeno e grande produtor (COSTA FILHO *et al.*, 2017).

Sá Leitão (2012, p. 101) enfatiza que:

O aproveitamento integral de frutas e hortaliças (polpa, cascas, talos e folhas), na elaboração de novos produtos, é uma alternativa tecnológica limpa que está ao alcance de todos, pois pode ser aplicada tanto no ambiente industrial como residencial. A utilização do alimento, de forma sustentável, reduz a produção de lixo orgânico, prolonga a vida útil do alimento, promove a segurança alimentar e beneficia a renda familiar. Além disso, o aproveitamento integral de frutas e hortaliças, como forma de incentivo ao consumo desse grupo de alimentos, é uma prática alimentar saudável e contribui para a promoção da saúde e minimização do impacto ao meio ambiente.

Mediante ao exposto, o aproveitamento dos alimentos como um todo aumentaria o valor nutritivo dos produtos, promovendo ainda diversos benefícios econômicos notáveis aos produtores e consumidores, assim como refletiria em impactos positivos para o meio ambiente, provenientes da diminuição ou exclusão completa de coprodutos (LEÃO *et al.*, 2017).

### **3.2 Processo fermentativo**

Conforme Hoelzle, Viridis e Batstone (2014), a fermentação é vista como um processo biológico, anaeróbico, na qual os micro-organismos produzem Trifosfato de Adenosina (ATP), para sua sobrevivência, passando pela transformação de compostos orgânicos complexos para compostos orgânicos simples. Durante este processo metabólico não existe uma substância receptora de elétrons como oxigênio (O<sub>2</sub>), onde normalmente, necessita do substrato junto com as reações de transferência de elétrons para gerar ATP. As reações de oxidação que acontecem durante a fermentação, promovem a energia potencial para gerar energia celular. As células de

fermentação também podem captar energia celular da transferência de elétrons de outras vias, inclusive através das cadeias de transporte de prótons, cátions e elétrons.

Diversas classificações vêm sendo usadas para caracterizar o vasto espectro de alimentos fermentados, as quais incluem alguns aspectos como a diversidade de micro-organismos, os diferentes grupos de alimentos, os tipos de fermentação envolvida e as matérias-primas usadas (NAVARRETE-BOLAÑOS, 2012).

As diferenças entre as classificações podem ser reduzidas se considerarmos que existem quatro grandes processos de fermentação: (1) alcoólica: está associada à conversão de carboidratos em álcool ( $C_2H_5OH$ ) e  $CO_2$ , utilizada para produzir bebidas fermentadas alcoólicas. (2) láctica: consiste no processo pelo qual os açúcares são convertidos em ácido láctico ( $C_3H_6O_3$ ), usados para contribuir na segurança microbiana, oferecer mais vantagens nutricionais e sensoriais ao produto fermentado. (3) acética: neste tipo de fermentação alguns substratos (por exemplo, açúcar ou soluções alcoólicas) são convertidos em ácido acético ( $CH_3COOH$ ) na presença de oxigênio em excesso. (4) alcalina: processo através do qual a proteína, usada como matéria-prima, é dividida em aminoácidos e peptídeos, elevando o pH, provocando ao alimento forte sabor e odor amoniacal (NAVARRETE-BOLAÑOS, 2012). Entretanto, os tipos mais utilizados pela indústria alimentícia, são: fermentação alcoólica, láctica e acética (NESPOLO *et al.*, 2015).

### 3.3 Kombucha e Cultura Starter

A kombucha é uma bebida originada por fermentação tradicional a partir do processo fermentativo do chá preto adoçado e de uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras, denominada como (SCOBY – symbiotic culture of bacteria and yeast) (JAYABALAN *et al.*, 2014).

O SCOBY, introduzido na fermentação da kombucha, é considerado como cultura de micro-organismos presentes em matriz esponjosa celulósica em formato de sino, também conhecido como “tea fungus” (fungo de chá, tradução livre) (DUTTA; PAUL, 2019), na qual cresce em condições adequadas de pH e temperatura. Este biofilme celulósico é introduzido ao chá ou substrato a ser fermentado, sendo conhecido também como “cultura mãe”. À medida que a fermentação evolui, uma nova camada de SCOBY é gerada na superfície do líquido, e este, poderá ser utilizado para inocular um próximo substrato (JAYABALAN *et al.*, 2014; BLAETH, 2019).

A cultura mãe ao final da fermentação continua com seu volume original, abaixo da nova cultura formada, e afunda no líquido fermentado para a base recipiente. Ao passar dos dias, há a formação completa do novo SCOBY. Ao concluir o processo fermentativo as culturas são retiradas, o líquido remanescente é filtrado e envasado em garrafas, estas são tampadas e então armazenadas sob refrigeração (JAYABALAN *et al.*, 2014).

Junto com o SCOBY é utilizado também como cultura starter no desenvolvimento de bebidas fermentadas, uma pequena porção líquida da Kombucha previamente preparado, na qual tem como principal objetivo, diminuir o pH, a fim de impedir o crescimento de microrganismos indesejáveis (WATAWANA *et al.*, 2015).

A Cultura starter pode ser definida como preparações que possuem micro-organismos vivos ou em estado latente na qual se desenvolvem pela fermentação de um determinado substrato presente no meio (HAMMES e HERTEL, 1998).

### **3.4 Açúcar como fonte de carbono para fermentação**

O açúcar é considerado um substrato essencial durante a fermentação de inúmeros produtos, incluindo a kombucha, visto que é o substrato utilizado para a simbiose de bactérias e leveduras que o transformam nas substâncias que a caracterizam. Conforme a RDC nº 271 de 22 de setembro de 2005, o açúcar é definido como a sacarose extraída do caldo de cana de açúcar ou de beterraba (BRASIL, 2005).

O açúcar cristal e o refinado possuem em sua composição mais de 99% de sacarose, onde são obtidos por via da cristalização do caldo de cana, sendo eliminadas outras substâncias presentes. O açúcar refinado é gerado da mesma maneira que o cristal, a única diferença é que o mesmo é mais triturado e branqueado (CARRETTA, 2006).

No decorrer do processo de fermentação a sacarose é degradada por via de enzimas, produzidas por leveduras que estão presentes no SCOBY, e convertida em glicose e frutose. Após isto, as leveduras transformam a glicose em dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e álcool etílico, que são considerados as principais fontes para a produção de ácidos responsáveis pelas características sensoriais do produto. Fora isto, as bactérias acéticas usam a sacarose como fonte de carbono para produzirem uma rede de celulose como metabólito secundário da fermentação, originando um novo SCOBY, principalmente as bactérias *Acetobacter xylinum* (JAYABALAN, 2014).

Conforme Reiss (1994), o melhor açúcar para ser introduzido na produção da Kombucha é o açúcar branco. Quando fontes diferentes de sacarose são aplicadas, como o melaço, por

exemplo, o teor dos ácidos produzidos no decorrer do processo fermentativo é bem menor (JAYABALAN *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2018; SANTOS, 2016).

### **3.5 Desenvolvimento de novos produtos alimentares funcionais**

A indústria alimentícia, em seus inúmeros setores, vem promovendo a inovação, com uma diversidade de produtos e, ao mesmo tempo, gerando o aumento do consumo, tendo em vista que o mercado para alimentos funcionais ainda é jovem e encontra-se em constante crescimento (SALGADO, 2017).

Em busca de saúde e bem-estar, os consumidores passaram a incluir na sua rotina uma alimentação mais saudável, que possua ingredientes funcionais e que gerem no final benefícios à saúde, como é o caso dos probióticos (OLIVEIRA *et al.*, 2014; MARTINS *et al.*, 2015). Esses alimentos são considerados produtos funcionais por conterem em sua constituição micro-organismos vivos que são utilizados com o objetivo de promover benefícios à saúde por meio da colonização intestinal e dos metabólitos produzidos (WENDLING & WESCHENFELDER, 2013; BRASIL, 2018).

Para receber a essa alegação de alimento funcional, o alimento pronto para o consumo humano deve conter uma contagem maior que  $10^6$  UFC/g do micro-organismo viável até o seu prazo final de validade, sendo obrigatório essa informação estar presente no rótulo do mesmo (HUSSAIN *et al.*, 2016). O processamento de alimentos probióticos deve ser bem criterioso levando em consideração a escolha correta das culturas probióticas a serem utilizadas, o estágio do processamento e concentração do inóculo, assim como o controle constante das condições de processo e das temperaturas de armazenamento e transporte (COMAN *et al.*, 2012).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 1999) enfatiza que um produto só pode ser associado a uma propriedade funcional, se conter micro-organismos na contagem indicada, que seja capaz de auxiliar o equilíbrio da microbiota intestinal, quando seu consumo é associado a uma alimentação equilibrada e vida saudável, destacando que as culturas probióticas empregadas em alimentos devem se manter viáveis no decorrer de toda a sua produção e armazenamento (BRASIL, 1999).

Diante disto, na última década ocorreu a introdução no mercado global de mais de 500 produtos alimentícios que contém probióticos em sua formulação, onde a presença de novos produtos no mercado continua em constante expansão (TRIPATHI; GIRI, 2014).

Procurando satisfazer os consumidores, a indústria alimentícia vem cada vez mais incluindo as bactérias probióticas em diversos alimentos e bebidas, como por exemplo:

iogurtes, queijos, sorvetes, chocolates, cereais, sucos e produtos cárneos. Assim, os consumidores usufruem de refeições saborosas, de qualidade, com ações e efeitos benéficos à saúde (SIMEONI *et al.*, 2014). Neste ramo, os produtos lácteos são os mais utilizados como veículos de bactérias probióticas, isso porque apresentam uma maior aceitação comercial, além de conterem um excelente valor nutritivo (CASTRO CISLAGHI *et al.*, 2012).

Embora as culturas probióticas, em grande parte, estejam incluídas em produtos lácteos fermentados, existe um crescente número de pessoas intolerantes à lactose, alérgicas às proteínas do leite, adeptas ao vegetarianismo e as que não consomem produtos lácteos por questões de hábito ou cultura. Logo, a inclusão dos probióticos em matrizes não lácteas, como frutas e produtos cárneos, permite o seu consumo por estes indivíduos (MARTINS *et al.*, 2013).

Entre os produtos de origem vegetal que apresenta um grande potencial ao desenvolvimento de alimentos com propriedades probióticas, destacam-se as bebidas de frutas que, por conta das suas características físicas, químicas e nutricionais, podem se tornar uma possibilidade de meio para o desenvolvimento de novos produtos com alegação funcional (MARTINS *et al.*, 2015).

Diante disto, diversos estudos vem avaliando novas alternativas de matérias-primas para a fermentação de bebidas semelhantes ao kombucha, como o leite (HRNJEZ *et al.*, 2014); café ( WATAWANA, JAYAWARDENA e WAISUNDARA, 2015); suco de cacto pêra (AYED & HAMDI, 2015); suco de uva ( AYED, BEN ABID, & HAMDI, 2017); fruta cobra ( ZUBAIDAH *et al.*, 2018); chá rooibos ( GAGGIÀ *et al.*, 2019 ); bagas de goji pretas e vermelhas ( ABUDUAIBIFU & TAMER, 2019); Folhas de mostarda africana (RAHMANI *et al.*, 2019 ); e suco de cenoura preta, louro cereja, abrunheiro e framboesa vermelha ( ULUSOY e TAMER, 2019).

Moraes, Bender e Kotwtz (2020) avaliaram kombuchas fermentadas com chá preto acrescidas de polpas de frutas (maracujá, uva, morango e maçã), as mesmas foram produzidas por produtores regionais da cidade de Toledo no Paraná, já Leonarski *et al.* (2021) desenvolveram um kombucha utilizando coproduto de acerola como matéria-prima.

Logo, a inclusão de coprodutos oriundos das frutas como uma opção de matriz para o desenvolvimento de bebidas fermentadas, pode atuar potencializando o processo fermentativo, agregando teor nutricional, tendo em vista a riqueza em macro e micronutrientes que os mesmos possuem, além de atuar diminuindo os impactos ocasionados pelo descarte desses coprodutos no meio ambiente.

Diante disto, o desenvolvimento de uma bebida com características funcionais que contém em sua composição uma matéria prima de baixo custo e totalmente acessível a

sociedade e indústrias alimentícias irá gerar um produto final contendo um *pool* de nutrientes e micro-organismos que são essenciais para manutenção da saúde humana.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Tipo de estudo, matéria-prima e local de execução**

Trata-se de um estudo exploratório, experimental e comparativo. Foram utilizados como matéria prima os coprodutos de frutas tropicais, que foram fornecidos por uma indústria localizada em Fortaleza-CE, além de açúcar (União®, São Paulo) e água. As amostras foram cadastradas no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), sob número de acesso AA72205, por meio da Universidade Federal do Ceará.

Para que o processo fermentativo ocorresse, fez-se necessário um meio de cultura *starter*. No presente estudo foi utilizado como cultura *starter* o SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts*) e o líquido oriundo do final da fermentação da kombucha teste (elaborada antes para servir como base de cultura *starter*).

Após o processo de fermentação, foram utilizadas na etapa de saborização a polpa da fruta correspondente ao coproduto de cada formulação (Acerola, Goiaba e Tamarindo). As polpas foram fornecidas pela mesma indústria responsável pelos coprodutos.

Todas as medidas foram obtidas utilizando balança analítica de precisão (Adventurer Ohaus Toledo AR2140, Brasil), assim como também, todas as análises foram realizadas em triplicata.

As análises propostas no presente estudo foram realizadas nos laboratórios de Frutos e Microbiologia de Alimentos, situados no Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza/CE, como também no laboratório de Bromatologia (LABROM) da Universidade Federal de Campina Grande, Cuité/PB. O desenvolvimento das formulações e a cinética de fermentação foram realizada no Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos da Universidade Estadual da Paraíba, em Campina Grande/PB.

### **4.2 Seleção das formulações**

Antes da etapa de desenvolvimento das formulações, foi realizada a seleção dos melhores coprodutos a serem utilizados, tendo como base o teste de atividade antioxidante total.

No total seis coprodutos foram utilizados nesse processo de seleção, sendo eles: acerola, goiaba, tamarindo, maracujá, cajá e abacaxi.

#### ***4.2.1 Teste de capacidade antioxidante***

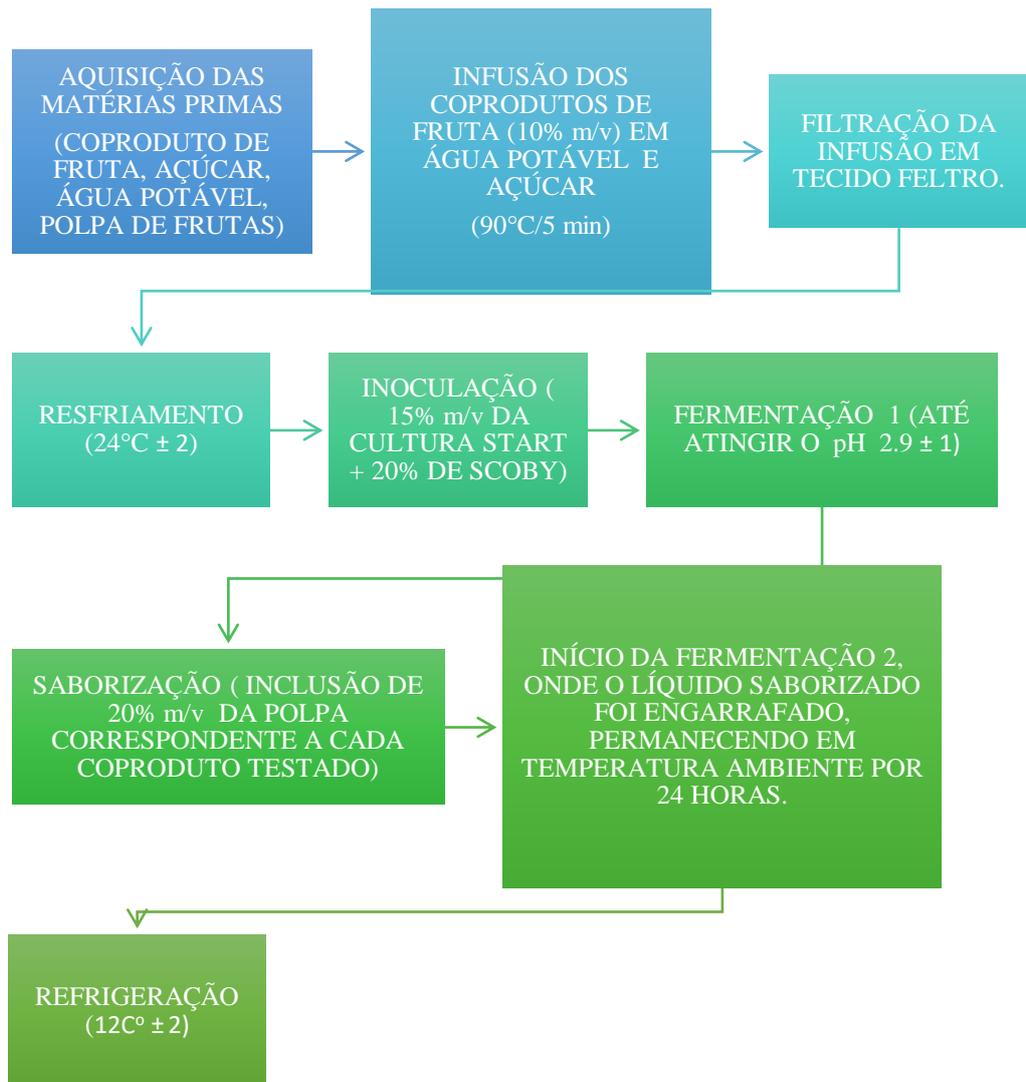
A atividade antioxidante total foi determinada pelo método da captura do radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS<sup>•+</sup>) conforme descrito por Re *et al.* (1999) adaptado por Rufino *et al.* (2007). Foram utilizadas três concentrações diferentes dos coprodutos a serem testados. Uma alíquota de 30 µL de cada diluição reagiram com 3 mL da solução resultante do radical ABTS<sup>•+</sup> no escuro. As absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro a 734 nm, após 6 min da mistura.

