

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Maria Eugênia Santa Helena Adami da Silva

**DESENVOLVIMENTO DE UMA KOMBUCHA ALCOÓLICA: PROTÓTIPO
INDUSTRIAL**

Porto Alegre

2021

Maria Eugênia Santa Helena Adami da Silva

**DESENVOLVIMENTO DE UMA KOMBUCHA ALCOÓLICA: PROTÓTIPO
INDUSTRIAL**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado ao Instituto de Ciência e Tecnologia de
Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do
Sul como requisito parcial para a obtenção do título de
Engenheiro de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Simone Hickmann Flôres

Porto Alegre

2021

CIP - Catalogação na Publicação

da Silva, Maria Eugênia Santa Helena Adami
DESENVOLVIMENTO DE UMA KOMBUCHA ALCOÓLICA:
PROTÓTIPO INDUSTRIAL / Maria Eugênia Santa Helena
Adami da Silva. -- 2021.
62 f.
Orientadora: Simone Hickmann Flôres.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto
de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Curso de
Engenharia de Alimentos, Porto Alegre, BR-RS, 2021.

1. kombucha. 2. alcoólica. 3. protótipo. 4.
fermentação. 5. teor alcoólico. I. Flôres, Simone
Hickmann, orient. II. Título.

Maria Eugênia Santa Helena Adami da Silva

**DESENVOLVIMENTO DE UMA KOMBUCHA ALCOÓLICA: PROTÓTIPO
INDUSTRIAL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal do Rio Grande do Sul
como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira de Alimentos.

Aprovada em: 28 de maio de 2021.

BANCA EXAMINADORA

Simone Hickmann Flôres (Orientadora)
Doutora em Engenharia de Alimentos
ICTA/UFRGS

Roberta Cruz Silveira Thys
Doutora em Engenharia Química
ICTA/UFRGS

Táís Suhre
Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos
ICTA/UFRGS

AGRADECIMENTOS

Dedico meu maior agradecimento à minha mãe, Jussara, por todo o apoio durante a minha vida acadêmica e que me permitiu chegar aonde estou hoje. Agradeço à minha família pela base sólida e amor dedicados diariamente, mesmo que de longe: minha avó Dalva, tia Sandra e prima Joana, que além de tudo me deu duas alegrias imensas de viver, Nicolas e meu afilhado Kevin. Apesar de nunca ter te conhecido, te amo e te carrego no coração, sei que olhas por mim, muito obrigada meu pai Carlos Alberto.

Aos meus amigos que me acompanharam durante toda essa jornada, meu imenso agradecimento. Aqueles que dividiram todos os desafios e bons momentos da faculdade, meus queridos amigos Bárbara, Christian e Gustavo. As que me acompanharam em um dos melhores momentos da minha vida, durante minha participação no movimento empresa júnior, Raíssa, Érica, Duélen e Betina, obrigada por existirem. Desde a época da escola, Luísa, Lola e Malu, obrigada por estarem sempre presentes quando precisei.

Agradeço do fundo do coração à Dêvi Kombucha e à família Dêvi pela oportunidade, anos de muito amor e aprendizado. Aos queridos Tammy, Renan, Gabi, Cris, Thulio, Micheli, Matheus, Amir, Rafa e mamães Dêvi, uma amizade que não termina com o fim da minha jornada. Desejo todo o sucesso e estarei sempre aqui para o que precisarem.

Por fim, agradeço à UFRGS e ao ICTA pela educação de qualidade, que sem dúvida fizeram a diferença na profissional que sou hoje. Obrigada à minha orientadora Professora Simone por ter aceitado esse convite, assim como os membros da banca, Professora Roberta e Taís Suhre.

RESUMO

Kombucha é uma bebida fermentada à base de chá *Camellia sinensis*, açúcar e uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras chamada SCOBY. Kombucha alcoólica ou *hard kombucha*, do inglês, é uma kombucha com teor alcoólico acima de 0,5% (v/v), na qual são adicionadas leveduras exógenas para produção de álcool numa etapa adicional de fermentação. O segmento de kombucha alcoólica está em expansão nos EUA e apresenta potencial mercadológico no Brasil. Desta forma, este trabalho teve por objetivo desenvolver uma kombucha alcoólica e caracterizá-la quanto a sua densidade, pH, sólidos solúveis totais, teor alcoólico, extrato real, limite de atenuação e quantidade e morfologia de bactérias e leveduras. A kombucha alcoólica foi produzida em escala de protótipo industrial a partir das preferências dos respondentes de uma pesquisa quantitativa on-line. Uma kombucha base foi submetida a saborização, fermentação alcoólica, maturação e gaseificação por adição de açúcar em garrafa. A mesma foi submetida a análises físico-químicas e microbiológicas durante todo o processamento. O produto final foi submetido a teste de mercado para validação. A kombucha produzida obteve teor alcoólico final de 4,4% (v/v), Brix 1,03 e pH 3,21. O produto *hard kombucha* frutas vermelhas foi aceito sensorialmente no teste de mercado com 80% de aceitação e 70% de intenção de compra. Sendo assim, pode-se concluir que o objetivo do trabalho foi atingido, o protótipo pode ser produzido em escala industrial e ingressar no mercado.

Palavras-chave: kombucha; alcoólica; protótipo; fermentação; teor alcoólico.