Como referência foi utilizado uma curva padrão entre 100 a 1500 µM de Trolox (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico). Os resultados foram expressos como capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (µM Trolox/g de amostra). Com base no resultado, foram selecionados três coprodutos para o desenvolvimento das formulações.

#### **4.3 Elaboração das Formulações**

A Figura 1 apresenta o fluxograma que foi utilizado como base para a elaboração de todas as formulações.

Figura 1 - Fluxograma do processo para o desenvolvimento das bebidas fermentadas.



**Fonte:** Dados da Pesquisa, 2022.

De início, foi realizada a etapa da infusão ( $90^{\circ}\text{C} \pm 2$  por 5 minutos), utilizando água potável e os coprodutos de fruta específicos para cada formulação, com o adicional de açúcar (10% m/v), onde os valores utilizados para cada ingrediente estão expressos na Tabela 3.

Concluído a etapa de infusão, as amostras foram filtradas em tecido feltro, a fim de eliminar os resíduos sólidos dos coprodutos, deixando apenas o líquido oriundo da infusão. Após isto, o líquido foi resfriado até obter uma temperatura de  $24^{\circ}\text{C} \pm 2$ , onde, ao atingir essa temperatura foi adicionado 15% m/v do líquido da kombucha e 20% m/v de SCOBY em todas as formulações, dando início assim, ao processo de fermentação 1 (F1), na presença de oxigênio. Cada formulação foi elaborada em 3 lotes, garantindo assim um resultado mais fidedigno.

Tendo em vista que cada coproduto de fruta testado poderia apresentar um comportamento diferente, o tempo de fermentação de cada formulação foi determinado com base no pH estabelecido para todas as formulações ( $2,9 \pm 1$ ). O pH estabelecido para encerrar o processo fermentativo teve como base a Instrução Normativa n° 41/2019, na qual estabelece para a kombucha um padrão de pH, onde o pH mínimo é de 2,5 e o máximo de 4,2 (KOVACEVIC *et al*, 2014; BRASIL, 2019).

Após conclusão do processo da fermentação 1, foi realizado a segunda fermentação (F2) visando a obtenção de gás na bebida e saborização, onde foi adicionado 20% m/v da polpa correspondente a cada formulação, e logo em seguida foram envasadas em garrafas PET, permanecendo em repouso por um período de 24 horas em temperatura ambiente. Assim que foi finalizada a etapa de saborização, todas as formulações foram armazenadas em refrigeradores sobre a temperatura de  $12 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ , a fim de reduzir o processo fermentativo. Ao total foram elaboradas três formulações, a saber: FCA (Formulação com Coproduto de Acerola); FCG (Formulação com Coproduto de Goiaba); FCT (Formulação com Coproduto de Tamarindo).

Tabela 3 - Composição das Formulações.

	FCA	FCG	FCT
Água (L)	1	1	1
Coproduto (m/v)	10%	10%	10%
Açúcar (m/v)	10%	10%	10%
Cultura Starter (Líquido da Kombucha) (m/v)	15%	15%	15%
SCOBY (m/v)	20%	20%	20%
Saborização (Polpa da fruta correspondente a cada formulação) (m/v)	20%	20%	20%

**Fonte:** Autoria Própria, 2022. FCA (Formulação com Coproduto de Acerola); FCG (Formulação com Coproduto de Goiaba); FCT (Formulação com Coproduto de Tamarindo).

#### 4.4 Caracterização das formulações selecionadas

##### 4.4.1 Cinética de Fermentação

As formulações elaboradas no presente estudo foram submetidas durante o seu desenvolvimento à avaliação da cinética por via do pH, acidez titulável total e teor de sólidos

tolúveis totais, durante a primeira fermentação (F1) e a segunda fermentação (F2), conhecida como fermentação de saborização.

Durante a fermentação 1 (F1), foi realizado a cinética nos tempos de: 0, 48, 72, 96 e 168 horas. Já na fermentação 2 (F2) a cinética ocorreu nos tempos de 0 e 24 horas.

O Teor de Sólidos Solúveis Totais (SST) foi mensurado por via da leitura direta das amostras em refratômetro portátil, modelo RT-32 (escala de 0 a 32 °Brix), onde foi adicionado uma alíquota da solução de cada amostra no prisma, em seguida realizou-se a leitura direta com correção da temperatura feita através de tabela proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

O pH foi determinado pelo método potenciométrico, com medidor digital modelo (Jenway 3505, Reino Unido) calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0, seguindo a metodologia descrita por IAL (2008). Os resultados foram expressos em unidades de pH.

A Acidez Titulável Total (ATT) foi determinada pelo método titulométrico, na qual se baseia na neutralização dos íons H<sup>+</sup> com a solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N, padronizada com biftalato de potássio, como titulante, onde os resultados foram expressos em % de ácido acético (IAL, 2008).

#### ***4.4.2 Análises físico-químicas***

##### *4.4.2.1 Umidade*

A umidade foi obtida pelo método de secagem das amostras em estufa de circulação (Tecnal TE-394/2, Brasil) a 105°C até peso constante, conforme a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

##### *4.4.2.2 Atividade de Água*

A atividade de água foi avaliada através de leitura direta das amostras em temperatura de aproximadamente 25 °C, no equipamento higrômetro Aqualab, modelo 3TE, fabricado pela Decagon (IAL, 2008).

##### *4.4.2.3 Cinzas*

A determinação do valor total de cinzas presente nas amostras ocorreu por via da incineração das amostras em forno mufla (Quimis 318M, Brasil) aquecida a 550 °C, até o

momento que se observou a obtenção de um resíduo isento de carvão, com coloração branca acinzentada, seguindo a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

#### 4.4.2.4 Proteína Bruta

A quantificação de proteína bruta das formulações foi realizada por meio do método clássico de digestão de micro-Kjeldahl, utilizando-se 6,25 como fator de conversão nitrogênio-proteína (MA & ZUAZAGA, 1942; IAL, 2008). Inicialmente foi realizado a conversão das amostras analisadas, de mL para 1g, em balança analítica de precisão (Adventurer Ohaus Toledo AR2140, Brasil). Feito isto, lotes de 1g de cada formulação foram digeridos em bloco digestor, aproximadamente 400 °C, enquanto embebidos em solução de ácido sulfúrico e sais catalíticos (dióxido de titânio, sulfato de cobre e sulfato de potássio). A solução de nitrogênio digerido foi destilada em destilador de nitrogênio e o destilado foi coletado em Erlenmeyer já com 25 mL de ácido bórico 0,033M. A solução final foi titulada com ácido sulfúrico 0,05M até o ponto de viragem do indicador vermelho de metila (1%).

O cálculo da composição centesimal de proteínas de cada formulação (PRO), foi obtido através da Equação 1, onde V foi o volume de ácido gasto na titulação final e P é o número de gramas da amostra inicial.

$$PRO (\%) = \frac{V \times 0,14 \times 6,25}{P}$$

Equação (1)

#### 4.4.2.5 Lipídios

A determinação do teor dos lipídios foi realizada segundo o método proposto por Folch, Lees e Stanley (1957), na qual utilizou como solvente extrator a mistura de clorofórmio:metanol (2:1, v/v). O processo de conversão de volume para peso de cada amostra foi o mesmo descrito no método de determinação de proteína. De início, 2g da amostra foi homogeneizado em agitador com 30 mL de solução clorofórmio/metanol (2:1). Em seguida, fez-se a filtragem com papel de filtro, adicionando 20% do volume filtrado de solução de Sulfato de Sódio 1,5 %, onde foi agitado com cuidado para que não ocorresse a saponificação. Na separação das fases polar e apolar a porção polar foi descartada, em seguida, foi retirado 5 mL do volume presente na parte apolar e colocado em cada béquer. Após isto, os béqueres foram levados para evaporação em estufa a 105°C.

#### 4.4.3 Análises Microbiológicas

As formulações prontas foram submetidas às análises de contagem de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e contagem de mesófilos aeróbios seguindo o método rápido de análise conhecido como Compact Dry “Nissui”, fabricado pela empresa Nissui Pharmaceutical Co e certificado pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2002). A pesquisa de *Salmonella sp* foi realizada pela metodologia da *American Public Health Association* (APHA, 2001).

As unidades dos resultados estão expressas em Unidade formadora de colônias por grama de amostra (UFC/g) para *Escherichia coli*, coliformes totais e termotolerantes. Para *Salmonella sp*, os resultados estão demonstrados em ausência ou presença em 25 mL e para contagem mesófilos aeróbios em Unidade Formadora de Colônias por mL (UFC·mL<sup>-1</sup>).

##### 4.4.3.1 Contagem de coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli*

Para contagem de coliformes totais e termotolerantes foi realizado a homogeneização da amostra para posterior inoculação de 1 mL de amostra em placa de Compact Dry EC, sendo posteriormente incubado à 35°C por 24 horas.

Após o tempo de incubação foi realizada a avaliação de crescimento. O resultado para contagem de coliformes termotolerantes foi obtido pela contagem de colônias de *E. coli*, as quais se caracteriza pela presença de colônias de coloração azuis. O resultado para contagem de coliformes totais foi obtido pela soma de colônias vermelhas e azuis, presentes na Compact Dry.

##### 4.4.3.2 *Salmonella sp*

A determinação de *Salmonella sp* foi realizada por meio de etapa inicial de pré-enriquecimento da amostra, na qual uma amostra de 25 mL foi transferida para 225 ml de caldo lactosado, e incubado a 35°C por 24 horas. Seguido para a etapa de enriquecimento seletivo, onde ocorreu a transferência de uma alíquota de 1 mL para o caldo Tetrationato e outra alíquota de 1 mL para o caldo Rappaport-Vassilidis modificado, sendo incubado a 35°C por 24 horas. A etapa seguinte compreendeu a realização de estrias de esgotamento, com alçadas provenientes dos caldos seletivos, em meio de cultivo ágar entérico Hektoen (HE) e ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), onde o resultado foi descrito em ausência/presença em 25 mL.

#### 4.4.3.3 Mesófilos aeróbios

Para análise de mesófilos aeróbios, foi realizado a homogeneização da amostra e posterior inoculação de 1 mL de amostra em Compact Dry TC. Em seguida, realizou-se a incubação à 35°C por 48 horas. Finalizado o tempo de incubação, foi realizada a avaliação de crescimento indicado pela presença de colônias de coloração vermelha.

#### 4.4.4 Determinação da atividade antioxidante total

A atividade antioxidante total foi determinada pelo método da captura do radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS<sup>•+</sup>), seguindo a metodologia descrita no item 4.2.1.

#### 4.4.5 Atividade locomotora (Teste de Campo Aberto) e Teste de toxicidade aguda 96 h das formulações selecionadas

Para a análise de toxicidade, foram utilizados *zebrafish* (*D. rerio*) adulto (ZFa), selvagens, ambos os sexos com idade de 60-90 dias, tamanhos de  $3.5 \pm 0.5$  cm e peso  $0.4 \pm 0.1$  g, adquiridos na Agroquímica: Comércio de Produtos Veterinários LTDA, fornecedor localizado na cidade de Fortaleza (Ceará, Brasil). Um grupo de 32 peixes foi aclimatados por 24 horas em aquários de vidro (40 x 20 x 25 cm), contendo água desclorada (anticloro *ProtecPlus*<sup>®</sup>) e bombas de ar com filtros submersos, a 25 °C e pH 7.0, com ciclo cicardiano de 14:10 horas de claro/escuro. Os peixes receberam ração (*Spirulina*<sup>®</sup>) *ad libitum* 24 horas antes dos experimentos. Após a realização dos experimentos, os peixes foram sacrificados por imersão em água gelada (2-4 °C), durante 10 minutos, até a perda da mobilidade opercular (CONCEA, 2018). Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética do Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC), sob protocolo nº 1806202101.

O teste de campo aberto (AHMAD; RICHARDSON, 2013) foi realizado com o intuito de avaliar alteração ou não da coordenação motora dos animais, seja por sedação e/ou relaxamento muscular. Inicialmente, os animais (n=6/gupo) foram tratados com 20 µL, via oral, de cada formulação (100%, 75% e 50% de cada formulação) ou veículo (água destilada estéril; 20 µL; *v.o.*). Um grupo de animais sem tratamentos foi incluído (Naive). Após 1 hora dos tratamentos, os animais foram adicionados em placas de Petri de vidro (10 x 15 cm), contendo a mesma água do aquário, marcadas com quatro quadrantes, onde foi avaliado a atividade

locomotora através da contagem do número de cruzamento de linhas (CL). Fundamentando-se com o valor do CL do grupo Naive (100%).

A análise de toxicidade por *zebrafish* foi realizada a partir da metodologia proposta por Magalhães *et al.* (2017). No momento do experimento, os animais foram selecionados de forma aleatória, transferidos para uma esponja úmida e tratados com as amostras testes ou controle, por via oral (*v.o.*) (COLLYMORE; RASMUSSEN; TOLWANI, 2013). Para os tratamentos via oral foi usada pipeta automática variável de 20 µL com ponteiros estéreis, onde os animais (n=6/cada) foram tratados com 20 µL, via oral, de cada formulação (100% ou 75% ou 50%) ou veículo (água destilada estéril; 20 µL; *v.o.*). Em seguida, os animais foram acondicionados individualmente em copos de vidro (250 mL) contendo 150 mL de água do mesmo aquário para repouso. O grupo veículo (água destilada estéril) foi utilizado como controle. Após 96 horas dos tratamentos, foi anotado o número de peixes mortos em cada grupo e determinado a concentração letal capaz de matar 50% dos animais (CL<sub>50</sub>) através do método matemático Trimmed Spearman-Kärber com intervalo de confiança de 95% (ARELLANO-AGUILAR *et al.*, 2015).

#### **4.4.6 Análise Sensorial**

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética e aprovado com parecer nº 4.729.905. As formulações selecionadas e otimizadas foram estudadas sensorialmente de maneira adaptada devido ao momento pandêmico causado pela COVID-19 e necessidade de isolamento social. Então, para esse estudo foram realizados os testes *Check-All-That-Apply* (CATA), *Rate-all-that-apply* (RATA) e aceitação no domicílio dos provadores. Vale ressaltar que, para a produção e entrega das formulações foram seguidas as medidas preventivas orientadas pelo Ministério da Saúde (2020) e ANVISA (2020).

Antes de iniciar a avaliação das amostras, foi solicitado aos provadores o preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), que foi anexado ao questionário enviado para cada um dos provadores. A pesquisa só deu prosseguimento após a aprovação do projeto pelo comitê de ética, sendo necessário que os julgadores aceitassem, mediante as condições e critérios estabelecidos, participar voluntariamente do estudo.

Previamente, foram entregues na residência de cada provador três formulações de kombuchas de coprodutos de frutas (FCA, FCG e FCT), em garrafas PET, contendo em média 100 mL de produto, acompanhado de uma carta com todas instruções e com o link e QR code de acesso ao formulário.

Para limpeza do palato foi solicitado, no formulário, que os provadores bebessem um pouco de água mineral em temperatura ambiente entre uma amostra e outra (STONE; SIDEL, 2012).

#### 4.4.6.1 Teste de aceitação, CATA e RATA

Os testes foram aplicados com 60 provadores. As amostras foram avaliadas em copos plásticos contendo em média 100 mL de cada amostra. Foram disponibilizados formulários (Anexo A): teste de aceitação com notas atribuídas de 1 a 9, variando de 1 (desgostei muitíssimo) a 9 (gostei muitíssimo), para verificar o nível de aceitação dos participantes em relação à aparência, aroma, sabor e a aceitação global; e teste CATA com 24 termos descritivos, relacionados à aparência, ao sabor e ao aroma, para seleção de atributos que mais representassem o tipo de produto, além do teste RATA, onde os provadores avaliaram a aplicabilidade dos termos que se aplicavam às amostras, usando uma escala de 5 pontos, sendo 1 = pouquíssimo; 2 = pouco; 3 = médio; 4 = muito e 5 = muitíssimo. Os termos selecionados para serem aplicados no RATA, foram os seguintes: Aparência, Aroma e Sabor. Já os atributos utilizados para cada termo foram correspondentes a características presentes em cada formulação. O questionário utilizado para o teste RATA encontra-se presente no anexo A.

Também foram avaliadas quanto a intenção de compra através de escala estruturada de cinco pontos, na qual 5 representa “certamente compraria” e 1 “certamente não compraria” (DUTCOSKY, 2011).

#### 4.4.7 Estatística

A análise estatística foi realizada através de Análise de Variância (ANOVA) e Teste de Tukey ( $p=0,05$ ), onde foram utilizados para avaliar diferenças significativas entre as amostras, submetidas a mesma análise. A cinética de fermentação foi realizada por via da análise de regressão, onde os dados foram avaliados utilizando o *software SigmaStat*.

Os dados obtidos na análise sensorial foram avaliados por ANOVA, seguido por comparações das médias dos valores hedônicos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O teste de Cochran Q foi realizado afim de identificar diferenças significativas de cada atributo do método CATA. Os resultados da análise sensorial também foram avaliados através da Análise dos Componentes Principais (ACP). Todos os testes foram realizados por intermédio do programa Assistat, versão 7.7 beta, exceto a sensorial que foi realizada por intermédio do

programa XLSTAT (2021).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Teste de seleção dos coprodutos de frutas a serem utilizados no desenvolvimento das bebidas fermentadas

Os resultados da atividade antioxidante pelo ensaio ABTS<sup>+</sup> estão expressos na Tabela 4 como valor TEAC, que é definido como a concentração de Trolox que apresenta o mesmo percentual de inibição que uma concentração de 1 mM do composto de referência. Logo, quanto maior for o valor TEAC, mais forte é o seu potencial antioxidante.