ABSTRACT

Kombucha is a fermented beverage obtained from *Camellia sinensis*, sugar and a symbiotic culture of bacteria and yeasts called SCOBY. Alcoholic kombucha or hard kombucha is the kombucha with an alcohol content above 0.5% ABV, in which exogenous yeasts are added for alcohol production in an additional fermentation stage. The alcoholic kombucha segment is expanding in the USA and has market potential in Brazil. Thus, this work aimed to develop an alcoholic kombucha and characterize it in terms of density, pH, total soluble solids, alcohol content, real extract, attenuation limit and quantity and morphology of bacteria and yeasts. The alcoholic kombucha was produced on an industrial prototype scale based on the preferences of respondents in an online quantitative survey. A base kombucha was subjected to flavoring, alcoholic fermentation, maturation and gasification by bottle priming. It was subjected to physical-chemical and microbiological analysis throughout the processing. The final product was subjected to market testing for validation. The kombucha produced had a final alcohol content of 4.4% ABV, Brix 1.03, and pH 3.21. The product hard kombucha red fruits was sensorially accepted in the market test with 80% acceptance and 70% purchase intention. Thus, it can be concluded that the objective of the work has been achieved; the prototype can be produced on an industrial scale and enter the market.

Keywords: kombucha; alcoholic; prototype; fermentation; alcohol content.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma de processamento caseiro de kombucha.....	16
Figura 2 - Hard Kombucha Boochcraft.....	25
Figura 3 - Fluxograma de produção da kombucha alcoólica sabor frutas vermelhas.....	29
Figura 4 - Fermentador fechado com airlock acoplado.....	31
Figura 5 - Protótipo do produto kombucha alcoólica sabor frutas vermelhas.....	34
Figura 6 - Questionário de avaliação enviado para o consumidor junto à amostra.....	34
Figura 7 - Distribuição de faixa etária dos respondentes da pesquisa.....	36
Figura 8 - Distribuição de gênero dos respondentes da pesquisa.....	37
Figura 9 - Grau de instrução dos respondentes da pesquisa.....	37
Figura 10 - Distribuição de renda dos respondentes da pesquisa.....	38
Figura 11 - Origem geográfica dos respondentes da pesquisa.....	38
Figura 12 - Estado civil dos respondentes da pesquisa.....	39
Figura 13 - Distribuição de consumo de kombucha.....	40
Figura 14 - Intenção de compra do produto kombucha alcoólica.....	40
Figura 15 - Intenção de compra dos não consumidores de kombucha.....	41
Figura 16 - Preferência de graduação alcoólica para o produto.....	42
Figura 17 - Influência de fatores na intenção de compra de kombucha alcoólica.....	43
Figura 18 - Frequência de consumo de kombucha alcoólica.....	44
Figura 19 - Local de consumo de hard kombucha.....	45
Figura 20 - Preferência de embalagem dos respondentes.....	46
Figura 21 - Faixas de preço atribuídas ao produto hard kombucha em embalagem de vidro e conteúdo líquido de 330 mL.....	46
Figura 22 - Preferências de sabores para a hard kombucha.....	47
Figura 23 - Morfologia das leveduras da hard kombucha.....	50
Figura 24 - Distribuição de gênero dos provadores.....	52
Figura 25 - Distribuição de faixa etária dos provadores.....	52
Figura 26 - Distribuição de escolaridade dos provadores.....	53
Figura 27 - Distribuição de renda dos provadores.....	53
Figura 28 - Escala de aceitação do produto hard kombucha sabor frutas vermelhas.....	54
Figura 29 - Intenção de compra do produto hard kombucha sabor frutas vermelhas.....	54
Figura 30 - Faixas de preço atribuídas ao produto hard kombucha sabor frutas vermelhas.....	55
Figura 31 - Atributos que agradaram os provadores no teste de mercado.....	56

Figura 32 - Atributos que desagradaram os provedores no teste de mercado.....56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros analíticos de kombucha exigidos pela IN 41/2019.....	19
Tabela 2 - Parâmetros analíticos de kombucha exigidos pelo Code of Practice (KBI).....	21
Tabela 3 - Classificação de kombuchas segundo o KBI.....	22
Tabela 4 - Principais microrganismos em kombucha.....	23
Tabela 5 - Especificações técnicas do fermento Red Star Premier Blanc.....	30
Tabela 6 - Resultados das análises da kombucha saborizada.....	47
Tabela 7 - Resultados das análises físico-químicas.....	48
Tabela 8 - Resultados das análises de densidade e teor alcoólico.....	49
Tabela 9 - Resultados das análises microbiológicas.....	50

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVOS.....	13
2.1 Objetivo Geral.....	13
2.2 Objetivos Específicos.....	13
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
3.1 Histórico da Kombucha.....	14
3.1.1 Processamento.....	14
3.1.2 Principais compostos.....	17
3.1.3 Teor alcoólico.....	18
3.1.4 Legislação.....	19
3.1.5 Microrganismos.....	22
3.2 Kombucha Alcoólica.....	25
3.2.1 Mercado.....	25
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1 Pesquisa Quantitativa.....	27
4.2 Kombucha Base.....	28
4.3 Kombucha Alcoólica.....	28
4.4 Análises Físico-Químicas.....	32
4.4.1 Brix, Densidade e pH.....	32
4.4.2 Determinação de Teor Alcoólico e Teor de Açúcar.....	32
4.4.3 Limite de Atenuação.....	32
4.5 Análises Microbiológicas.....	33
4.5.1 Morfologia e Quantificação.....	33
4.6 Teste de Mercado.....	33
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5.1 Pesquisa Quantitativa.....	36
5.2 Kombucha Alcoólica.....	47
5.3 Análises Físico-Químicas.....	48
5.4 Análises Microbiológicas.....	50
5.5 Teste de Mercado.....	51
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	58
REFERÊNCIAS.....	59

1 INTRODUÇÃO

Kombucha é uma bebida fermentada a partir de chá *Camellia sinensis*, usualmente verde ou preto, açúcar, usualmente branco refinado, e uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras chamada SCOBY, do inglês *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*. Sua origem é provavelmente asiática, mas tornou-se mundialmente conhecida a partir dos anos 2000, quando ganhou notoriedade nos EUA (DUFRESNE & FARNWORTH, 2000). Seu consumo é associado a benefícios à saúde, os quais ainda não tem comprovação científica através de estudos *in vivo* (GREENWALT *et al.*, 2000).

O segmento de kombuchas alcoólicas apresentou um crescimento de 10,3 milhões de dólares nos EUA, entre os anos de 2017 e 2019 (MARKET WATCH, 2020). O interesse pelo produto vem aumentando e vai ao encontro da tendência mundial de consumo de bebidas de baixo teor alcoólico (FORBES, 2020). No Brasil, o produto ainda é parcamente explorado, sendo produzido por poucas empresas.

O Brasil é o único país do mundo com legislação específica para kombucha (SUHRE, 2020). Kombucha alcoólica, ou *hard* kombucha, é uma kombucha com teor alcoólico acima de 0,5% (v/v), de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2019). Apesar de não ter peso de lei, o Código de Práticas da *Kombucha Brewers International*, associação de produtores de kombucha norte-americanos, define *hard* kombucha como aquela em que é adicionada levedura exógena para formação de álcool (KBI, 2021).

O processamento de kombucha alcoólica se assemelha ao da tradicional, ao que é acrescentada uma etapa de fermentação adicional para geração de álcool. A fermentação alcoólica ocorre em ausência de oxigênio, através da conversão de açúcar, principalmente a frutose, em etanol e gás carbônico pelas leveduras. As concentrações de açúcar e levedura a serem utilizadas dependem do teor alcoólico desejado (DUFRESNE & FARNWORTH, 2000).

O desenvolvimento de uma kombucha alcoólica apresenta potencial mercadológico de acordo com as tendências internacionais. Da mesma forma, a caracterização da mesma é pouco abordada na literatura, onde estudos sobre kombucha ainda são recentes. À vista disso, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma kombucha alcoólica de acordo com as preferências do mercado consumidor, obtidas através de pesquisa quantitativa online, caracterizá-la por meio de análises físico-químicas e microbiológicas e avaliar sua intenção de compra por meio de teste de mercado.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Desenvolver uma kombucha alcoólica e caracterizá-la em relação a sua densidade, pH, sólidos solúveis totais, teor alcoólico, extrato real, limite de atenuação e quantidade e morfologia de bactérias e leveduras.

2.2. Objetivos Específicos

- Elaborar e aplicar formulário de pesquisa quantitativa para caracterizar o público alvo e identificar suas preferências, percepções e aceitação em relação ao produto;
- Desenvolver uma kombucha alcoólica sabor frutas vermelhas;
- Analisar densidade, sólidos solúveis totais, pH, teor alcoólico, extrato real e limite de atenuação;
- Quantificar e identificar a morfologia de bactérias e leveduras;
- Realizar um teste de mercado com o produto final.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Histórico da Kombucha

Kombucha é uma bebida fermentada a base de chá (*Camellia sinensis*), açúcar e uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras, conhecida como SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*). Geralmente apresenta um equilíbrio entre sabores ácidos, provenientes da fermentação espontânea, e doces, resultantes tanto do açúcar como da adição de frutas e especiarias. A kombucha também pode apresentar carbonatação proveniente de uma segunda fermentação ou de forma forçada, através da adição de dióxido de carbono (BRASIL, 2019).

Ao longo de sua existência, o SCOBY recebeu diversos nomes. A maioria deles reflete a sua aparência, origem provável asiática ou algum benefício associado. Esses termos históricos e coloquiais retratam as crenças atribuídas à kombucha. Dentre eles pode-se citar fungo do chá, mofo do chá, cogumelo, esponja do chá, mãe japonesa, flor russa, cogumelo medicinal, elixir da vida, cogumelo chinês, entre outros (CRUM & LAGORY, 2016).

A origem de seu consumo procede, historicamente, da China, Rússia e Alemanha. Sua citação mais antiga vem de 221 a.C, no noroeste da China, região da Manchuria, durante a dinastia Qin, na qual o imperador chinês se referiu à bebida como “*Divine Che*”. Em 414 d.C, um médico chamado Dr. Kombu teria tratado os problemas digestivos do imperador japonês através da ingestão de um chá fermentado, que recebeu o nome de kombucha em sua homenagem. Com a expansão das rotas comerciais, a kombucha foi introduzida na Rússia e em seguida na Europa Oriental, introduzindo-se na Alemanha já no século 20 (DUFRESNE & FARNWORTH, 2000). Recentemente, a bebida se popularizou nos Estados Unidos e a mídia vem destacando suas propriedades, sugerindo prováveis efeitos benéficos à saúde que ainda não foram comprovados cientificamente (GREENWALT *et al.*, 2000).

3.1.1 Processamento

Kombucha é produzida através de um processo de fermentação natural. Consiste numa primeira fermentação na presença de oxigênio e numa segunda, já no recipiente final, em anaerobiose. De forma simplificada, na primeira fermentação a sacarose, proveniente do açúcar, é clivada em frutose e glicose através da enzima invertase, produzida pelas leveduras. Os monossacarídeos, preferencialmente a frutose, são fermentados pelas leveduras em etanol e dióxido de carbono via glicólise. O etanol é, em sua maioria, oxidado pelas bactérias em

ácidos orgânicos, que também os produzem a partir dos açúcares, principalmente a glicose (DUFRESNE & FARNWORTH, 2000). Como esse processo ocorre em fermentador aberto, o dióxido de carbono não fica retido nesta etapa.

Ao longo do período de fermentação aeróbia, um novo biofilme celulósico de SCOBY é formado e permanece no topo do recipiente, em contato com o oxigênio. Açúcar é utilizado como fonte de carbono pelos microrganismos presentes, principalmente bactérias acéticas, para a formação de celulose (SREERAMULU *et al.*, 2000). A sua formação, assim como a cinética da fermentação, depende de vários parâmetros durante o processamento, como temperatura, tempo, pH, aeração, tipo de açúcar, tipo de chá e geometria do vaso fermentador (VILLARREAL-SOTO *et al.*, 2019).