Tabela 4 - Atividade antioxidante total (ABTS) dos coprodutos de frutas.

PARÂMETROS	Abacaxi	Maracujá	Cajá	Goiaba	Tamarindo	Acerola
ABTS (µmol TEAC/g)	1,2±0,01 <sup>e</sup>	1,3±0,03 <sup>e</sup>	5,7±0,02 <sup>c</sup>	2,06±0,05 <sup>d</sup>	28,3±0,28 <sup>b</sup>	44,6±0,42 <sup>a</sup>

**Fonte:** Dados da Pesquisa, 2022. <sup>a-e</sup>Média ± desvio-padrão com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Com base nos valores obtidos, três coprodutos de frutas foram selecionados para serem utilizados no desenvolvimento das bebidas fermentadas, dando preferência aos que apresentaram valores mais altos. Os coprodutos selecionados foram os seguintes: Acerola (44,6±0,42), Tamarindo (28,3±0,28) e Goiaba (2,06±0,05) (µmol TEAC/g). O coproduto de goiaba entrou como substituto para o coproduto de cajá (3º colocado), em virtude da falta de matéria prima, ocasionada pela entressafra da fruta.

Em um estudo realizado por Sousa e Vieira (2011), foram constatados os seguintes valores para atividade antioxidante: 0,14 ± 0,0015 para o extrato aquoso do coproduto de goiaba, 0,51 ± 0,103 para o extrato aquoso do coproduto de acerola e 0,11 ± 0,017 (µmol TEAC/g) para o extrato aquoso do coproduto de abacaxi, sendo ambos inferiores aos encontrados no presente estudo para os respectivos coprodutos. De Freitas *et al.* (2020) verificaram nos frutos de cajá um valor para atividade antioxidante que variou entre 15,86 ± 0,66 a 18,05 ± 0,26, (µmol TEAC/g), valores estes superiores ao encontrado nos coprodutos de cajá nesse estudo, já para a polpa de tamarindo, Canuto *et al.* (2010) constataram um de valor de 2,9 ± 0,2, (µmol TEAC/g) valor inferior ao encontrado no presente estudo para o coproduto de tamarindo (28,3 ± 0,28<sup>b</sup>) (µmol TEAC/g).

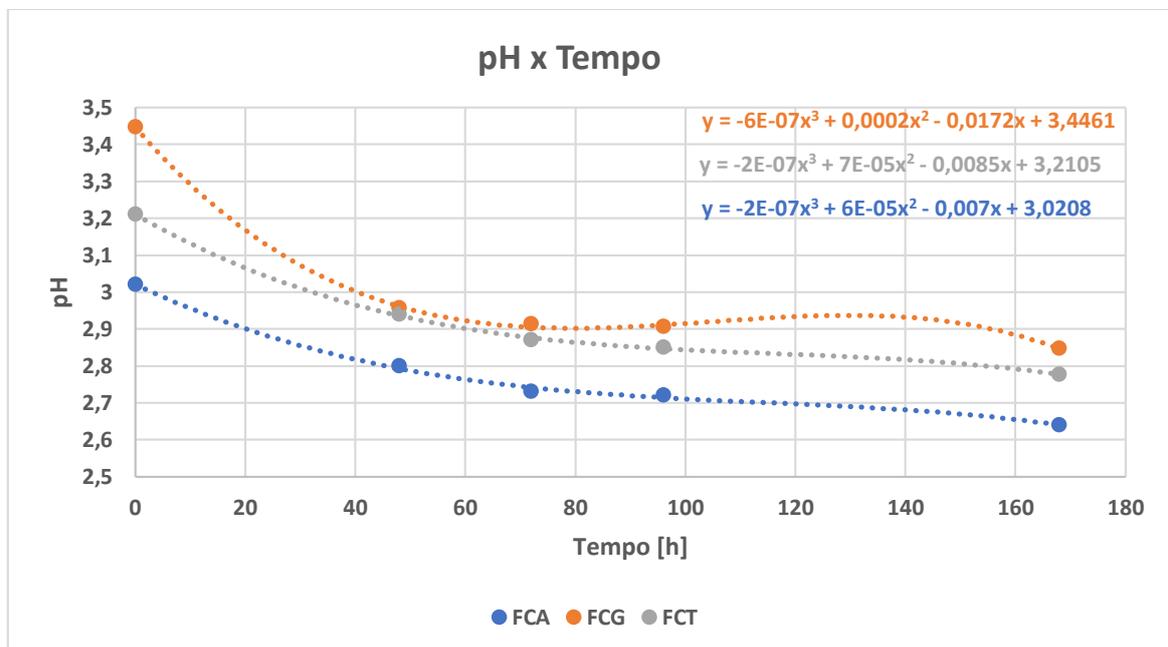
A avaliação e o consumo de compostos com capacidade antioxidante vêm despertando interesse de pesquisadores e consumidores, isso porque se associa o consumo dos mesmos a diminuição de doenças degenerativas, provenientes da presença de radicais livres. A capacidade antioxidante é atribuída à capacidade da amostra de extinguir os radicais livres, doando átomos de hidrogênio, elétrons ou cátions metálicos quelantes. Logo, os mesmos possuem a capacidade de prevenir os efeitos deletérios da oxidação e, quando incluídos à dieta humana, podem proporcionar diversos benefícios à saúde (MARIANO-NASSER *et al.* 2017; CHUAH *et al.* 2020).

Os benefícios proporcionados pelos antioxidantes naturais estão associados à presença de ácido ascórbico, antocianinas, carotenoides, compostos fenólicos e outros com atividade antioxidante, que podem ser encontrados com facilidade em diversas frutas e vegetais (RUFINO *et al.*, 2007; BATISTA *et al.*, 2018; CARVALHO *et al.*, 2020).

## 5.2 Cinética de fermentação

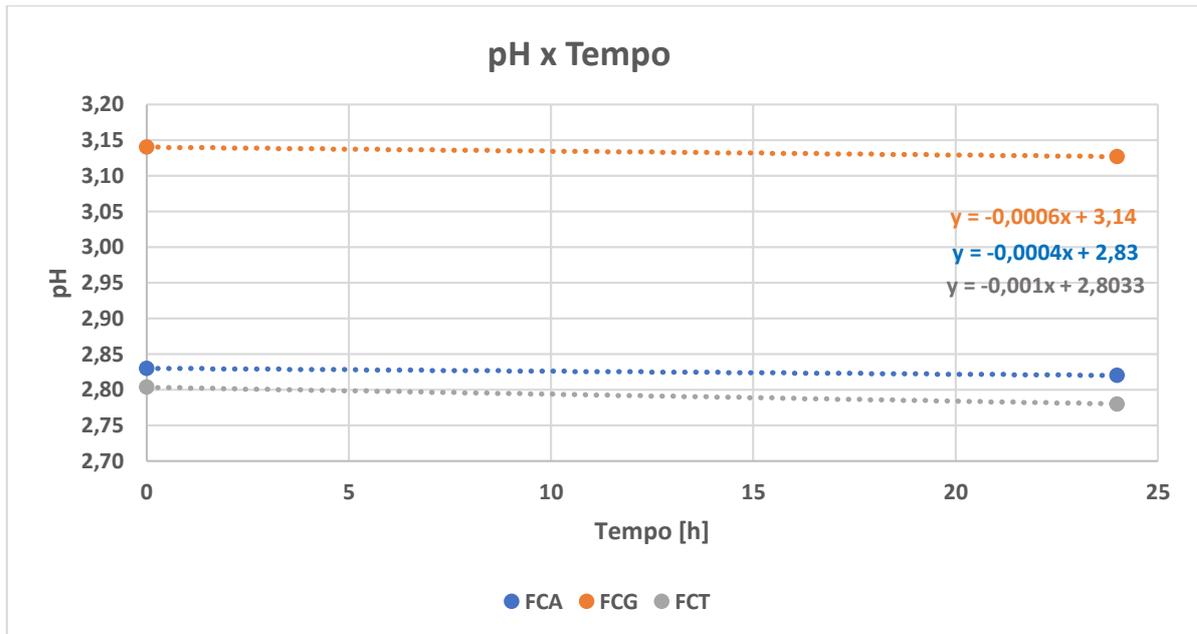
Os resultados para a cinética de pH podem ser observados nas Figuras 2 e 3, onde na Figura 2 estão expressos os resultados referentes à F1 de cada formulação e na Figura 3 os resultados obtidos na F2.

Figura 2 - Médias de pH das formulações FCA, FCG e FCT no decorrer da fermentação 1.



Fonte: Dados da Pesquisa, 2022.

Figura 3 - Médias de pH das formulações FCA, FCG e FCT no decorrer da fermentação 2.



**Fonte:** Dados da Pesquisa, 2022.

O pH é um parâmetro importante em processos fermentativos, pois garante a segurança contra o crescimento de micro-organismos patogênicos ( $\text{pH} < 4,2$ ) e previne alterações estruturais de compostos antioxidantes (HUR *et al.*, 2014).

Foi possível observar durante a primeira fermentação a redução do pH com o passar do tempo, onde na FCA o pH inicial foi de 3,02, após 48 horas o mesmo caiu para 2,8, onde no tempo final da F1 o mesmo reduziu para 2,64. Resultados semelhantes foram constatados na FCG, iniciando com pH de 3,45 e terminando com pH de 2,85. A FCT apresentou também uma redução com o passar do tempo, saindo de 3,21 para 2,78 ao final da F1.

Ao concluir a F1, foi realizado a leitura do pH durante a etapa de saborização (F2), que durou 24 horas, sendo realizado a leitura no tempo 0 e 24 horas, onde foi observado uma pequena redução do pH para todas as formulações, sendo a F1 responsável por uma maior redução do pH nas formulações.

Resultados semelhantes foram encontrados por Leonarski *et al.* (2021), que produziram bebidas do tipo kombucha utilizando coproduto de acerola, onde o pH inicial foi de 3,24, 3,34 e 3,27, respectivamente, para as bebidas preparadas com 1%, 3% e 5% de coproduto acerola, onde todas as amostras apresentaram comportamento semelhante, tendo uma redução do pH até o 12º dia de cultivo, constatando após 15 dias de fermentação um pH de 2,49, 2,54 e 2,58 respectivamente, sendo bem próximo dos valores encontrados ao final da F2 do presente estudo (FCA “2,82” FCG “3,12” e FCT “2,78”).

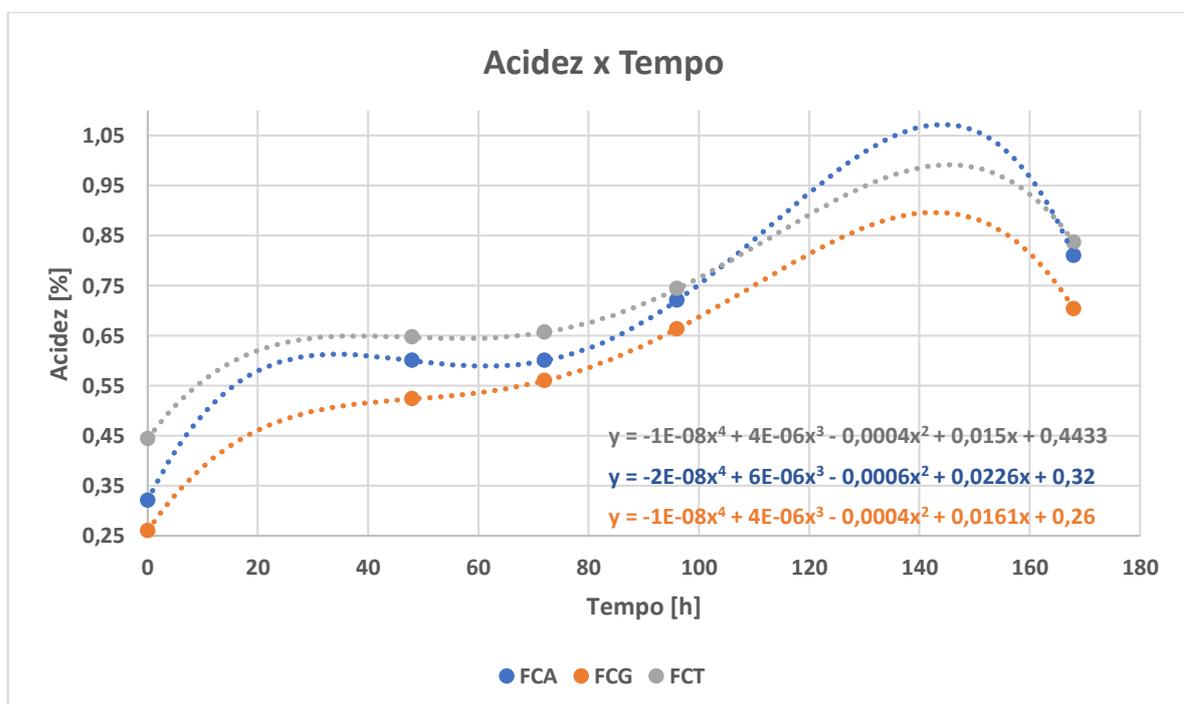
Ahmed; Hikal; Abol-Taleb (2020) ao avaliarem o pH de três tipos de kombucha fermentadas com arroz e cevada nos tempos de 6 e 8 dias de fermentação, conseguiram perceber a redução desse parâmetro do sexto dia para o oitavo dia, corroborando assim com os resultados constatados no presente estudo.

Essa queda observada em todas as formulações pode ser atribuída pela produção de ácidos orgânicos durante a fermentação, que provocam a redução do pH da kombucha, reduzindo assim o número de possíveis patógenos, gerando uma bebida segura para consumo, mesmo sendo de origem microbiana (MARTINEZ LEAL *et al.*, 2018). Segundo Jayabalan (2010), um pH final de 2,5 sinaliza o fim do processo fermentativo, estando este próximo ao que foi observado no final da F1.

Os valores de pH encontraram-se dentro da faixa permitida, conforme a instrução normativa que regulamenta a bebida (IN. n° 41, MAPA, 2019), onde a norma estabelece valores de pH entre 2,5 e 4,2 do produto final (BRASIL, 2019).

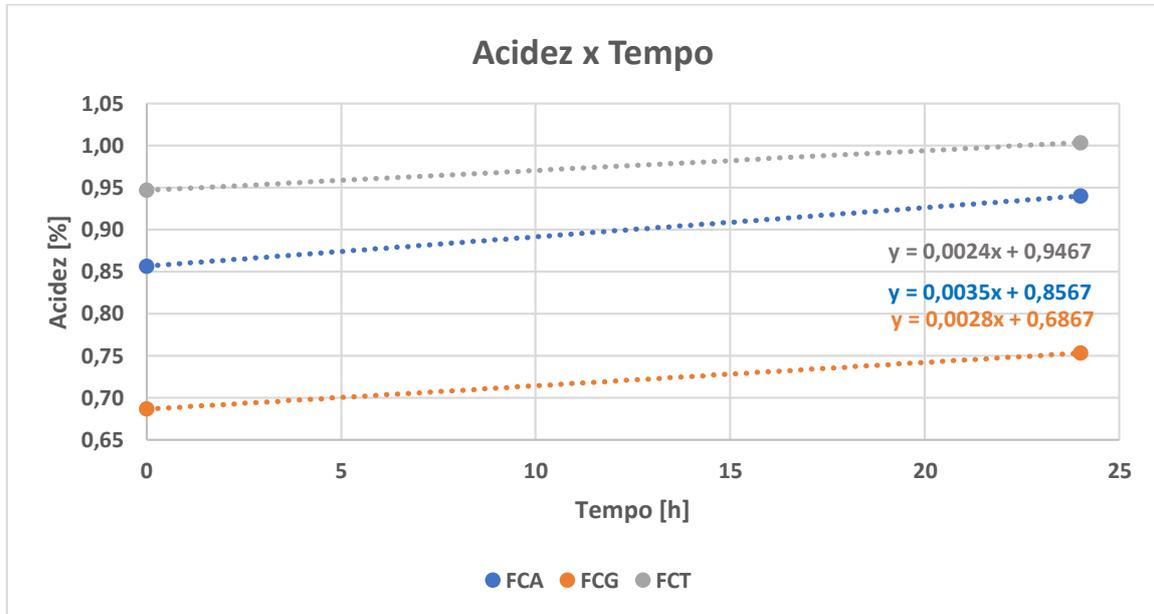
Através das Figuras 4 e 5 foi possível perceber em todas as formulações um aumento gradual da acidez (%) no decorrer das fermentações 1 e 2. A FCA iniciou com uma acidez de 0,32 %, evoluindo para 0,94% ao final da F2. Já a FCG teve uma acidez inicial de 0,26% e final de 0,75%. A FCT foi a formulação com maior percentual de acidez inicial e final, sendo respectivamente 0,44% e 1%. A FCG foi a formulação que obteve um menor percentual de acidez.

Figura 4 - Médias da % de acidez em ácido acético das formulações FCA, FCG e FCT no decorrer da fermentação 1.



Fonte: Dados da Pesquisa, 2022.

Figura 5 - Médias da % de acidez em ácido acético das formulações FCA, FCG e FCT no decorrer da fermentação 2.



Fonte: Dados da Pesquisa, 2022.