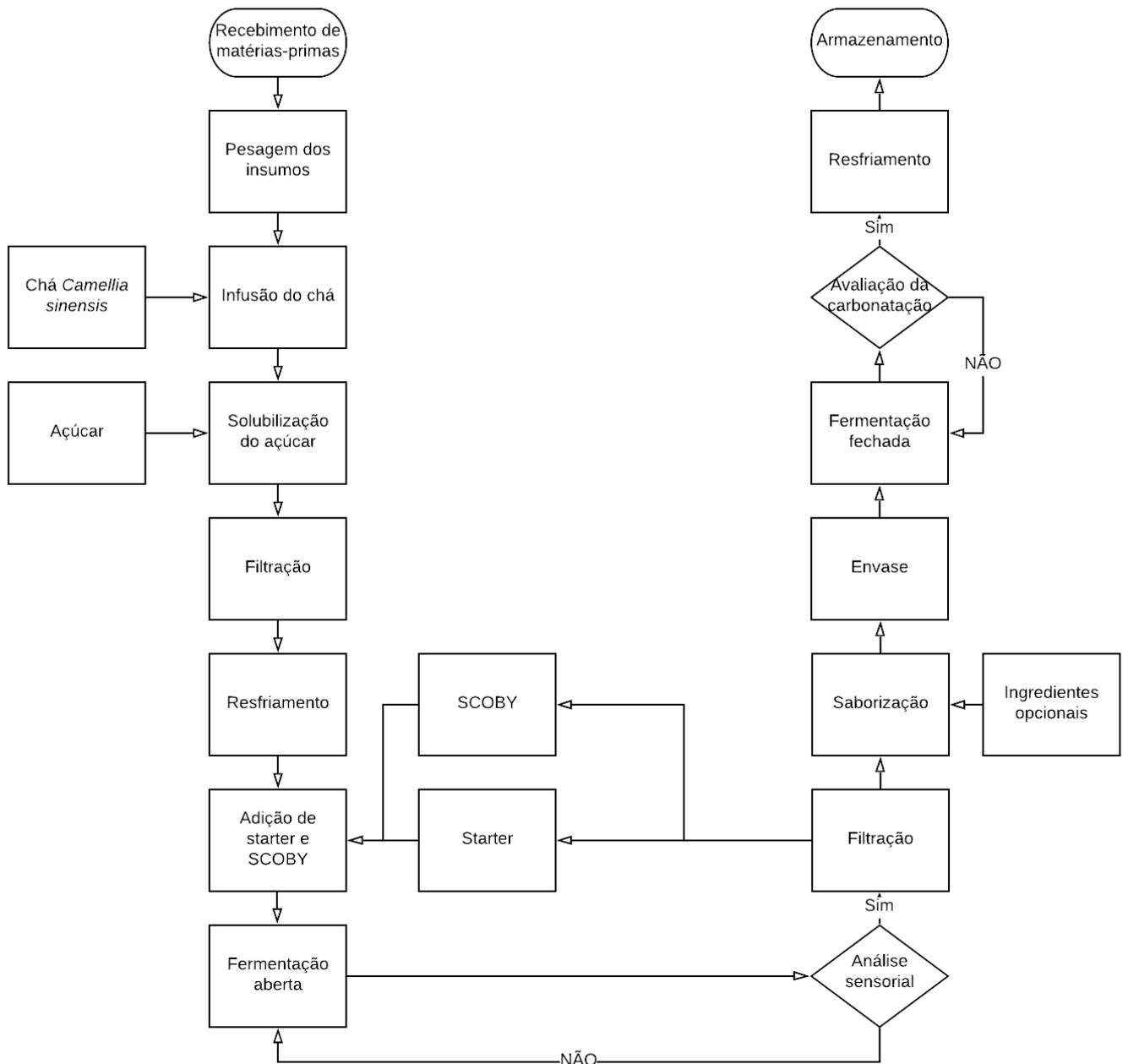
Para as kombuchas em que o gás carbônico é desejado, é realizada uma etapa adicional para incorporação do mesmo. A segunda fermentação tem por objetivo a formação e retenção do dióxido de carbono através da fermentação do açúcar, proveniente principalmente de frutas, rizomas e sucos de frutas adicionados à kombucha. Esse processo, contudo, gera também o etanol, que pode ser tanto desejável como indesejável (CRUM & LAGORY, 2016).

O fluxograma de produção caseira de kombucha pode ser visto na Figura 1. O processo se inicia pela preparação do chá, no qual 5 a 10 g/L de chá *Camellia sinensis* são infundidos em água quente de 5 a 15 minutos (JAYABALAN *et al.*, 2014). Finalizada a infusão, as folhas de chá são removidas e 50-150 g/L (REISS, 1994; GOH *et al.*, 2012; JAYABALAN *et al.*, 2014) de açúcar são adicionados e solubilizados no chá ainda quente. Após o resfriamento até temperatura ambiente (22°C) ou, no máximo, 38°C, o chá é filtrado e transferido para o vaso fermentador e nele são adicionados de 10-20% de líquido *starter*, proveniente de uma kombucha já fermentada (KOMBUCHA BREWERS INTERNATIONAL, 2021), e cerca de 24 g/L de SCOBY (JAYABALAN *et al.*, 2014). O vaso é então coberto por um tecido que permita a passagem de oxigênio, usualmente voil, e armazenado num ambiente na ausência de luz, umidade e sob temperatura constante.

A fermentação aberta perdura de 7 a 14 dias e cessa conforme o atingimento de determinadas características sensoriais estabelecidas pelo produtor caseiro, como um sabor equilibrado entre ácidos e açúcares (JAYABALAN *et al.*, 2014). O SCOBY e o líquido *starter*, que trata-se da kombucha pronta que fica no fundo do recipiente com os sedimentos, são separados do vaso fermentador, e o líquido útil, a kombucha subtraída do *starter*, é filtrado e saborizado a gosto. Dentre as principais técnicas de saborização dos kombucheiros caseiros estão a infusão de frutas picadas e adição de sucos de frutas. A kombucha saborizada

é envasada em recipiente fechado e passa pela segunda fermentação para gaseificação de 1 a 3 dias a temperatura ambiente (22°C). A avaliação da carbonatação pode ser feita através de manômetro acoplado à garrafa, experiência do produtor ou acompanhamento da rigidez em garrafas PET. Concluída a segunda fermentação, a kombucha é armazenada em geladeira entre 1 e 5°C (SANTOS, 2016).

Figura 1: Fluxograma de processamento caseiro de kombucha.



Fonte: A autora, 2021; KBI, 2021.

3.1.2 Principais compostos

Dentre os principais compostos presentes na kombucha, pode-se citar açúcares, principalmente na forma de glicose e frutose; aminoácidos, como lisina e leucina (JAYABALAN *et al.*, 2010); ácidos orgânicos, como ácido acético, láctico, glucônico e glucurônico (GREENWALT *et al.*, 2000; JAYABALAN *et al.*, 2007; COTON *et al.*, 2017; DE FILIPPIS *et al.*, 2018); vitaminas do complexo B, produzidas pelas leveduras (ROUSSIN, 1996; GREENWALT *et al.*, 2000; MALBASA *et al.*, 2004); compostos fenólicos, como as catequinas oriundas do chá *Camellia sinensis*, teaflavinas e tearubiginas (JAYABALAN *et al.*, 2007; DE FILIPPIS *et al.*, 2018); dióxido de carbono e etanol (TALEBI *et al.*, 2017; COTON *et al.*, 2017; SUHRE, 2020).

Os compostos formados durante a fermentação de kombucha variam conforme a composição do SCOBY utilizado (JAYABALAN *et al.*, 2007). Roussin (1996) acredita que a concentração de vitaminas em kombucha é dependente de atividade biológica, concentração e extensão de autólise dos microrganismos pelos quais são excretadas. Neffe-Skocinska *et al.* (2017) demonstraram que o conteúdo de frutose em todas as temperaturas de fermentação testadas é menor que o de glicose, o que sugere que a frutose é a fonte de carbono preferencial da cultura de kombucha.

Ácido pirúvico, málico, salicílico, succínico, cítrico e glucônico foram identificados por Villarreal-Soto *et al.* (2019) através de cromatografia gasosa. Segundo Jayabalan *et al.* (2007), ácido glucurônico e acético são os principais originados, aumentando gradualmente de acordo com o tempo de fermentação e atingindo pico no 12º e 15º dia de fermentação, respectivamente. Além disso, seu estudo indica que as teaflavinas e tearubiginas são mais estáveis do que os isômeros de catequinas durante o processo fermentativo e que a concentração desses compostos varia conforme o processamento das folhas de chá.

Jayabalan *et al.* (2010) estudaram a composição de aminoácidos presentes no SCOBY ao longo do tempo de fermentação. O mesmo mostrou-se rico tanto em aminoácidos essenciais como não essenciais. Dentre os essenciais, a lisina foi detectada em maiores quantidades; já entre os não essenciais, houve preponderância de isoleucina e leucina. Todos os aminoácidos apresentaram aumento na concentração juntamente ao tempo de fermentação.

O chá *Camellia sinensis* possui diversos compostos fenólicos sujeitos à biotransformação durante o processamento de kombucha. Esse conteúdo tende a diminuir

gradativamente ao longo da fermentação. A cultura de bactérias e leveduras atua diretamente no aumento ou diminuição desses compostos (VILLARREAL-SOTO *et al.*, 2019).

3.1.3 Teor alcoólico

Poucos estudos determinam a quantidade de álcool presente em kombuchas. Talebi *et al.* (2017) aferiram o teor alcoólico de dezoito kombuchas comerciais dos Estados Unidos utilizando o método de cromatografia gasosa. As amostras analisadas apresentaram uma faixa de variação de 1,12 a 2,00% de álcool (v/v), excedendo o limite estabelecido pelo país de 0,5% (v/v) para serem consideradas bebidas não alcoólicas.

Além disso, o efeito do tempo e da temperatura de armazenamento também foram investigados. A kombuchas armazenadas em temperatura ambiente (22°C) obtiveram um aumento considerável no teor alcoólico nos 7 primeiros dias, atingindo um máximo aos 14 dias e com pequena diminuição a partir dos 21 dias. Já as kombuchas armazenadas em temperatura de refrigeração (4°C) apresentaram aumento gradual no teor alcoólico até 14 dias, permanecendo estáveis após esse tempo. Dentre as possíveis causas da variação na concentração de etanol durante o armazenamento estão a hidrólise de ésteres etílicos, alta concentração de açúcares e leveduras ativas. Baixas temperaturas parecem reduzir a velocidade de formação de etanol (TALEBI *et al.*, 2017).

A presença de álcool em kombuchas produzidas e comercializadas no Brasil foi estudada por Suhre (2020), que verificou uma variação de 0,58 a 3,02% (v/v) de teor alcoólico em seis marcas, vendidas como não alcoólicas, analisadas em três períodos de armazenamento através do método *Alcolyzer Beer*. Não houve diferença estatística no teor de etanol ao longo da vida útil das amostras, indicando que pode haver estabilização sob armazenamento refrigerado (4°C).

Villarreal-Soto *et al.* (2019) compararam a produção de etanol de kombuchas iguais produzidas em recipientes distintos, a fim de analisar o impacto da geometria. Os recipientes possuíam diferentes áreas de superfície e mesma área interfacial. Pode-se demonstrar que a kombucha com maior área de superfície obteve o maior valor de pico de etanol durante a fermentação, atingindo 4,1% (v/v) em 11 dias, em comparação com outra de menor área de superfície, com valor de 2,9% no 16º dia. No entanto, após 21 dias de fermentação, a concentração final de etanol das kombuchas caiu para 1,4% (v/v), independente da área, devido ao consumo do mesmo pelas bactérias presentes.