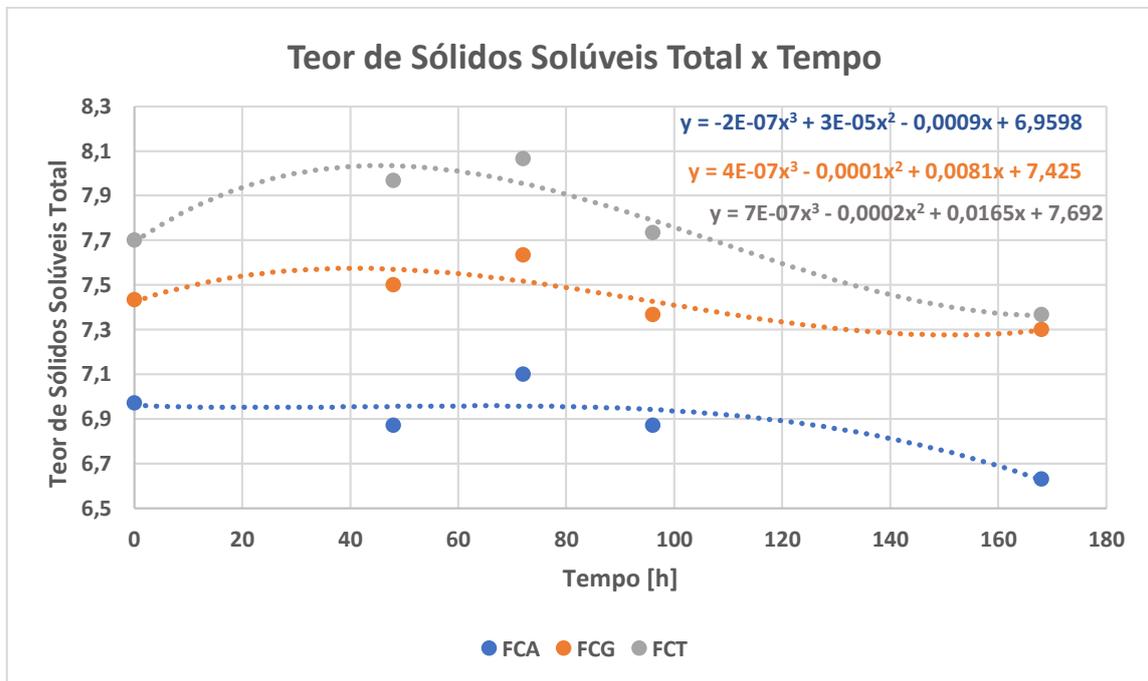
No estudo de Rodrigues *et al.* (2018), ao realizarem a caracterização físico-química em uma kombucha à base de hibisco, encontraram um valor igual a 0,18% de acidez titulável. Os valores relatados estão consideravelmente abaixo dos valores encontrados no presente estudo, isso pode ser explicado devido ao fato de que o substrato utilizado para fermentar foi diferente, bem como o tempo de fermentação e o SCOBY.

Já Tannticharakunsiri *et al.* (2021), encontraram um valor de acidez titulável de aproximadamente 0,6% em uma Kombucha fermentada com chá oolong por 7 dias, próximo ao verificado em determinados tempos para algumas formulações do presente estudo, como a FCA que obteve 0,6% nos tempos de 48 e 72 horas.

O aumento significativo da acidez titulável no decorrer do processo fermentativo é um comportamento esperado, isto por conta da produção de ácidos característicos que são gerados através do metabolismo das bactérias acéticas. Entretanto, as oscilações observadas neste experimento podem ser decorrentes da rápida volatilização do ácido acético que pode ter ocorrido durante a coleta das amostras ou até mesmo no decorrer do período fermentativo devido à porosidade do tecido usado para a cobertura do bocal, o que pode ter facilitado a volatilização dos ácidos. Um teor de acidez total titulável entre 0,4 e 0,45 % tem sido relatado como indicativo do término do processo fermentativo (VELICANSKI *et al.*, 2014).

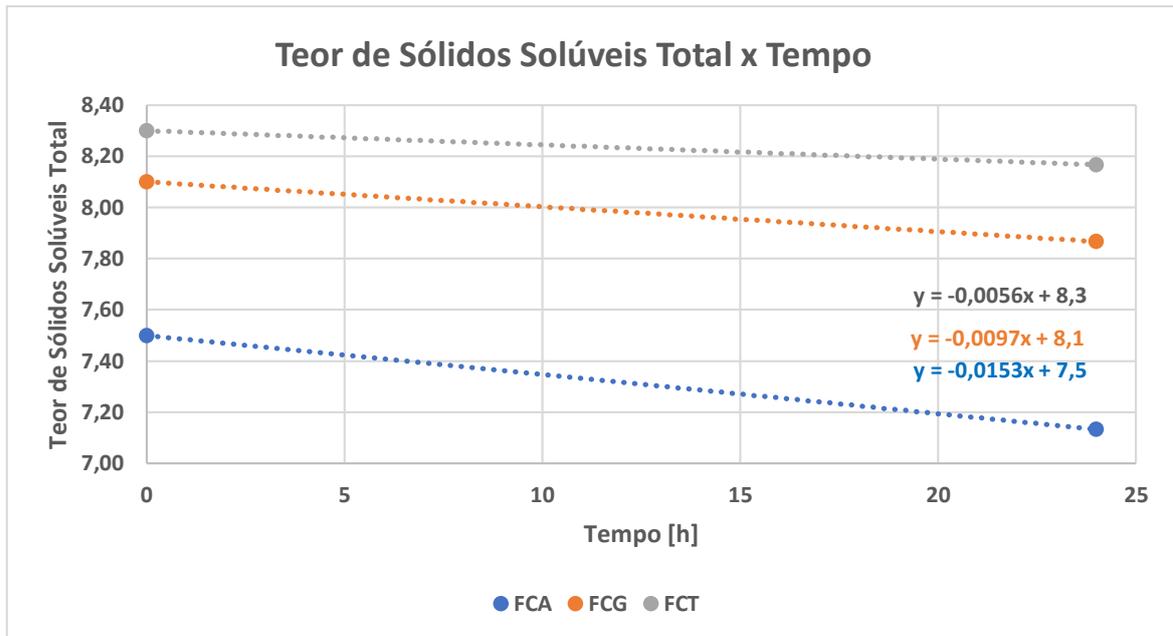
Rodrigues *et al.* (2018) afirmam que a produção de ácidos durante o processo de fermentação justifica a variação dos sólidos solúveis totais, visto que as bactérias acéticas presentes no SCOBY consomem o açúcar, convertendo-os em ácidos orgânicos.

Figura 6 - Médias do Teor de Sólidos solúveis total (°Brix) das formulações FCA, FCG e FCT no decorrer da fermentação 1.



Fonte: Dados da Pesquisa, 2022.

Figura 7 - Médias do teor de Sólidos solúveis total (°Brix) das formulações FCA, FCG e FCT no decorrer da fermentação 2.



Fonte: Dados da Pesquisa, 2022.

A FCA iniciou a primeira fermentação com um teor de sólidos totais de 6,97 e finalizou com 6,63, onde ao iniciar a F2 teve um aumento significativo (7,50), sendo reduzido para 7,13 em 24 horas. A FCG, iniciou com 7,43 e finalizou a F1 com 7,30, tendo também um aumento ao iniciar a F2 (8,10), reduzindo após 24 horas (7,87). As mesmas observações foram percebidas na FCT, onde iniciou a F1 com 7,70 e encerrou com 7,37, aumentando durante a F2 (8,30) e reduzindo ao final da F2 para 8,17.

A redução dos teores de sólidos solúveis totais foi observada em todas as formulações para ambas as fermentações (F1 e F2). O aumento do mesmo ao iniciar a F2 (saborização) pode ser atribuído a adição da polpa de fruta para o processo de saborização.

### 5.3 Caracterização Físico-química das formulações de kombucha

Na Tabela 5 são apresentados os parâmetros físico-químicos obtidos para as formulações: FCA, FCG e FCT.

Tabela 5 - Caracterização Físico-química das Formulações de Kombucha.

Característica	FCA	FCG	FCT
Umidade (%)	95,41 ± 0,06 <sup>a</sup>	93,69 ± 0,23 <sup>b</sup>	93,81 ± 0,16 <sup>b</sup>
Cinzas (%)	0,16 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,13 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,15 ± 0,01 <sup>ab</sup>

<b>Atividade de Água (aw)</b>	0,99 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,99 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,99 ± 0,00 <sup>a</sup>
<b>Proteína (%)</b>	0,11 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,10 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,11 ± 0,01 <sup>a</sup>
<b>Lipídeos (%)</b>	0,46 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,46 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,46 ± 0,01 <sup>a</sup>
<b>ABTS (µmol TEAC/g)</b>	19,96 ± 0,77 <sup>a</sup>	1,32 ± 0,04 <sup>b</sup>	1,08 ± 0,06 <sup>b</sup>

**Fonte:** Dados da Pesquisa, 2022. <sup>a-c</sup>Média ± desvio-padrão com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). Legenda: FCA (Formulação com Coproduto de Acerola; FCG (Formulação com Coproduto de Goiaba) e FCT (Formulação com Coproduto de Tamarindo).

Constatou-se uma alta umidade, variando entre 93,69 ± 0,23 (FCG) a 95,41 ± 0,06 (FCA) (%). Por se tratar de bebidas fermentadas que contém uma grande quantidade de água em sua composição, essa alta umidade e atividade de água são esperadas.

Os teores de cinzas variaram entre 0,13±0,01 (FCG) a 0,16±0,02 (FCA) (%), esses baixos valores encontrados nas formulações podem ser atribuídos ao alto teor de umidade presente nas mesmas. O conteúdo de cinzas está associado à matéria inorgânica do alimento, assim, alimentos com alto percentual de água apresentam baixa quantidade de resíduos incinerados (PERFEITO; CORRÊA; PEIXOTO, 2017).

A atividade de água (aw) é considerada um importante fator na avaliação da estabilidade de bebidas e alimentos, isso por corresponder a água termodinamicamente disponível para as reações químicas e bioquímicas (AZEREDO *et al.*, 2012).

Além disto, a atividade de água (aw) é capaz de fornecer dados importantes sobre a umidade contida na matéria-prima. Observa-se que, quanto menor essa atividade, mais lentas serão as reações bioquímicas e com isso, menor será a mobilidade da atividade enzimática (SILVEIRA *et al.*, 2016).

De acordo com Ribeiro e Seravalli (2007), a atividade de água é classificada em baixa (aw até 0,600), intermediária (entre 0,600 a 0,900) e alta (acima de 0,900). Diante disso, todas as formulações obtiveram uma alta atividade de água, variando entre 0,99 ± 0,00 (FCA) a 0,99 ± 0,00 (FCG e FCT) (%).

Os teores protéicos verificados nas amostras foram respectivamente de 0,11 ± 0,00 para a FCA, 0,10 ± 0,01 para FCG e 0,11 ± 0,01 para FCT (%), não sendo observada diferença significativa entre as amostras (p<0,05). Cardoso *et al.* (2018) constataram um valor de 0,087 mg/100mL de proteína nas amostras de kombucha de chá preto. Já Moraes; Bender & Kottwitz (2020) verificaram na kombucha de maracujá uma quantidade de proteínas de 0,20 g/100mL, enquanto a kombucha de uva apresentou 0,33g/100mL, valores semelhantes aos obtidos no presente trabalho.

Os lipídeos são compostos importantes em alimentos, pois conferem apelo sensorial e palatabilidade, incluindo qualidades desejáveis de textura, sabor e cor, além disso, os lipídios de origem animal e ou vegetal desempenham funções essenciais no organismo humano, atuando como fonte de reserva de energia, síntese de diversas substâncias ou melhor funcionamento destas, como as vitaminas lipossolúveis, fosfolipídios e os esteróis (SCHERR; RIBEIRO, 2009; MONTESANO *et al.*, 2018).

As amostras apresentaram um baixo teor de lipídeos ( $0,46 \pm 0,02$  para FCA,  $0,46 \pm 0,01$  para FCG e  $0,46 \pm 0,01$  para FCT (%)), não diferindo entre si ( $p < 0,05$ ). O baixo teor lipídico das amostras está associado ao fato de boa parte das matérias primas utilizadas terem em sua composição uma baixa quantidade de lipídeos, como por exemplo a água e o açúcar. Segundo a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO (2011), a goiaba vermelha apresenta 0,4% de lipídeo em sua composição, já a acerola contém 0,2 % e o tamarindo 0,5%, logo, essa pequena quantidade constatada nas formulações já era esperada tendo em vista a matéria-prima utilizada.

No estudo realizado por Moraes; Bender & Kottwitz (2020) foi constatado valores semelhantes ao do presente estudo, para o teor lipídico de kombuchas acrescidas de polpas de frutas (uva, morango e maracujá), variando entre 0,3% a 0,5 %.

Os valores encontrados para atividade antioxidante foram os seguintes:  $19,96 \pm 0,77$  para FCA,  $1,32 \pm 0,04$  para FCG e  $1,08 \pm 0,06$  ( $\mu\text{mol TEAC/g}$ ) para FCT, sendo constatado diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Na análise de atividade antioxidante referente aos coprodutos, o que obteve maior valor foi o de acerola ( $44,6 \pm 0,42$ ), corroborando com isto, a formulação com maior potencial antioxidante também foi a que teve em sua base o coproduto de acerola ( $19,96 \pm 0,77$ ).

Quando comparado com a atividade antioxidante dos coprodutos de frutas (Acerola ( $44,6 \pm 0,42$ ), Tamarindo ( $28,3 \pm 0,28$ ) e Goiaba ( $2,06 \pm 0,05$ ) ( $\mu\text{mol TEAC/g}$ ), é possível perceber uma redução nos valores, associado à diluição para elaboração da bebida e a temperatura aplicada durante o processo de produção. Além disto, a diferença significativa entre uma formulação e outra pode estar associada ao fato de ter sido utilizado coprodutos de frutas diferentes, além das condições climáticas e composição do solo de onde as frutas foram colhidas (CIRIC *et al.*, 2020).

Mizuta *et al.* (2020) constataram nas kombuchas com chá verde uma atividade antioxidante de 11.352,83 a 11.508,42 ( $\mu\text{mol TEAC/g}$ ), resultados estes inferiores ao encontrado no presente estudo para a FCA ( $19,96 \pm 0,77$   $\mu\text{mol TEAC/g}$ ).

Em um estudo realizado por La torre *et al.* (2021) foi verificado a atividade antioxidante de kombuchas fermentadas com chá preto, pelo método de ABTS, onde obtiveram valores que variaram entre  $0,4 \pm 0,1$  até  $9,6 \pm 0,3$  ( $\mu\text{mol TEAC/g}$ ).

Dada *et al.* 2021 verificaram nas kombuchas fermentadas com chá verde um valor de  $59,70 \pm 0,81\%$  para a atividade antioxidante, sendo este superior ao encontrado em todas as formulações nesse estudo, este alto valor encontrado pode ser atribuído aos compostos fenólicos presentes em chás, que geralmente são encontrados em maiores teores quando comparados aos coprodutos de frutas. Porém, destaca-se que a adição desses coprodutos de frutas pode ser benéfica do ponto de vista nutricional, pois em geral, esses possuem um alto teor nutricional em vitaminas, minerais, lipídios e principalmente em fibras (LIMA *et al.*, 2019).

Almeida *et al.* (2015) ao analisarem a atividade antioxidante por ABTS do suco de laranja adicionado de oligossacarídeo verificaram uma quantidade de  $4,97 \mu\text{M}$  de Trolox/g. Já Machado; Monteiro e Tiecher (2019), ao analisarem as polpas pasteurizadas e não pasteurizadas de *Physalis*, constataram os seguintes valores para atividade antioxidante:  $2,44$  e  $1,98 \mu\text{M}$  de Trolox/g, respectivamente. Rufino *et al.* (2010) processaram o pedúnculo do caju para a obtenção da polpa e após análise observaram uma atividade antioxidante de  $11,2 \mu\text{mol}$  de trolox/g. Carlini e Severo (2018) desenvolveram um suco misto com abacaxi, amora, araçá-vermelho, banana, jaboticaba, morango e sacarose, onde ao avaliar a atividade antioxidante, verificaram um valor de  $8,48 \mu\text{mol}$  de trolox/g.

Os benefícios que os antioxidantes naturais podem trazer para saúde estão associados à presença de ácido ascórbico, antocianinas, carotenoides, compostos fenólicos e outros compostos naturais encontrados em frutas e vegetais (RUFINO *et al.*, 2007; BATISTA *et al.* 2018; CARVALHO *et al.* 2020).

Diante disso, é válido ressaltar que os valores verificados nas formulações denotam grande importância econômica e nutricional, por se tratar de bebidas que tiveram a aplicação de coprodutos de frutas remanescente de um processamento e ainda assim apresentar valores consideráveis na atividade antioxidante.

#### **5.4 Análises microbiológicas**

Os resultados das análises microbiológicas estão expressos na Tabela 6. Os resultados obtidos indicam que as formulações desenvolvidas são seguras para consumo, do ponto de vista microbiológico.

Tabela 6 - Características Microbiológicas das Formulações selecionadas.

<b>Característica</b>	<b>FCA</b>	<b>FCG</b>	<b>FCT</b>
<b>Coliformes Totais e Termotolerantes</b>	<1 UFC/ mL	<1 UFC/ mL	<1 UFC/ mL
<i>Escherichia coli</i>	<1 UFC/ mL	<1 UFC/ mL	<1 UFC/ mL
<b>Mesófilos Aeróbios</b>	<1 UFC/ mL	<1 UFC/ mL	<1 UFC/ mL
<i>Salmonella spp.</i>	Ausente	Ausente	Ausente

**Fonte:** Dados da Pesquisa, 2022. **Legenda:** FCA (Formulação com Coproduto de Acerola; FCG (Formulação com Coproduto de Goiaba) e FCT (Formulação com Coproduto de Tamarindo).