Ihsani *et al.* (2021) investigaram a formação de etanol em kombucha de acordo com o tempo de incubação, nos dias 5, 6, 7 e 8. O crescimento na concentração de etanol deu-se do dia 5 ao 7º, de 0,02% para 0,32% (v/v), decaindo no 8º dia para 0,26% (v/v). Tais resultados estão de acordo com a lei indonésia, que estabelece o limite de 0,5% (v/v) de álcool para bebidas não alcoólicas.

Esses estudos demonstram a importância da existência de uma legislação que classifique as kombuchas conforme seu teor alcoólico, do acompanhamento do mesmo pelos fabricantes e da manutenção da cadeia do frio no armazenamento. A variação de teor alcoólico é devida a diferentes métodos de processamento, composição do SCOBY, concentração de açúcar e chá e condições de fermentação (TALEBI *et al.*, 2017).

Reiss (1994) estudou a influência de diferentes açúcares na formação de etanol em kombucha, sendo eles sacarose, lactose, glicose e frutose. Diferentes concentrações de lactose não influenciaram a geração de etanol, demonstrando que este açúcar não é utilizado pelas leveduras nesta via metabólica. Glicose propiciou baixos níveis de etanol, independente da concentração. Dentre os demais açúcares, 150 g/L de frutose foi a concentração que mais formou etanol, no valor de 8,11 g/L, seguida por 50 g/L de sacarose, com 6,3 g/L.

3.1.4 Legislação

O Brasil é o primeiro país com uma legislação que regulamenta a kombucha, a Instrução Normativa nº 41, de 17 de setembro de 2019, elaborada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A mesma teve seu prazo de regulamentação estendido devido à pandemia do Coronavírus, logo o país ainda encontra-se em adaptação à norma. Nela ficam determinados os padrões de identidade e qualidade da kombucha, apresentados na Tabela 1, assim como as determinações quanto à rotulagem.

Tabela 1: Parâmetros analíticos de kombucha exigidos pela IN 41/2019.

Parâmetro	Mínimo	Máximo
pH	2,5	4,2
Graduação alcoólica (% v/v) kombucha sem álcool	-	0,5
Graduação alcoólica (% v/v) kombucha com álcool	0,6	8,0

Acidez volátil (mEq/L)	30	130
Pressão (atm a 20°C) na kombucha adicionada de CO2	1,1	3,9

Fonte: Brasil, 2019.

O documento, além de definir a kombucha, explicita seus ingredientes obrigatórios e opcionais. Os ingredientes obrigatórios são água potável, infusão ou extrato de *Camellia sinensis*, açúcares e SCOBY, desde que garantida a sua inocuidade. Fica vedada a adição de microrganismos após o processo fermentativo, ou seja, como ingredientes, e autorizados processos tecnológicos pertinentes como filtração, ultracentrifugação e pasteurização. A expressão “pasteurizada” é obrigatória na rotulagem de kombuchas que forem submetidas a este processo (BRASIL, 2019).

Dentre os ingredientes opcionais, são permitidos infusões de vegetais; frutas; vegetais; especiarias; mel; melado e outros açúcares de origem vegetal e gás carbônico industrialmente puro. É permitida a adição de fibras, vitaminas, sais minerais e outros nutrientes, aromatizantes e corantes naturais, somente em kombuchas não alcoólicas, sendo vedada em kombuchas alcoólicas. As kombuchas não alcoólicas elaboradas somente com ingredientes obrigatórios podem ser designadas como “originais” (BRASIL, 2019).

Na composição de kombucha são permitidos coadjuvantes de tecnologia, aprovados pela ANVISA, e proibidos ácidos de fontes exógenas, que não sejam provenientes exclusivamente do processo fermentativo. Além disso, é vedado o uso de alegações funcionais e de saúde não autorizadas pela legislação específica da ANVISA, assim como o uso de embalagens que se assemelham a recipientes farmacêuticos, medicamentosos ou terapêuticos (BRASIL, 2019).

A existência de uma lei que norteia os padrões de produção e comercialização da kombucha é benéfica tanto para os consumidores quanto para os produtores. A aferição e acompanhamento do valor do pH é importante para a obtenção de alimentos seguros, livres de patógenos, assim como para determinação de padrões sensoriais e de controle de fermentação, que sinalizam quando o produto está apto ao consumo (NEFFE-SKOCINSKA *et al.*, 2017). A indicação do teor alcoólico no rótulo classifica as kombuchas entre não alcoólicas e alcoólicas, conhecidas popularmente como *hard* kombuchas. O termo *hard* não consta na legislação e não pode ser utilizado na denominação, somente como marca. Além disso, a proibição à atribuição de qualidades superlativas e de propriedades funcionais às

kombuchas evita que o consumidor seja induzido ao erro e propõe aos produtores o foco na qualidade e transparência.

Esta normativa, no entanto, não é o primeiro texto no mundo a sintetizar práticas seguras de produção de kombucha. O *Code of Practice*, elaborado pela *Kombucha Brewers International* (KBI), é o código de práticas de produção de kombucha da associação sem fins-lucrativos de produtores dos Estados Unidos. O texto, que em janeiro de 2021 ganhou sua versão 2.1, propõe padrões de segurança e qualidade para kombucha a fim de criar transparência para que os consumidores façam escolhas informadas.

O KBI exige que seus associados cumpram o Código, assim como parâmetros analíticos, que podem ser vistos na Tabela 2. As principais diferenças deste texto para a lei brasileira começam na definição dos ingredientes obrigatórios e opcionais. O KBI inclui na sua lista o líquido *starter* na quantidade mínima de 10%, além dos insumos citados pela IN 41/2019. Já a lista de opcionais é mais flexível, apesar de estabelecer um limite de 20% dos mesmos no volume da formulação. É permitida a adição de microrganismos externos, como bactérias probióticas, e ácidos exógenos. Não há limitação de teor alcoólico para a adição de vitaminas, minerais, aromas e corantes. Para as kombuchas fortificadas com vitaminas e/ou minerais ou que utilizem aromas e/ou corantes é permitido o uso de estabilizantes.