A contaminação por alimentos pode ocorrer em qualquer etapa de produção desde o beneficiamento até a distribuição para o consumo. O consumo de alimentos contaminados pode causar quadros infecciosos leves ou graves dependendo do tipo de micro-organismo e/ou toxina presente no alimento (SANTANA; VIEIRA; PINTO, 2015).

A excelente qualidade microbiológica das formulações pode ser explicada pelo uso de boas práticas de fabricação, além das características físico-químicas e microbiológicas associadas ao processo fermentativo, como por exemplo o pH do produto e possivelmente as altas contagens de bactérias ácido-acéticas e leveduras, inibindo assim o crescimento de microrganismos indesejáveis (DOS SANTOS; BARBOSA; LACERDA, 2017).

Ayed; Abid & Hamdi, (2017) observaram nas kombuchas desenvolvidas com suco de uva vermelha uma quantidade de 2,7 UFC/mL para *E. coli*. Já Da Silva e Paulo, (2021) verificaram em suas kombuchas uma quantidade de 3,85 UFC/mL, estando ambas seguras para o consumo, do ponto de vista microbiológico.

A instrução normativa nº 41, de 17 de setembro de 2019 estabelece que a kombucha deve atender os padrões microbiológicos estabelecido pela Resolução RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019 onde a presença de contaminantes microbiológicos não deve ser superior ao estabelecido pela mesma (BRASIL, 2001; BRASIL, 2019).

A Resolução RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019, determina alguns padrões microbiológicos para vários grupos de alimentos, onde o mais próximo da kombucha é o grupo SUCOS E OUTRAS BEBIDAS "in natura" OU RECONSTITUÍDAS, na qual microrganismos do tipo *Salmonella*/25mL deve estar ausente e *Escherichia coli*/mL deve conter no máximo 10 UFC/mL. Para os demais micro-organismos analisados, a mesma resolução não define nenhum padrão a se seguir, onde a análise desses microrganismos foi realizada com o intuito de fornecer mais informações sobre a microbiologia das formulações. Atualmente não existe nenhuma

resolução vigente que determine como devem ser os padrões microbiológicos para kombucha (BRASIL, 2001).

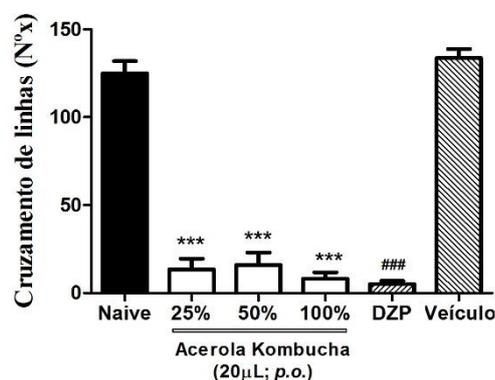
### 5.5 Atividade locomotora (Teste de Campo Aberto)

Um dos parâmetros utilizados para estudos comportamentais em animais adultos é a análise da atividade locomotora por exploração de um campo aberto (BICHARA *et al.*, 2014; FERREIRA *et al.*, 2020).

A atividade locomotora é um dos métodos de análise comportamental mais utilizados atualmente para examinar possíveis efeitos de determinadas drogas sob o sistema nervoso central do zebrafish (*Danio rerio*) adulto, sendo possível detectar se determinada substância está associada a algum comprometimento locomotor (TAYLOR *et al.*, 2017).

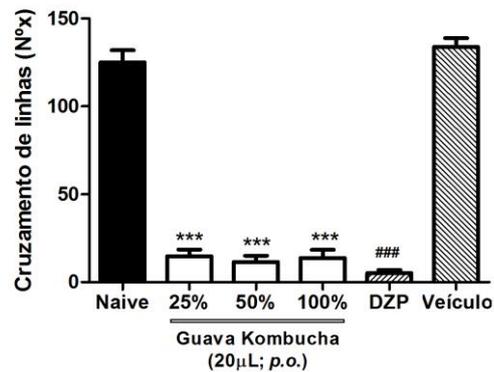
As alterações no comportamento desses animais iniciam com o aumento ou redução da natação e são parâmetros que indicam o estado geral interno do animal, caracterizando-se pela tentativa de fuga diante da exposição ao estresse (LITTLE; FAIRCHILD; DELONAY, 1993; SANTOS *et al.*, 2016). Nas Figuras 8, 9 e 10 é possível observar os resultados para o teste de campo aberto das formulações de kombucha obtidas com coprodutos de frutas tropicais.

Figura 8 - Cruzamento de linhas referente a formulação FCA, nas concentrações de 25, 50 e 100%.



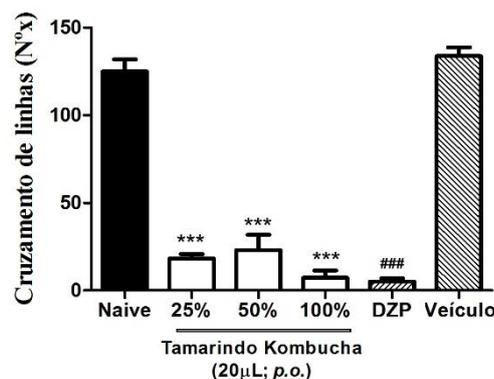
Dados da Pesquisa, 2022. Efeito da Formulação FCA (25, 50 e 100%) na atividade locomotora de zebrafish adulto, analisado individualmente durante 0-5 min por via do teste de campo aberto. Naive - animais não tratados; v.o. – administração via oral da Kombucha FCA. Veículo – água destilada estéril (20  $\mu$ L; v.o.). DZP - administração via oral de diazepam (20  $\mu$ L; v.o.). Os valores representam a média  $\pm$  desvio padrão da média para 6 animais/grupo; ANOVA seguida de Tukey.

Figura 9 - Cruzamento de linhas referente a formulação FCG, nas concentrações de 25, 50 e 100%.



Dados da Pesquisa, 2022. Efeito da Formulação FCG (25, 50 e 100%) na atividade locomotora de zebrafish adulto, analisado individualmente durante 0-5 min por via do teste de campo aberto. Naive - animais não tratados; v.o. – administração via oral da Kombucha FCG. Veículo – água destilada estéril (20 µL; v.o.). DZP - administração via oral de diazepam (20 µL; v.o.). Os valores representam a média ± desvio padrão da média para 6 animais/grupo; ANOVA seguida de Tukey.

Figura 10 - Cruzamento de linhas referente a formulação FCT, nas concentrações de 25, 50 e 100%.



Dados da Pesquisa, 2022. Efeito da Formulação FCT (25, 50 e 100%) na atividade locomotora de zebrafish adulto, analisado individualmente durante 0-5 min por via do teste de campo aberto. Naive - animais não tratados; v.o. – administração via oral da Kombucha FCT. Veículo – água destilada estéril (20 µL; v.o.). DZP - administração via oral de diazepam (20 µL; v.o.). Os valores representam a média ± desvio padrão da média para 6 animais/grupo; ANOVA seguida de Tukey.

Como resultado, observou-se que as formulações FCA, FCG e FCT ocasionaram um comprometimento motor do zebrafish, onde ocorreu uma redução no número de cruzamento de linhas na placa de petri pelos animais, resultado significativamente diferente do grupo naive e próximo ao do grupo que recebeu diazepam (droga ansiolítica que tem efeito sedativo).

A diminuição da atividade locomotora em zebrafish adulto causada pelas formulações testadas, sugere uma possível ação sedativa, tais como os provocados pelos benzodiazepínicos

(drogas ansiolíticas), os quais diminuem atividade locomotora (mobilidade) do zebrafish (*D. rerio*) adulto em campo aberto (BENNEH *et al.*, 2017; GUPTA *et al.*, 2014).

Pelo fato da composição intestinal do zebrafish (*D. rerio*) ser semelhante à de humanos, o zebrafish tem sido amplamente utilizado como um organismo modelo alternativo para avaliar a eficácia de probióticos, agregado a isto, alguns estudos vêm avaliando o possível efeito sedativo ocasionado pelo uso de probióticos, o que pode ter ocorrido no presente estudo, visto que as formulações testadas foram provenientes de uma fermentação realizada com uma gama de microrganismos.

Segundo Fenster *et al.* (2019), a funcionalidade das cepas probióticas pode ser significativamente influenciada quando é fortificada em matrizes alimentares. Atualmente, tem-se um grande interesse no desenvolvimento de produtos probióticos desenvolvidos com combinações de fitoquímicos vegetais, de modo a obter benefícios adicionais para a saúde pertencente a cada ingrediente. Os compostos fenólicos, principalmente, de frutas e vegetais podem ter efeitos aditivos ou sinérgicos com as cepas probióticas. Este raciocínio levou ao desenvolvimento de muitas bebidas fermentadas à base de frutas, como a do presente estudo (PEREIRA; RODRIGUES, 2018; XU *et al.*, 2018).

Com base nas evidências acumulativas, está se tornando cada vez mais claro que as bactérias probióticas podem afetar a função cerebral e saúde dos animais hospedeiros através dos seguintes mecanismos inter-relacionados: (1) efeitos diretos na neurotransmissão; (2) absorção reduzida de LPS (Lipopolissacarídeo) e redução da produção de citocinas inflamatórias; e (3) regulação negativa da reação HPA (Eixo hipotálamo-pituitária-adrenal) a estressores exógenos (CRYAN E DINAN, 2012).

Davis *et al.* (2016) relataram que a cepa *L.plantarum* atenuou o comportamento relacionado à ansiedade e protegeu contra a disbiose induzida pelo estresse em zebrafish adulto. Já em outro estudo realizado por Valcarce *et al.* (2020), verificou-se por via da ingestão prolongada (4 meses) de *Lactobacillus rhamnosus* CECT8361 e *Bifidobacterium longum* CECT7347, uma alteração no padrão de natação em zebrafish. Esta resposta comportamental primária está correlacionada a um menor estado de ansiedade, sugerindo o mesmo que a ingestão desta mistura de probióticos pode ser considerada um tratamento benéfico para episódios de ansiedade.

Agregado a isto, Liu *et al.* (2020) verificaram por via administração de cepas do probiótico *L. rhamnosus*, que as mesmas promoveram uma alteração no sistema colinérgico, glutamatérgico e gabaérgico em zebrafish, afetando as concentrações e o metabolismo de vários

neurotransmissores. Os resultados obtidos pelos mesmos corroboram com os resultados encontrado por Borrelli *et al.*, (2016) e Davis *et al.*, (2016).

Por mais que já se tenha diversos estudos que avaliaram o possível efeito sedativo de diversos probióticos frente ao zebrafish, há a necessidade de mais estudos que investiguem o efeito sedativo e as vias de atuação da kombucha frente ao zebrafish, sendo esse estudo um dos pioneiros na área.

## **5.6 Teste de toxicidade aguda 96h das formulações selecionadas**

A toxicologia é responsável pelo estudo da interação do organismo vivo quando entra em contato com as substâncias químicas, podendo ter efeitos tóxicos leves ou permanentes. Os testes de toxicidade são de extrema importância para o registro e a autorização de produtos químicos, fito-farmacêuticos, veterinários e aditivos alimentares (BRAUNBECK *et al.*, 2015).

Nativo do sudoeste da Ásia, o peixe da espécie *D. rerio*, conhecido popularmente por zebrafish, possui alta similaridade fisiológica com os seres humanos, apresenta respostas comportamentais robustas e tem seu genoma inteiramente sequenciado e caracterizado (CACHAT *et al.*, 2013).

O zebrafish adulto vem sendo empregado como modelo animal complementar ao uso de roedores em testes genéticos, biologia do desenvolvimento, neurobiológicos e toxicológicos, pois apresenta baixo custo, adaptabilidade diversa, ciclo de reprodução curto, alta fecundidade e embriões transparentes (BICHARA *et al.*, 2014; RESENDE e SOCCOL, 2015). Seu pequeno tamanho na fase adulta requer diminuição da quantidade das substâncias a serem testadas e dosadas, bem como as quantidades de reagentes e materiais utilizados no tratamento e manutenção dos animais (HILL *et al.*, 2005).

Assim, o zebrafish compreende um excelente modelo para a avaliação da toxicidade de compostos e a biossegurança de possíveis novos produtos farmacêuticos, além de ser menos dispendioso e pode ser realizado rapidamente em grandes números de compostos em paralelo. Uma das vantagens do uso deste animal é que os produtos químicos ou as drogas novas são facilmente apresentados via oral através da adição à água ou no caso do presente estudo, a própria bebida fermentada administrada em sua totalidade ou diluída, sendo assim necessário muito pouco composto de teste quando comparado aos estudos de dosagem em mamíferos (LIU *et al.*, 2013).

Na Tabela 7 é possível perceber que para todas as amostras do estudo não foi registrado nenhuma mortalidade após 96h, com valores  $CL_{50} > 0,25$  mg / mL, para todas as amostras

testadas. Diante disso, as formulações mostram-se seguras para o consumo humano, não apresentando toxicidade capaz de comprometer a saúde humana.

Tabela 7 - Mortalidade por dose analisada para o teste de toxicidade aguda das amostras FCA, FCG e FCT frente ao zebrafish adulto.

Amostra	Mortalidades do Zebrafish Adulto				96h
	CN	C1	C2	C3	CL <sub>50</sub> (mg/mL) / IV
FCA	0	0	0	0	> 0,25
FCG	0	0	0	0	> 0,25
FCT	0	0	0	0	> 0,25

**Fonte:** Dados da Pesquisa, 2022. CN: Grupo controle negativo - água destilada estéril; FCA: Formulação com Coproduto de Acerola; FCG: Formulação com Coproduto de Goiaba; FCT: Formulação com Coproduto de Tamarindo; C1: concentração 1 (100% de kombucha; 20 µL; v.o.); C2: concentração 2 (75% de kombucha; 20 µL; v.o.); C3 – concentração 3 (25% de kombucha; 20 µL; v.o.); CL<sub>50</sub>: concentração letal para matar 50% dos Zebrafish adulto; IV – intervalo de confiança.

Em um estudo realizado por Bantim *et al.* (2020), foi avaliado a toxicidade do óleo essencial de cravo em zebrafish, sendo considerados atóxicos em todas as concentrações testadas.

Não foi encontrado na literatura nenhum tipo de estudo que utilizou essa metodologia para avaliar a toxicidade da kombucha ou em bebidas similares, tornando-se pioneiro para este tipo de bebida.

## 5.7 Análise sensorial

Dentre os participantes da análise sensorial, a maioria era do sexo feminino (60%). Quanto à faixa etária, 37% tinham de 18 a 25 anos, 32% de 26 a 35, 18% de 36 a 50, 8% tinham de 51 a 65 anos e apenas 5% tinham menos de 18 anos.

Para identificar se houberam diferenças significativas entre as formulações para cada termo descrito na lista utilizou-se o teste Q de Cochran (Tabela 8). Logo em seguida foi realizada a comparação múltipla pareada utilizando o procedimento de McNemar (Bonferroni) entre os mesmos atributos em cada amostra, cujos resultados estão descritos abaixo na Tabela 9.

Tabela 8 - Teste de Cochran para comparação de cada atributo.

Atributos	p-valores
-----------	-----------

Brilhante	0,529
Translúcido (límpido)	0,735
Homogênea	0,607
Sedimentado	0,553
Presença de bolhas	0,565
Aroma doce	0,012
Aroma cítrico	0,807
Aroma ácido	0,558
Aroma de vinagre	0,135
Aroma de fermentado	0,852
Gosto ácido	0,039
Gosto doce	0,651
Gosto salgado	0,513
Gosto amargo	0,105
Sabor cítrico	0,025
Sabor de vinagre	0,004
Sabor fermentado	0,695
Sensação adstringente	0,264
Sensação picante	0,717
Sensação frisante	0,449

**Fonte:** Dados da Pesquisa, 2022.

Tabela 9 - Comparação múltipla entre os resultados do teste CATA para cada atributo em todas as amostras por meio do procedimento de McNemar (Bonferroni).

Atributos	FCA	FCG	FCT
Brilhante	0,750 (a)	0,700 (a)	0,717 (a)
Translúcido (límpido)	0,650 (a)	0,617 (a)	0,650 (a)
Homogênea	0,817 (a)	0,800 (a)	0,783 (a)
Sedimentado	0,700 (a)	0,633 (a)	0,700 (a)
Presença de bolhas	0,833 (a)	0,800 (a)	0,800 (a)
Aroma doce	0,717 (a)	0,883 (a)	0,767 (a)
Aroma cítrico	0,850 (a)	0,833 (a)	0,817 (a)
Aroma ácido	0,767 (a)	0,750 (a)	0,800 (a)
Aroma de vinagre	0,683 (a)	0,650 (a)	0,750 (a)
Aroma de fermentado	0,783 (a)	0,750 (a)	0,783 (a)
Gosto ácido	0,833 (a)	0,900 (a)	0,883 (a)
Gosto doce	0,767 (a)	0,783 (a)	0,750 (a)
Gosto salgado	0,583 (a)	0,583 (a)	0,617 (a)
Gosto amargo	0,650 (a)	0,600 (a)	0,650 (a)
Sabor cítrico	0,933 (a)	0,817 (a)	0,867 (a)
Sabor de vinagre	0,750 (b)	0,600 (a)	0,717 (ab)
Sabor fermentado	0,800 (a)	0,767 (a)	0,767 (a)
Sensação adstringente	0,583 (a)	0,550 (a)	0,550 (a)
Sensação picante	0,567 (a)	0,550 (a)	0,567 (a)
Sensação frisante	0,717 (a)	0,717 (a)	0,750 (a)

**Fonte:** Dados da Pesquisa, 2022.

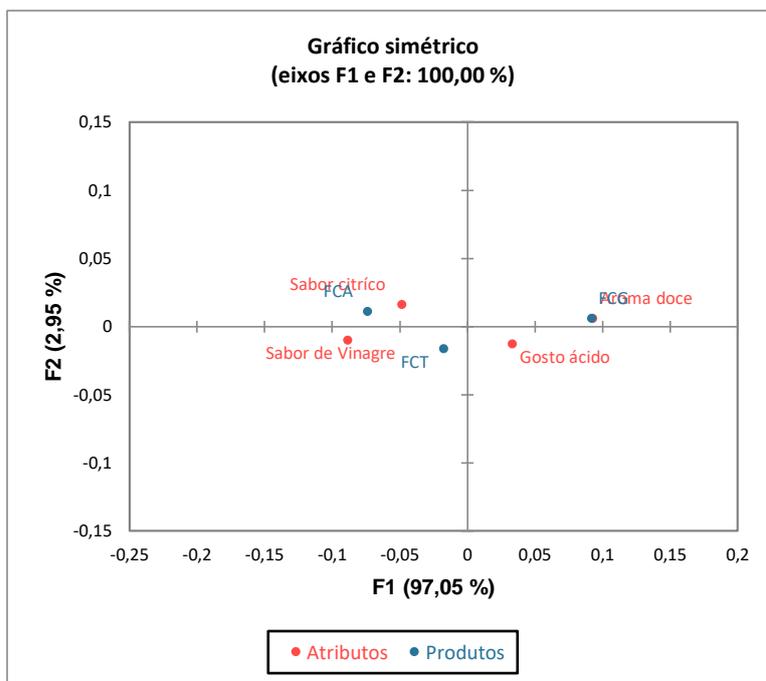
<sup>a, b</sup>: Médias com letras iguais, em mesma linha, não diferem entre si ao nível de 5% de significância.