Tabela 2: Parâmetros analíticos de kombucha exigidos pelo *Code of Practice* (KBI).

Parâmetro	Variação
Graduação alcoólica (%v/v)	0,0 - 3,2
Acidez titulável (% ácido acético)	0,27 - 2,03
pH	2,2 - 3,8

Fonte: Kombucha Brewers International, 2021.

A associação sugere a categorização de kombuchas conforme ingredientes usados na primeira fermentação, origem do SCOBY e grau de processamento. Essa classificação pode ser vista na Tabela 3.

Tabela 3: Classificação de kombuchas segundo o KBI.

Tipo de Kombucha	Requisitos
<i>Jun</i> Kombucha	Somente mel natural como fonte de açúcar
<i>Honey</i> Kombucha	Somente mel pasteurizado como fonte de açúcar
<i>Herbal</i> Kombucha	Máximo de 20% das infusões são de ervas
<i>Coffee</i> Kombucha	Máximo de 20% das infusões são de café
<i>Yerba Mate</i> ou <i>Yaupon</i> Kombucha	Máximo de 20% das infusões são de erva mate ou chá dos apalaches
<i>Wild</i> Kombucha	SCOBY e <i>starter</i> naturais, não desenvolvidos em laboratório
<i>Hard</i> Kombucha	Kombucha adicionada de leveduras para elevar a produção de etanol
Kombucha <i>Beer</i>	<i>Hard</i> kombucha com parâmetros de cerveja (segundo a lei americana) e teor alcoólico mínimo de 3,4% ABV
Kombucha <i>Shandy</i> ou <i>Radler</i>	Kombucha combinada com cerveja
Kombucha <i>Wine</i>	<i>Hard kombucha com parâmetros de vinho</i> (segundo a lei americana) e teor alcoólico mínimo de 24% ABV
<i>Processed</i> Kombucha	Kombucha produzida industrialmente

Fonte: Kombucha Brewers International, 2021.

Segundo a *Kombucha Brewers International*, é de acordo com o tipo de processamento que uma kombucha é classificada como *hard*, não somente pela presença de álcool acima de 0,5% (v/v), como determina a IN 41/2019. A mesma deve conter leveduras adicionais, introduzidas ao processo a fim de elevar o teor alcoólico em comparação à kombucha tradicional (KOMBUCHA BREWERS INTERNATIONAL, 2021).

3.1.5 Microrganismos

De forma inédita até então, Coton *et al.* (2017) avaliaram a diversidade de microrganismos em kombuchas produzidas em escala industrial a partir de chá verde e chá

preto. As espécies bacterianas foram as mais afetadas pelo tipo de chá; *Oenococcus oeni*, *Lactobacillus nagelii* e *Lactobacillus satsumensis* foram as principais representantes lácticas em kombucha produzida a partir de chá preto; já *O. oeni* e *L. nagelii* em chá verde. *O. oeni* foi a espécie dominante em ambas as fermentações. *Gluconobacter oxydans*, *Acetobacter oki*, *Acetobacter tropicalis*, *Acetobacter syzygii* e *Gluconacetobacter europaeus* foram as principais bactérias acéticas relacionadas no estudo, para ambos os tipos de chá. *Dekkera anomala*, *Dekkera bruxellensis* e *Hanseniaspora valbyensis* foram as leveduras dominantes em ambas as fermentações.

Em estudo realizado com kombuchas brasileiras, Suhre (2020) identificou as principais espécies bacterianas e fúngicas presentes. Dentre as espécies bacterianas, foram reconhecidas *Bacillus flexus*, *O. oeni*, *Gluconacetobacter intermedius* e *Lactobacillus rumini*; sendo a última em maior abundância em todas as amostras. Essa bactéria, apesar de não estar associada à kombucha anteriormente na literatura, é conhecida por apresentar potencial probiótico (O'DONNELL *et al.*, 2015). Já a *G. intermedius*, em quantidades inferiores, também foi encontrada em todas as amostras. A mesma está relacionada à kombucha em outros trabalhos como possível produtora da rede celulósica do SCOBY (BOESCH *et al.*, 1998; TYAGI *et al.*, 2016). Dentre as espécies fúngicas, Suhre (2020) apresenta como predominantes *D. anomala* e *D. bruxellensis*, além de *Lachancea fermentati* em uma amostra.

A fermentação natural e simbiótica da kombucha é considerada complexa e pode apresentar variações entre lotes e efeitos sazonais. Os principais microrganismos relacionados e suas respectivas contribuições às propriedades organolépticas ainda precisam ser elucidados (COTON *et al.*, 2017). A Tabela 4 mostra os principais microrganismos relacionados a kombucha, função central e os respectivos autores.

Tabela 4: Principais microrganismos em kombucha.

Função	Microrganismo	Autores
Bactéria láctica	<i>Oenococcus oeni</i>	Coton <i>et al.</i> , 2017; Suhre, 2020
	<i>Lactobacillus nagelii</i>	Coton <i>et al.</i> , 2017
	<i>Lactobacillus satsumensis</i>	Coton <i>et al.</i> , 2017

	<i>Lactobacillus rumini</i>	Suhre, 2020
	<i>Bacillus flexus</i>	Suhre, 2020
Bactéria acética	<i>Acetobacter oki</i>	Coton <i>et al.</i> , 2017
	<i>Acetobacter tropicalis</i>	Coton <i>et al.</i> , 2017
	<i>Acetobacter syzygii</i>	Coton <i>et al.</i> , 2017
	<i>Gluconobacter oxydans</i>	Coton <i>et al.</i> , 2017
	<i>Gluconacetobacter europaeus</i>	Coton <i>et al.</i> , 2017
	<i>Gluconacetobacter intermedius</i>	Suhre, 2020
Levedura	<i>Dekkera anomala</i>	Coton <i>et al.</i> , 2017; Suhre, 2020
	<i>Dekkera bruxellensis</i>	Coton <i>et al.</i> , 2017; Suhre, 2020
	<i>Hanseniaspora valbyensis</i>	Coton <i>et al.</i> , 2017
	<i>Lachancea fermentati</i>	Suhre, 2020

Fonte: A autora, 2021.