O resultado do teste Q de Cochran (Tabela 9) indicaram os termos mais citados pelos participantes. Os quatro descritores significativos no nível de 5% foram: aroma doce, gosto ácido, sabor cítrico e sabor de vinagre, a qual foram utilizados para realização do CATA.

A Figura 11 mostra a correlação entre as formulações e os atributos sensoriais. Pode-se verificar que os atributos mais relacionados à formulação FCA foram: sabor fermentado, sabor de vinagre, aroma cítrico, gosto salgado e sensação adstringente.

Foi possível observar por via das Figuras 11 e 12, que as formulações FCA, FCG e FCT possuem características diferentes, algo que é esperado por terem sido utilizados coprodutos de frutas diferentes, além de outros fatores envolvidos na fermentação. A FCA está correlacionada ao atributo “sabor cítrico”; FCT correlaciona-se com “sabor vinagre” e a FCG com “sabor doce”, o gosto ácido tem maior proximidade com a FCG, sendo também a que obteve uma maior proximidade com a avaliação global, indicando a sua preferência entre as amostras avaliadas pelos degustadores.

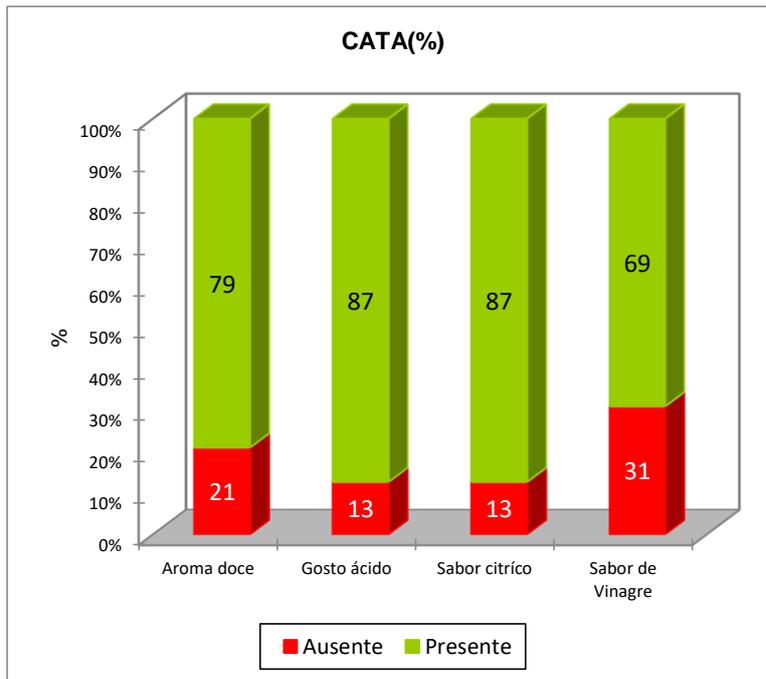
Figura 11 - Análise dos componentes principais a partir dos dados CATA.



Fonte: Dados da Pesquisa, 2022.

Na Figura 12 é possível observar a porcentagem de presença e ausência dos atributos que apresentaram significância no nível de 5%, onde o gosto ácido e sabor cítrico foram os atributos com maior porcentagem de percepção entre os provadores, obtendo 87%. Logo em seguida veio o atributo aroma doce com 79% e por último o sabor de vinagre com 69%.

Figura 12 - Histograma com as porcentagens de presença e ausência dos atributos que apresentaram significância no nível de 5% no CATA.



Na Tabela 10 é possível perceber que apenas os aroma doce, gosto doce e sabor cítrico apresentaram diferença entre as amostras ao nível de 5% de significância no teste RATA.

Já os termos brilhante, translúcido (límpido), homogênea, sedimentado, presença de bolhas, aroma cítrico, aroma ácido, aroma de vinagre, aroma fermentado, gosto ácido, gosto doce, gosto salgado, gosto amargo, sabor de vinagre, sabor fermentado, sensação adstringente, sensação picante e sensação frisante não diferiram entre o número de citações entre as amostras avaliadas.

Tabela 10 - Média das intensidades dos termos da análise de *Rate-All-That-Apply* (RATA).

Amostras	FCA	FCT	FCG	Pr > F(Modelo)
Brilhante	1,917 a	1,733 a	1,933 a	0,686
Translúcido (límpido)	1,700 a	1,450 a	1,650 a	0,618
Homogênea	2,333 a	2,167 a	2,417 a	0,641
Sedimentado	1,833 a	2,017 a	1,717 a	0,574
Presença de bolhas	2,317 a	2,217 a	2,567 a	0,475
Aroma doce	1,400 b	1,600 b	2,667 a	<0,0001
Aroma Cítrico	2,683 a	2,267 a	2,133 a	0,101
Aroma ácido	2,233 a	2,267 a	1,750 a	0,136
Aroma de vinagre	1,600 a	1,917 a	1,400 a	0,162
Aroma de fermentado	1,983 a	1,967 a	1,617 a	0,28
Gosto ácido	2,833 a	2,817 a	2,583 a	0,625

Gosto doce	1,600 b	1,617 b	2,133 a	0,051
Gosto salgado	1,033 a	1,017 a	0,983 a	0,968
Gosto amargo	1,467 a	1,533 a	1,267 a	0,586
Sabor cítrico	3,133 a	2,583 b	2,450 b	0,021
Sabor de Vinagre	1,817 a	1,683 a	1,533 a	0,606
Sabor fermentado	2,183 a	1,900 a	1,833 a	0,409
Sensação adstringente	1,567 a	1,450 a	1,367 a	0,777
Sensação picante	0,900 a	1,050 a	1,117 a	0,613
Sensação frisante	1,683 a	1,733 a	1,750 a	0,964

<sup>a, b</sup>: Médias com letras iguais, em mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de significância.

**Fonte:** Dados da Pesquisa, 2022.

Os resultados para os testes de aceitação e intenção de consumo da avaliação sensorial, das formulações FCA, FCG e FCT estão dispostos na Tabela 11.

Tabela 11 - Médias para o teste de aceitação das formulações FCA, FCG e FCT para os parâmetros de aparência, aroma, sabor, avaliação global e intenção de compra aplicado aos provadores.

	APARÊNCIA	AROMA	SABOR	AVALIAÇÃO GLOBAL	INTENÇÃO DE COMPRA
<b>FCG</b>	7,31 a	7,21 a	6,96 a	6,96 a	3,73 a
<b>FCT</b>	6,01 b	5,96 b	6,21 b	6,16 b	3,28 b
<b>FCA</b>	6,78 a	5,56 b	6,01 b	6,05 b	3,18 b
Pr > F(Modelo)	0,000	<0,0001	0,009	0,012	0,009
Significativo	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim

**Fonte:** Dados da Pesquisa, 2022.

<sup>a, b</sup>: Médias com letras iguais, em mesma linha, não diferem entre si ao nível de 5% de significância.

Para a formulação FCT, o atributo aparência obteve escore correspondente a “gostei pouco”, com média de 6,01, diferindo significativamente ( $p \leq 0,05$ ) das formulações FCG e FCA, que foram avaliadas com médias de 7,31 e 6,78, respectivamente, estando ambas entre “gostei” e “gostei pouco”.

Quanto ao atributo aroma, foi observado que a amostra FCG diferiu significativamente ( $p \leq 0,05$ ) das formulações FCT e FCA, e obteve uma média de 7,21, estando entre “gostei” e “gostei muito”. Já as formulações FCT e FCA, foram avaliadas com médias de 5,96 e 5,56, respectivamente, entre os termos “não gostei, nem desgostei” e “gostei pouco”.

A formulação que obteve uma maior média (6,9) quanto ao sabor foi a FCG, apresentando nota próxima de “gostei”, diferindo-se significativamente ( $p \leq 0,05$ ) das formulações FCT e FCA, que obtiveram médias de 6,2 e 6,0, respectivamente, estando ambas classificadas na zona de “gostei pouco”.

A amostra que obteve uma melhor avaliação global foi a FCG (6,96), estando próxima da zona de “gostei” e diferindo-se significativamente ( $p \leq 0,05$ ) das formulações FCT e FCA, na qual obtiveram médias de 6,2 e 6,0, respectivamente, estando ambas dentro da zona de “gostei pouco”.

Os degustadores atribuíram a formulação FCG uma maior nota para a intenção de compra, apresentando média de 3,7, estando próxima a zona de “provavelmente compraria”, na qual difere significativamente ( $p \leq 0,05$ ) das formulações FCT e FCA, que obtiveram médias de 3,28 e 3,18, respectivamente, estando ambas classificadas na zona de “talvez comprasse, talvez não comprasse”.

Portanto, verifica-se que entre as formulações estudadas a que obteve maior pontuação em todos os parâmetros sensoriais foi a FCG, possivelmente estando associado a preferência dos consumidores pela fruta goiaba.

## 6 CONCLUSÃO

As formulações de bebidas fermentadas a partir de coprodutos de frutas apresentaram parâmetros físico-químicos satisfatórios, atendendo aos valores determinados pelas legislações vigentes.

Durante a cinética de fermentação foi possível perceber que à medida que o pH e o teor de sólidos solúveis diminuíram houve aumento da acidez.

Entre todas as formulações, a FCA apresentou o maior potencial antioxidante.

As formulações de kombucha apresentaram qualidade microbiológica satisfatória.

O teste de atividade locomotora em zebrafish adulto realizado nas formulações sugeriu uma possível ação sedativa, tais como a ação provocada pelos benzodiazepínicos (drogas ansiolíticas), os quais diminuem atividade locomotora (mobilidade) do zebrafish (*D. rerio*) adulto em campo aberto. O fato é que alguns estudos vêm avaliando o possível efeito sedativo ocasionado pelo uso de probióticos, o que pode ter ocorrido no presente estudo, visto que as formulações testadas foram provenientes de uma fermentação com uma gama de microrganismos, sugerindo assim o seu possível efeito probiótico, necessitando, porém, de mais estudos na área para comprovar esse possível efeito. Além disso, todas as formulações demonstraram ser seguras para o consumo humano, não apresentando toxicidade capaz de comprometer a saúde humana sendo consumidas puras ou diluídas até 25%.

A formulação que obteve uma maior aceitação entre os provadores foi a Formulação com Coproduto de Goiaba (FCG), seguida da Formulação com Coproduto de Tamarindo (FCT) e Formulação com Coproduto de Acerola (FCA), embora todas as amostras tenham sido avaliadas dentro da zona de aceitação.

Por fim, a importância desse trabalho se estende aos benefícios associados, como fornece novas alternativas alimentares com alto teor nutricional, além do aproveitamento integral dos coprodutos de frutas.

## REFERÊNCIAS

- ABRAFRUTAS - Associação dos Produtores Exportadores de Frutas e Derivados. [s.l.] 2019. Disponível em: <https://abrafrutas.org/2019/03/07/brasil-e-o-terceiro-maior-produtor-de-frutas-do-mundo-diz-abrafrutas/>. Acesso em: 17 set. 2020.
- ABRAHÃO, S. A. *et al.* Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). **Ciência Agrotecnologia**, [s.l.] v. 34, p. 414, 2010.
- ABUDUAIBIFU, A.; TAMER, C. E. Avaliação das propriedades físico-químicas e de bioacessibilidade do goji berry kombucha. **Journal of Food Processing and Preservation**, [s.l.] v. 43, n. 9, p. e14077, 2019.
- AHMAD, F.; RICHARDSON, M. K. Exploratory behaviour in the open field test adapted for larval zebrafish: impact of environmental complexity. **Behavioural processes**, [s.l.] v. 92, p. 88-98, 2013.
- AHMED, R. F.; HIKAL, M. S.; ABOU-TALEB, K. A. Atividades biológicas, químicas e antioxidantes dos diferentes tipos de Kombuchá. **Annals of Agricultural Sciences**, [s.l.] v. 65, n. 1, p. 35-41, 2020.
- ALMEIDA, F. D. L. *et al.* Effects of atmospheric cold plasma and ozone on prebiotic orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s.l.] v. 32, n. 01, p. 127–135, 2015.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, [s.l.] 2001.
- AMORIM, D. J. *et al.* Análise da qualidade e do preço de hortaliças comercializadas no mercado varejista de Chapadinha (MA). **Revista Agrotrópica**, Ilhéus, v.29, n.2, p.151-156, 2017.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC n. 306**. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0306\\_07\\_12\\_2004.pdf/95eac678d441-4033-a5ab-f0276d56aaa6](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0306_07_12_2004.pdf/95eac678d441-4033-a5ab-f0276d56aaa6). Acesso em: 21 abr. 2020.
- ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos**, 2016. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>. Acesso em: 29 set.2020.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16. ed. Arlington: AOAC, 1995.
- AOAC - Association Of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 17.ed. Washington, p. 1115, 2002.

AOAC - Official Methods of Analysis, 13th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, 1992.

ARELLANO-AGUILAR, O. *et al.* Uso do teste de toxicidade embrionário do peixe-zebra para fins de avaliação de risco: estudo de caso. **Revista de Ciências da Pesca**, [s.l.] v. 9, n. 4, pág. 52, 2015.

AYED, L.; ABID, S. B.; HAMDI, M. Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. **Annals of microbiology**, [s.l.] v. 67, n. 1, p. 111-121, 2017.

AYED, L.; HAMDI, M. Fabricação de uma bebida a partir do suco de cacto pêra por fermentação “fungo do chá”. **Annals of microbiology**, [s.l.] v. 65, n. 4, p. 2293-2299, 2015.

AZEREDO, H. M. C.; BRITO, E. S.; GARRUTI, D. S. Alterações químicas em alimentos durante a estocagem. In: AZEREDO (Ed.) Fundamentos da Estabilidade de alimentos. Brasília: Embrapa. p. 15-38, 2012.

AZZOLINI, M.; JACOMINO, A. P.; SPOTO, M. H. F. Estádios de maturação e qualidade pós-colheita de goiabas' *Pedro Sato*'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 29-31, 2004.

BANTIM, V. E. L. *et al.* OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DO CRAVO DA ÍNDIA (*Syzygium aromaticum*) E AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA UTILIZANDO ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*) ADULTO. **Revista Coleta Científica**, [s.l.] v. 4, n. 7, p. 18-27, 2020.

BATISTA, P. F. *et al.* Compostos bioativos e atividade antioxidante em frutas tropicais cultivadas no médio-baixo Vale do São Francisco<sup>1</sup>. **Revista Ciência Agronômica**, [s.l.] v. 49, p. 616-623, 2018.

BEDANI, R. *et al.* Tropical fruit pulps decreased probiotic survival to in vitro gastrointestinal stress in synbiotic soy yoghurt with okara during storage. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.] v.55, n.2, p.436–443, 2014.

BENNEH, C. K. *et al.* *Maerua angolensis* stem bark extract reverses anxiety and related behaviours in zebrafish—Involvement of GABAergic and 5-HT systems. **Journal of Ethnopharmacology**, [s.l.] v. 207, p. 129–145, 2017.

BICHARA, D. *et al.* Set-up of an infrared fast behavioral assay using zebrafish (*Danio rerio*) larvae, and its application in compound biotoxicity screening. **Journal of Applied Toxicology**, [s.l.] 2014.

BLAUTH, C.M. **Kombucha: tecnologia de produção e composição**. [s.l. s.n] 2019.

BORRELLI, L. *et al.* Modulação probiótica do eixo microbiota-intestino-cérebro e comportamento em peixes-zebra. **Relatórios científicos**, [s.l.] v. 6, n. 1, p. 1-9, 2016.

BRASIL - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portal Anvisa - Probióticos: Construção da Lista de Linhagens Probióticas (2017). Dispõe sobre a lista de linhagens de probióticos a serem autorizadas para o uso em suplementos alimentares. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/>. Acesso em: 20 set. 2020.

BRASIL - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada RDC nº 241, de 26 de julho de 2018. Disponível em : [https://www.in.gov.br/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/34379910/do1-2018-07-27-resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-241-de-26-de-julho-de-201834379900#:~:text=Disp%C3%B5e%20sobre%20os%20requisitos%20para,lhe%20foram%20conferidas%20pelo%20art.](https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/34379910/do1-2018-07-27-resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-241-de-26-de-julho-de-201834379900#:~:text=Disp%C3%B5e%20sobre%20os%20requisitos%20para,lhe%20foram%20conferidas%20pelo%20art.) Acesso em: 16 set. 2020.

BRASIL - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 19, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos Para Registro de Alimento com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem. Disponível em: <https://www.saude.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C=MjI1MQ%2C%2C> . Acesso em: 21 set. 2020.

BRASIL - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Estabelece o Padrão de Identidade e Qualidade da Kombucha em todo território nacional (Instrução Normativa nº 268 41/2019, de 17 de setembro de 2019). Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2019.

BRASIL - Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Secretaria de Defesa. Agropecuária. Instrução Normativa nº 62, de 26/08/2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 set. 2003, seção1, p.14-51.

BRASIL - Portaria nº 371, MARA. Diário Oficial da União, s. 1, p. I, Supl. Brasília, 19/09/1974.

BRASIL - RDC nº 271, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico para açúcares e produtos para adoçar. Brasília: ANVISA, 2005.

BRASIL - Resolução no 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. **Diário Oficial da União**. Brasília, 13 jun. 2013.

BRASIL. Instrução normativa nº 41, de 17 de setembro de 2019. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, Seção 1, nº 181, p.13, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12, de 02 de Janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, Seção 1, p. 45-53, 2001.

BRASIL. Nota Técnica: Nº 48/2020/SEI/GIALI/GGFIS/DIRE4/ANVISA. Documento orientativo para produção segura de alimentos durante a pandemia de Covid-19, 2020.

- BRAUNBECK, T. *et al.* The fish embryo test (FET): origin, applications, and future. **Environmental Science and Pollution Research International**, [s. l.] v. 22, n. 21, p. 16247- 16261, 2015.
- CACHAT, J. *et al.* Unique and potent effects of acute ibogaine on zebrafish: the developing utility of novel aquatic models for hallucinogenic drug research. **Behavioural Brain Research**, [s.l.] v. 236, p. 258-269, 2013.
- CANUTO, G. A. B. *et al.* Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.] v. 32, p. 1196-1205, 2010.
- CARDOSO, S. B. *et al.* Avaliação física, química e antimicrobiana da Kombucha Probiótico (*Medusomyces gisevii* lindau) e análise comparativa com outros probióticos comercializados no Brasil. **Nutrição Brasil**, [s.l.] v. 17, n. 1, p. 2-8, 2018.
- CARLINI, C. J.; SEVERO, J. Elaboração de suco misto contendo frutas nativas. **Boletim Técnico-Científico**, [s.l.] v. 4, n. 1, 2018.
- CARRETTA, D.B. Açúcar: seus efeitos sobre a sociedade sacarose dependente. Monografia (Especialista em Saúde Coletiva) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Nova Xavantina/MT, 2006. Disponível em: [http://awmueller.com/psicologia/acucar\\_daniela.pdf](http://awmueller.com/psicologia/acucar_daniela.pdf). Acesso em: 21 abr. 2020.
- CARVALHO, F. M. *et al.* Extratos de Pitanga e grumixama: Atividades antioxidantes e antimicrobianas e incorporação em filmes celulósicos contra *Staphylococcus aureus*. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, [s.l.] v. 9, n. 11, p. e1759119362-e1759119362, 2020.
- CASTRO-CISLAGHI, F. P. *et al.* *Bifidobacterium* Bb-12 microencapsulated by spray drying with whey: Survival under simulated gastrointestinal conditions, tolerance to NaCl, and viability during storage. **Journal of Food Engineering**, [s.l.] v.113, p.186-193, 2012.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Post-harvest of fruits and vegetables: Physiology and handling. UFLA, Lavras, Brazil, 2005.
- CHUAH, P, N. *et al.* Métodos de extração convencionais comparativos de extratos etanólicos de folhas de *Clinacanthus nutans* sobre atividade antioxidante e toxicidade. **Jornal Alimentar Britânico**, [s.l.] 2020.
- CIRIC, A.; KRAJNC, B.; HEATH, D.; OGRINC, N. Response surface methodology and artificial neural network approach for the optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from garlic. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 135, p. 110976, 2020.
- COLLYMORE, C.; RASMUSSEN, S.; TOLWANI, R. J. Gavaging peixe-zebra adulto. **Jornal de experimentos visualizados: JoVE** , [s.l.] n. 78, 2013.
- COMAN, M. M. *et al.* Functional foods as carriers for SYN BIO®, a probiotic bacteria combination. **International Journal of Food Microbiology**, [s.l.] v. 157, n. 3, p. 346-352, 2012.

CONCEA-CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. Resolução Normativa n. 37 de 15 de fevereiro de 2018. Diretrizes da prática de eutanásia. [s.l.] 2018.

COSTA FILHO, D. V. *et al.* Aproveitamento de resíduos Agroindustriais na Elaboração de Subprodutos. **II COINTER das Ciências Agrárias – PDVAgro**, [s.l.] 2017.

COSTA, K. K. F. D. *et al.* Syneresis and chemical characteristics of fermented rice extract with probiotic bacteria and waxy maize starch. **Food Science and Technology**, [s.l.], v.37, n. 4, p. 640-646, 2017.

CRYAN, J. F.; DINAN, T.G. Microrganismos que alteram a mente: o impacto da microbiota intestinal no cérebro e no comportamento. **Nature reviews neuroscience**, [s.l.] v. 13, n. 10, p. 701-712, 2012.

DA SILVA, S. B.; PAULO, E. M. Atividade inibitória de bebidas fermentadas artesanais por bactérias enteropatogênicas. **Brazilian Journal of Development**, [s.l.] v. 7, n. 1, p. 6538-6553, 2021.

DADA, A. P. *et al.* Caracterização de kombucha elaborada a partir de chá verde. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, [s.l.] v. 10, n. 15, p. e576101522992-e576101522992, 2021.

DAVIS, D. J. *et al.* Lactobacillus plantarum atenua o comportamento relacionado à ansiedade e protege contra a disbiose induzida pelo estresse em peixes-zebra adultos. **Relatórios científicos**, [s.l.] v. 6, n. 1, p. 1-11, 2016.

DE FREITAS, B. S. M. *et al.* Avaliação preliminar e propriedades nutricionais dos frutos de Spondias mombin L. de diferentes plantas nativas. **Research, Society and Development**, [s.l.] v. 9, n. 6, p. e55963418, 2020.

DE MENESES, V.P. *et al.* Subprodutos de frutas tropicais desidratados por secagem convectiva. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, [s.l.] v. 13, n. 4, p. 472-482, 2018.

DOS SANTOS, K. P. O. *et al.* Salmonella spp. como agente causal em Doenças Transmitidas por Alimentos e sua importância na saúde pública: Revisão. **PUBVET**, [s.l.] v. 14, p. 148, 2020.

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. 3. ed. rev. e amp. Curitiba: Champagnat, p. 540, 2011.

DUTTA, H.; PAUL, S.K.R. Kombucha Drink: Production, Quality, and Safety Aspects. **Production And Management Of Beverages**, [s.l.], p.259-288, 2019.

ERKEL, A. *et al.* Utilização da farinha da casca de abacaxi em cookies: caracterização físico-química e aceitabilidade sensorial entre crianças. **Revista Uniabeu**, [s.l.] v. 8, n. 19, p. 272-288, 2015.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food wastage footprint: Impacts on natural resources. Rome, 2013.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food wastage footprint & climate change. Rome, 2015.

FAO - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. Desperdício de alimentos tem consequências no clima, na água, na terra e na biodiversidade. Disponível em: <http://www.fao.org.br/dacatb.asp>. Acesso em: 30 abr. 2020.

FENSTER, K. *et al.* A produção e distribuição de probióticos: uma revisão de uma abordagem prática. **Microorganismos**, [s.l.] v. 7, n. 3, p. 83, 2019.

FERREIRA, M. K. A. *et al.* Anxiolytic-like effect of chalcone N-{4'[(2E)-3-(3-nitrophenyl)-1-(phenyl)prop-2-en-1-one]} acetamide on adult zebrafish (*Danio rerio*): Involvement of the 5-HT system. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s.l.] v. 526, n. 2, 2020.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G.H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **Journal of biological chemistry**, [s.l.] v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.

GAGGIÀ, F. *et al.* Bebida de kombuchá de chás verde, preto e rooibos: um estudo comparativo olhando a microbiologia, a química e a atividade antioxidante. **Nutrientes**, [s.l.] v. 11, n. 1, p. 1, 2019.

GARCIA, E. I. *et al.* Caracterização físico-química dos resíduos do Tamarindo (*Tamarindus indica* L): potencial nutricional e antinutricional. **O Mundo da Saúde**, [s.l.] v. 1, n. 44, p. 595-606, 2020.

GUPTA, P. *et al.* Assessment of locomotion behavior in adult Zebrafish after acute exposure to different pharmacological reference compounds. **Drug Development and Therapeutics**, [s.l.] v. 5, n. 2, p. 127, 2014.

HAMMES, W. P.; HERTEL, C. New developments in meat starter cultures. **Meat Science**, Amsterdam, v. 49, n. S1, p. S125-S138, 1998.

HILL, A. J. *et al.* O peixe-zebra como vertebrado modelo para investigação de toxicidade química. **Ciências toxicológicas**, [s.l.] v. 86, n. 1, p. 6-19, 2005.

HOELZLE, R.D.; VIRDIS, B.; BATSTONE, D.J. Regulation Mechanisms in Mixed and Pure Culture Microbial Fermentation. **Biotechnology and Bioengineering**, [s.l.] v. 111, n. 11. p. 2139-55, 2014.

HRNJEZ, D. *et al.* A atividade biológica de produtos lácteos fermentados obtidos por kombuchá e culturas starter convencionais durante o armazenamento. **Journal of Functional Foods**, v. 10, p. 336-345, 2014.

HUR, S. J. *et al.* Efeito da fermentação na atividade antioxidante em alimentos vegetais. **Química alimentar**, [s.l.] v. 160, p. 346-356, 2014.

HUSSAIN, S. A. *et al.* Ingredient formulation effects on physico-chemical, sensory, textural properties and probiotic count of *Aloe vera* probiotic dahi. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.] v.65, p.371-380, 2016.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. ODAIR ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. (Coord). São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p.1020, 2008.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal, 2018. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/1612>. Acesso em: 20 set. 2020.

JAYABALAN, R. *et al.* A Review on Kombucha Tea-Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. **Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety**, [s.l.], v. 13, n. 4, p.538-550, 2014.

JAYABALAN, R. *et al.* Biochemical characteristics of tea fungus produced during Kombucha fermentation. **Food Science and Biotechnology**, Seoul, v. 19, n. 3, p. 843-847, 2010.

JINKINGS, L. M.; GONÇALVEZ, I. S.; DA SILVA, A. D. S. S. Elaboração da farinha de *Passiflora edulis Sims* (Maracujá amarelo) a partir do exocarpo e o estudo da composição centesimal. **Revista Arquivos Científicos (IMMES)**, [s.l.] v. 3, n. 2, p. 1-7, 2020.

KOVACEVIC, Z. *et al.* A toxic hepatitis caused the kombucha tea—Case report. **Macedonian Journal of Medical Sciences**, [s.l.] v. 7, n. 1, p. 128-131, 2014.

LA TORRE, C. *et al.* Efeitos do armazenamento de longo prazo nas propriedades de eliminação de radicais e no conteúdo fenólico do kombuchá do chá preto. **Molecules**, [s.l.] v. 26, n. 18, p. 5474, 2021.

LEÃO, D. P. *et al.* Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) fruit by-products. **Food chemistry**, [s.l.], v. 225, p. 146-153, 2017.

LEITE FILHO, M.T. *et al.* Cinética de secagem de resíduos agro-industriais de abacaxi: uma nova abordagem. **Brazilian Journal of Development**, [s.l.], v. 6, n. 1, p. 3928-3949, 2020.

LEONARSKI, E. *et al.* Produção de bebida kombucha e celulose bacteriana a partir do subproduto da acerola como matéria-prima. **LWT**, [s.l.] v. 135, p. 110075, 2021.

LIMA, A. R. N. *et al.* Caracterização físico-química e microbiológica de biscoitos preparados com farinha de frutos de frutas. **Pesquisa, sociedade e desenvolvimento**, [s.l.] v. 8, n. 11, p. 198111452, 2019.

LITTLE, E. E.; FAIRCHILD, J. F.; DELONAY, A. J. Behavioral methods for assessing impacts of contaminants on early life stage fishes. **American Fisheries Society**, [s.l.] 1993.

LIU, M. *et al.* A administração dietética do probiótico *Lactobacillus rhamnosus* modula as toxicidades neurológicas do perfluorobutanossulfonato no peixe-zebra. **Poluição Ambiental**, [s.l.] v. 265, p. 114832, 2020.

LIU, X. *et al.* Effects of TDCPP or TPP on gene transcriptions and hormones of HPG axis, and their consequences on reproduction in adult zebrafish (*Danio rerio*). **Aquatic toxicology**, [s. l.], v. 134, p. 104-111, 2013.

MA, T.; ZUAZAGA, G. Micro-Kjeldahl Determination of Nitrogen. A New Indicator and An Improved Rapid Method. **Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition**, [s.l.], v. 14, n. 3, p.280-282,1942.

MACHADO, T. F.; MONTEIRO, E. R.; TIECHER, A. Estabilidade química, físico-química e antioxidante de polpa de *Physalis* pasteurizada e não pasteurizada sob congelamento. **Brazilian Journal of Food Technology**, [s.l.] v. 22, 2019.

MAGALHÃES, F. E. A. *et al.* Peixe-zebra adulto (*Danio rerio*): um modelo comportamental alternativo de nocicepção induzida por formalina. *Peixe-zebra*, [s.l.] v. 14, n. 5, p. 422-429, 2017.

MAGALHÃES, M. P. D. *et al.* Obtenção da farinha do resíduo do processamento de acerola e avaliação de compostos bioativos e nutritivos. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, [s.l.] v. 10, n. 14, p. e188101420714-e188101420714, 2021.

MARIANO-NASSER, F. A. *et al.* Bioactive compounds in different acerola fruit cultivares. **Semina: Ciências Agrárias (Londrina)**, v. 38, n. 4 Suppl. 1, p. 2505-2514, 2017.

MARTINEZ LEAL, J. *et al.* A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. **CyTA-Journal of Food**, [s.l.] v. 16, n. 1, p. 390-399, 2018.

MARTINS, E. M. F. *et al.* Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. **Food Research International**, [s.l.] v.51, p.764-770, 2013.

MARTINS, E. M. F. *et al.* Research and development of probiotic products from vegetable bases: A New Alternative for Consuming Functional Food. **Beneficial Microbes in Fermented and Functional Foods**, [s.l.] v.1, p.207-223, 2015.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. 2 ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p. 308, 2010.

MIZUTA, A. G. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana do chá verde kombucha em dois momentos de fermentação contra *Alicyclobacillus* spp. **LWT**, [s.l.] v. 130, p. 109641, 2020.

MONTESANO, D.; ALBRIZIO, S.; LUCINI, L.; BARBA, F. J.; GALLO, M. Lipidic and Food Quality. **Journal of Food Quality**, [s.l.], v. 2018, p. 1-2, 2018.

MORAES, F. P. *et al.* Avaliação dos compostos bioativos presentes no resíduo de goiaba vermelha (*Psidium guajava L.*) desidratada. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, [s.l.] v. 1, n. 2, p. 5153-5160, 2015.

MORAES, L. S.; BENDER, S.; KOTTWITZ, L. B. M. Determinação composicional de amostras de kombuchas crescidas de polpas de frutas. **Fag journal of health (FJH)**, [s.l.] v. 2, n. 2, p. 252-258, 2020.

MOREIRA, L.R. *et al.* The hydrolysis of agro-industrial residues by holocellulose-degrading enzymes. **Brazilian Journal of Microbiology**, [s.l.], v.43, n.2, p.498-505, 2012.

NASCIMENTO FILHO, W. B; FRANCO, C. R. Avaliação do Potencial dos Resíduos Produzidos Através do Processamento Agroindustrial no Brasil. **Revista Virtual de Química**, [s.l.], v. 7, n. 6, p. 1968- 1987, 2015.

NAVARRETE-BOLAÑOS, J. L. Review: Improving traditional fermented beverages: How to evolve from spontaneous to directed fermentation. **Jounal Engineering in Life Science**, [s.l.] v. 12, n. 4, p. 410-8, 2012.

NESPOLO, C.R. *et al.* **Práticas em tecnologia de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, p.220,2015.

NOCENTE, F. *et al.* Upcycling of brewers spent grain by production of dry pasta with higher nutritional potential. **Food Science and Tecnology**, [s.l.], v.114, p.108421, 2019.

OLIVEIRA, P. M. D. *et al.* Melão minimamente processado enriquecido com bactéria probiótica. **Semina: Ciências Agrárias**, [s.l.] v.35, n.5, p.2415-2426, 2014.

PADILHA, V. M. *et al.* Optimization of synbiotic yogurts with yacon pulp (*Smallanthus sonchifolius*) and assessment of the viability of lactic acid bacteria. **Food Science and Technology**, [s.l.], v. 37, n. 2, p. 166-175, 2017.

PANDA, S.K. *et al.* Microbial-processing of fruit and vegetable wastes for production of vital enzymes and organic acids: Biotechnology and scopes. **Environmental research**, [s.l.], v. 146, p.161-172, 2016.

PEREIRA, A. L. F.; RODRIGUES, S. Transformando suco de fruta em bebidas probióticas. In: **Sucos de frutas**. Academic Press, [s.l.] p. 279-287, 2018.

PERFEITO, D. G. A.; CORRÊA, I. M.; PEIXOTO, N. Elaboração de bebida com extrato hidrossolúvel de soja saborizada com frutos do cerrado. **Journal of Neotropical Agriculture**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 21-27, 2017.

RAFATULLAH, M. *et al.* Adsorption of methylene blue on low-cost adsorbents: a review. **Journal of hazardous materials**, [s.l.], v.177, n.1, p.70- 80, 2010.

RAHMANI, R. *et al.* Fermentação de Kombuchá de folhas de mostarda africana (*Brassica tournefortii*): Composição química e bioatividade. **Food Bioscience**, [s.l.] v. 30, p. 100414, 2019.

- RE, R. *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, [s.l.], v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.
- REISS, J. Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus. *Z. Lebensm. Unters. For.*, Berlin, [s.l.] v. 198, n. 3, p. 258-261, 1994.
- RESENDE, R. R.; SOCCOL, C. R. **Biotecnologia aplicada à saúde: fundamentos e aplicações**. V. 1, São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda., 2015.
- RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2007.
- RODRIGUES, R. S. *et al.* Características físicas e químicas de Kombucha à base de chá de Hibisco (*Hibiscus sabdariffa*, L.). [s.l. s.n.] ANAIS, 2018.
- ROLIM, P. M. Development of prebiotic food products and health benefits. **Food Science and Technology**, [s.l.], v.35, n.1, p. 3-10, 2015.
- RUFINO, M. D. S. M. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Embrapa Agroindústria Tropical- Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, [s.l.] 2007.
- RUFINO, M. S. M. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 nontraditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, [s.l.] v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.
- RUFINO, M. S. M. *et al.* **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS●+**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, p. 4, 2007.
- SÁ LEITÃO, B. R. G. Sustentabilidade e elaboração de novos produtos através do aproveitamento residual alimentar. **Revista de produção acadêmica e científica**, Manaus, v. 2, n. 2, p. 97 - 104, 2012.
- SALGADO, J. Perspectivas e Tendências. **Alimentos Funcionais**, São Paulo, p. 11-36, 2017.
- SANTANA, F. A.; VIEIRA, M. C.; PINTO, U. M. Qualidade microbiológica de sanduíches de estabelecimentos com serviço tipo delivery. **Rev Inst Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 2, n. 74, p. 156-161, 2015.
- SANTOS, I. V. F. *et al.* Use of zebrafish (*Danio rerio*) in experimental models for biological assay with natural products. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [s. l.], v. 10, n. 42, p. 883-891, 2016.
- SANTOS, M. J. **Kombucha: caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração**. 2016. 119 f. Tese para obtenção de grau de mestre (Faculdade de ciências e tecnologia) - Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal, 2016.

SANTOS, R. C.; BARBOSA, C. D.; LACERDA, IAC. Obtenção e caracterização de kombucha de chá preto. **Anais da 69ª Reunião anual da SBPC**, [s.l.] 2017.

SANTOS, Y. M *et al.* Caracterização química de Kombucha a base de chás de hibisco e preto. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**. Ipameri, v. 8, n. 3, p. 32-37, 2018.

SCHERR, C.; RIBEIRO, J. P. Colesterol e gorduras em alimentos brasileiros: implicações para a prevenção da aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s.l.] v. 92, p. 190-194, 2009.

SENA, D. N. *et al.* Microminerais em farinhas de resíduos do processamento de frutas tropicais. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, [s.l.], v. 1, n. 2, p. 3431-3435, 2015.

SILVA, F. A. S. ASSISTAT: Versão 7.7 beta. **Campina Grande: Universidade Federal de Campina Grande. Centro de Tecnologia e Recursos Naturais. Departamento de Engenharia Agrícola**, 2016.

SILVEIRA, M. L. R.; SANTOS, C. O.; PENNA, N. G.; SAUTTER, C. K.; ROSA, C. S.; BERTAGNOLLI, S. M. M. Aproveitamento tecnológico das sementes de goiaba (*Psidium guajava L.*) como farinha na elaboração de biscoitos. **Boletim CEPPA**, [s.l.] v. 34, n. 1, p. 1-20, 2016.

SIMEONI, C. P.; MENEZES, C.R.D.E.; MARTINS, L. Microencapsulação de probióticos: inovação tecnológica na indústria de alimentos. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, [s.l.] v. 18, p. 66-75, 2014.

SOBRINHO, I. S. B. **Propriedades nutricionais e funcionais de resíduos de abacaxi, acerola e cajá oriundos da indústria produtora de polpas**. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia–UESB, Bahia, 2014.

SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de resíduos de polpas de frutas tropicais. **Brazilian Journal of Food Technology**, [s.l.] v. 14, p. 202-210, 2011.

SOUSA, M.M.A.; SOUSA, P.H.M. Quantificação de antocianinas em farinhas de resíduos industriais de frutas tropicais. [s.l.] 2014.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 4ª ed. California, USA. 2012.

TACO – **Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA – UNICAMP**. 4.ed. rev. e ampl. Campinas: NEPA – UNICAMP, 2011.

TANTICHARAKUNSIRI, W. *et al.* Characteristics and upregulation of antioxidant enzymes of kitchen mint and oolong tea Kombucha beverages. **Journal of Food Biochemistry**, [s.l.] v. 45, n. 1, p. e13574, 2021.

TAYLOR, J. C. *et al.* A novel zebrafish-based model of nociception. **Physiology & Behavior**, [s. l.], v. 174, p. 83-88, 2017.

TRIPATHI, M. K., GIRI, S. K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. **Journal of functional foods**, [s.l.] v.9, p.225-241, 2014.

ULUSOY, A.; TAMER, C. E. Determinação da adequação de concentrado de suco de cenoura preta (*Daucus carota L. spp. Sativus var. Atorubens Alef.*), Louro cereja (*Prunus laurocerasus*), abrunheiro (*Prunus spinosa*) e framboesa vermelha (*Rubus ideaus*) para a produção de bebida de kombucha. **Journal of Food Measurement and Characterization**, [s.l.] v. 13, n. 2, p. 1524-1536, 2019.

VALCARCE, D. G. *et al.* Os probióticos reduzem o comportamento relacionado à ansiedade no peixe-zebra. **Heliyon**, [s.l.] v. 6, n. 5, p. e03973, 2020.

VARELA, P.; ARES, G. Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization. **Food Research International**, [s.l.] v. 48, n. 2, p. 893–908, 2012.

VELICANSKI, A. S. *et al.* Antioxidant and Antibacterial Activity of the Beverage Obtained by Fermentation of Sweetened Lemon Balm (*Melissa officinalis L.*) Tea with Symbiotic Consortium of Bacteria and Yeasts. **Food Technology and Biotechnology**, [s.l.] v. 52, n. 4, 2014.

VILLALVA, F. J. *et al.* Formulation of a peach ice cream as potential symbiotic food. **Food Science and Technology**, [s.l.], v.37, n.3, p. 456-461, 2017.

WANG, Y. *et al.* Bioactive compounds and in vitro antioxidant activities of peel, flesh and seed powder of kiwi fruit. **International journal of food science & technology**, [s.l.], v.53, n.9, p. 2239-2245, 2018.

WATAWANA, M. I. *et al.* Health, Wellness, and Safety Aspects of the Consumption of Kombucha. **Journal of Chemistry**, [s.l.] 2015.

WATAWANA, M. I.; JAYAWARDENA, N.; WAISUNDARA, V. Y. Aumento das Propriedades Funcionais do Café Pela Fermentação por “Fungo do Chá” (Kombucha). **Journal of Food Processing and Preservation**, [s.l.] v. 39, n. 6, p. 2596-2603, 2015.

WENDLING, L. K.; WESCHENFELDER, S. Probióticos e Alimentos Lácteos Fermentados – Uma Revisão. **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes**, [s.l.] v.68, n.395, p.4957, 2013.

XU, J. *et al.* Bebidas probióticas de frutas com diferentes perfis de polifenóis atenuaram a resposta insulínica precoce. **Revista de nutrição**, [s.l.] v. 17, n. 1, p. 1-10, 2018.

ZUBAIDAH, E. *et al.* Potential of snake fruit (*Salacca zalacca* (Gaerth.) Voss) for the development of a beverage through fermentation with the Kombucha consortium. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s.l.] v. 13, p. 198-203, 2018.

## ANEXO A - FICHA PARA TESTE DE ACEITAÇÃO E CATA

Nome: _____ Data: _____ Idade: < 18 anos ( ), 18-25 anos ( ), 26-35 anos ( ), 36-50 anos ( ), 51-65 anos ( ), >65 anos ( ). Você está recebendo 3 amostras com kombuchas fermentadas com coprodutos de frutas.		
<b>Amostra: FCA</b>		
<b>Por favor, PROVE a amostra e indique o quanto você gostou ou desgostou da APARÊNCIA, SABOR E ACEITAÇÃO GLOBAL, utilizando a escala abaixo:</b>		
APARÊNCIA	SABOR	ACEITAÇÃO GLOBAL
( ) gostei muitíssimo	( ) gostei muitíssimo	( ) gostei muitíssimo
( ) gostei muito	( ) gostei muito	( ) gostei muito
( ) gostei	( ) gostei	( ) gostei
( ) gostei pouco	( ) gostei pouco	( ) gostei pouco
( ) não gostei nem desgostei	( ) não gostei nem desgostei	( ) não gostei nem desgostei
( ) desgostei pouco	( ) desgostei pouco	( ) desgostei pouco
( ) desgostei	( ) desgostei	( ) desgostei
( ) desgostei muito	( ) desgostei muito	( ) desgostei muito
( ) desgostei muitíssimo	( ) desgostei muitíssimo	( ) desgostei muitíssimo
Comentário:	Comentário:	Comentário:
<b>Abaixo estão listados vários termos descritivos para APARÊNCIA, AROMA E SABOR. OBSERVE a amostra e marque TODOS os termos que achar que a CARACTERIZAM, e somente nos termos que foram marcados, indique o GRAU DE INTENSIDADE, variando de POUQUÍSSIMO (1) a MUITÍSSIMO (5).</b>		
APARÊNCIA	AROMA	SABOR
Cor vermelha	Aroma doce	Gosto ácido
Cor Laranja	Aroma cítrico	Gosto doce
Brilhante	Aroma ácido	Gosto salgado
Translúcido (Límpido)	Aroma de acerola	Gosto amargo
Homogênea	Aroma de vinagre	Sabor cítrico

Sedimentado Presença de bolhas	Aroma de fermentado	Sabor de vinagre Sabor de acerola Sabor fermentado Sensação adstringente Sensação picante Sensação frisante
<b>De MANEIRA GERAL, o quanto você gostou ou desgostou dessa amostra?</b>		
<input type="checkbox"/> Gostei muitíssimo ( ) <input type="checkbox"/> Gostei muito ( ) <input type="checkbox"/> Gostei ( ) <input type="checkbox"/> Gostei pouco ( ) <input type="checkbox"/> Nem gostei/Nem desgostei ( ) <input type="checkbox"/> Desgostei pouco ( ) <input type="checkbox"/> Desgostei ( ) <input type="checkbox"/> Desgostei muito ( ) <input type="checkbox"/> Desgostei muitíssimo ( )		
<b>Se você encontrasse essa bebida no mercado, qual seria sua intenção de compra?</b>		
<input type="checkbox"/> Certamente compraria ( ) <input type="checkbox"/> Provavelmente compraria ( ) <input type="checkbox"/> Talvez comprasse/Talvez não comprasse ( ) <input type="checkbox"/> Provavelmente não compraria ( ) <input type="checkbox"/> Certamente não compraria ( )		

<b>Amostra: FCT</b>		
<b>Por favor, PROVE a amostra e indique o quanto você gostou ou desgostou da APARÊNCIA, SABOR E ACEITAÇÃO GLOBAL, utilizando a escala abaixo:</b>		
<b>APARÊNCIA</b>	<b>SABOR</b>	<b>ACEITAÇÃO GLOBAL</b>
<input type="checkbox"/> gostei muitíssimo	<input type="checkbox"/> gostei muitíssimo	<input type="checkbox"/> gostei muitíssimo
<input type="checkbox"/> gostei muito	<input type="checkbox"/> gostei muito	<input type="checkbox"/> gostei muito
<input type="checkbox"/> gostei	<input type="checkbox"/> gostei	<input type="checkbox"/> gostei
<input type="checkbox"/> gostei pouco	<input type="checkbox"/> gostei pouco	<input type="checkbox"/> gostei pouco
<input type="checkbox"/> não gostei nem desgostei	<input type="checkbox"/> não gostei nem desgostei	<input type="checkbox"/> não gostei nem desgostei
<input type="checkbox"/> desgostei pouco	<input type="checkbox"/> desgostei pouco	<input type="checkbox"/> desgostei pouco

<input type="checkbox"/> desgostei	<input type="checkbox"/> desgostei	<input type="checkbox"/> desgostei
<input type="checkbox"/> desgostei muito	<input type="checkbox"/> desgostei muito	<input type="checkbox"/> desgostei muito
<input type="checkbox"/> desgostei muitíssimo	<input type="checkbox"/> desgostei muitíssimo	<input type="checkbox"/> desgostei muitíssimo
Comentário:	Comentário:	Comentário:

**Abaixo estão listados vários termos descritivos para APARÊNCIA, AROMA E SABOR. OBSERVE a amostra e marque TODOS os termos que achar que a CARACTERIZAM. E somente nos termos que foram marcados, indique o GRAU DE INTENSIDADE, variando de POUQUÍSSIMO (1) a MUITÍSSIMO (5).**

<b>APARÊNCIA</b>	<b>AROMA</b>	<b>SABOR</b>
Cor Amarronzada Cor Âmbar Brilhante Translúcido (Límpido) Homogênea Sedimentado Presença de bolhas	Aroma doce Aroma cítrico Aroma ácido Aroma de tamarindo Aroma de vinagre Aroma de fermentado	Gosto ácido Gosto doce Gosto salgado Gosto amargo Sabor cítrico Sabor de vinagre Sabor de tamarindo Sabor fermentado Sensação adstringente Sensação picante Sensação frisante

**De MANEIRA GERAL, o quanto você gostou ou desgostou dessa amostra?**

Gostei muitíssimo ( )  
 Gostei muito ( )  
 Gostei ( )  
 Gostei pouco ( )  
 Nem gostei/Nem desgostei ( )  
 Desgostei pouco ( )  
 Desgostei ( )  
 Desgostei muito ( )  
 Desgostei muitíssimo ( )

**Se você encontrasse essa bebida no mercado, qual seria sua intenção de compra?**

Certamente compraria ( )  
 Provavelmente compraria ( )  
 Talvez comprasse/Talvez não comprasse ( )  
 Provavelmente não compraria ( )  
 Certamente não compraria ( )

<b>Amostra: FCG</b>		
<b>Por favor, PROVE a amostra e indique o quanto você gostou ou desgostou da APARÊNCIA, SABOR E ACEITAÇÃO GLOBAL, utilizando a escala abaixo:</b>		
<b>APARÊNCIA</b>	<b>SABOR</b>	<b>ACEITAÇÃO GLOBAL</b>
<input type="checkbox"/> gostei muitíssimo	<input type="checkbox"/> gostei muitíssimo	<input type="checkbox"/> gostei muitíssimo
<input type="checkbox"/> gostei muito	<input type="checkbox"/> gostei muito	<input type="checkbox"/> gostei muito
<input type="checkbox"/> gostei	<input type="checkbox"/> gostei	<input type="checkbox"/> gostei
<input type="checkbox"/> gostei pouco	<input type="checkbox"/> gostei pouco	<input type="checkbox"/> gostei pouco
<input type="checkbox"/> não gostei nem desgostei	<input type="checkbox"/> não gostei nem desgostei	<input type="checkbox"/> não gostei nem desgostei
<input type="checkbox"/> desgostei pouco	<input type="checkbox"/> desgostei pouco	<input type="checkbox"/> desgostei pouco
<input type="checkbox"/> desgostei	<input type="checkbox"/> desgostei	<input type="checkbox"/> desgostei
<input type="checkbox"/> desgostei muito	<input type="checkbox"/> desgostei muito	<input type="checkbox"/> desgostei muito
<input type="checkbox"/> desgostei muitíssimo	<input type="checkbox"/> desgostei muitíssimo	<input type="checkbox"/> desgostei muitíssimo
Comentário:	Comentário:	Comentário:
<p><b>Abaixo estão listados vários termos descritivos para APARÊNCIA, AROMA E SABOR. OBSERVE a amostra e marque TODOS os termos que achar que a CARACTERIZAM. E somente nos termos que foram marcados, indique o GRAU DE INTENSIDADE, variando de POUQUÍSSIMO (1) a MUITÍSSIMO (5).</b></p>		
<b>APARÊNCIA</b>	<b>AROMA</b>	<b>SABOR</b>
Cor vermelha Cor rosa Brilhante Translúcido (Límpido) Homogênea Sedimentado Presença de bolhas	Aroma doce Aroma cítrico Aroma ácido Aroma de goiaba Aroma de vinagre Aroma de fermentado	Gosto ácido Gosto doce Gosto salgado Gosto amargo Sabor cítrico Sabor de vinagre Sabor de goiaba Sabor fermentado Sensação adstringente Sensação picante Sensação frisante

<b>De MANEIRA GERAL, o quanto você gostou ou desgostou dessa amostra?</b>
Gostei muitíssimo ( ) Gostei muito ( ) Gostei ( ) Gostei pouco ( ) Nem gostei/Nem desgostei ( ) Desgostei pouco ( ) Desgostei ( ) Desgostei muito ( ) Desgostei muitíssimo ( )
<b>Se você encontrasse essa bebida no mercado, qual seria sua intenção de compra?</b>
Certamente compraria ( ) Provavelmente compraria ( ) Talvez comprasse/Talvez não comprasse ( ) Provavelmente não compraria ( ) Certamente não compraria ( )