Poucos trabalhos estudam a co-fermentação entre os microrganismos presentes em kombucha e leveduras comerciais, como é o proposto pelo KBI na produção de *hard* kombuchas. O consórcio de microrganismos de kombucha foi utilizado por Cardoso *et al.* (2021) na co-fermentação de cerveja tipo *sour*, juntamente com a levedura comercial *Saccharomyces cerevisiae*, resultado num produto de baixo teor alcoólico (2,6%, v/v), pH de 3,75 e com aceitação global de 6,82 numa escala hedônica de 1 a 9. O produto mostra-se promissor pela intenção de compra de 3,65 (escala hedônica 1 a 5). Como destacado pelos autores, a acidez elevada relatada pelos provadores pode ser corrigida através da redução do

tempo de fermentação, adição de frutas e avaliações sensoriais com provadores treinados em próximos testes.

3.2 Kombucha Alcoólica

3.2.1 Mercado

A categoria de kombucha nos EUA cresceu de US\$ 1 milhão em 2014 para US\$ 1.8 bilhões em 2019, além de apresentar um aumento de 30% em número de marcas por ano. O segmento de *hard* kombucha, especificamente, expandiu de US\$ 1.7 milhões em 2017 para US\$ 12 milhões em 2019. A expectativa dos produtores é de um crescimento ainda maior nos próximos anos (MARKET WATCH, 2020).

Dentre as primeiras marcas de *hard* kombucha no mercado, a Boochcraft foi fundada em 2016 por um grupo de amigos na Califórnia, EUA. A ideia surgiu a partir de um dos sócios, que é cervejeiro, e propôs que fizessem um teste alcoólico. Hoje a marca está entre as 50 principais cervejarias artesanais do país. Naturalmente fermentada, a Boochcraft, que pode ser vista na Figura 2, é orgânica certificada pela USDA, utiliza sucos de frutas produzidos na própria fábrica e aposta numa tendência mundial de consumo de bebidas de baixo teor alcoólico (FORBES, 2020).

Figura 2: *Hard* Kombucha Boochcraft.



Fonte: BOOCHCRAFT ORGANIC HARD KOMBUCHA. Strawberry Lemonade.
Disponível em: <https://boochcraft.com/flavors/strawberry-lemonade>. Acesso em: 21 de março de 2021.

Já no Brasil, poucas marcas lançaram versões alcoólicas de kombucha. As principais encontradas são a High Kombucha, da Puro Verde, A.Kombucha e Be You, sendo as duas primeiras localizadas em São Paulo e a última no Rio Grande do Sul. A High Kombucha aposta em um único sabor, Rosé, com graduação alcoólica de 6,2% (v/v). A A.Kombucha apresenta diversos sabores, variando entre 3 e 8% (v/v). Por fim, a Be You entrou no segmento em fevereiro de 2021 com o sabor Ocean, de baunilha, rooibos e spirulina azul.

Diante deste contexto, fica evidente o potencial mercadológico do produto *hard kombucha*, especialmente no Brasil, onde ainda é pouco explorado. O desenvolvimento de novos produtos nesta categoria é, portanto, relevante ao mercado de bebidas e vai ao encontro das tendências de mercado no exterior. Além disso, falta à literatura estudos quanto à adição de microrganismos exógenos à cultura de kombucha, conforme o que é proposto neste estudo.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Pesquisa Quantitativa

Em uma primeira etapa, foi realizada uma pesquisa quantitativa a fim de elucidar as percepções do público quanto ao produto kombucha alcoólica. As etapas de briefing de produto e grupo focal foram mantidas em sigilo pela empresa. A pesquisa foi aplicada via formulário on-line através da ferramenta Forms do Google, dos dias 08 de fevereiro de 2021 a 11 de março de 2021. O formulário foi divulgado nas redes sociais, principalmente para grupos de discussão sobre kombucha e fermentados em geral.

O formulário obteve 263 respostas e foi dividido em 4 seções para coletar informações referentes aos dados dos respondentes, percepções sobre kombucha em geral e opiniões específicas acerca de kombucha alcoólica e dos não consumidores. O questionário foi destinado somente à maiores de 18 anos. As perguntas foram as seguintes:

1. Qual a sua idade?
2. Com qual gênero você se identifica?
3. Qual o seu grau de escolaridade?
4. Qual a sua renda familiar média?
5. De onde você é?
6. Qual o seu estado civil?
7. Kombucha é uma bebida fermentada a partir de chá (*Camellia sinensis*), açúcar e uma cultura simbiótica de microrganismos chamada SCOBY. Com que frequência você consome kombucha (não alcoólica e/ou alcoólica)?
8. *Hard* kombucha é uma kombucha alcoólica que passou por uma etapa adicional de fermentação para formação de álcool acima de 0,5% (v/v). Você compraria uma *hard* kombucha?
9. Ao beber uma *hard* kombucha, você espera qual graduação alcoólica (v/v)?
10. Como você avalia a influência desses fatores (sabor, teor alcoólico, selo orgânico, embalagem e preço) na compra de uma *hard* kombucha?
11. Com que frequência você consumiria *hard* kombucha?
12. Em que local você consumiria *hard* kombucha?
13. Em qual embalagem você preferiria consumir a *hard* kombucha?

14. O quanto você estaria disposto a pagar por uma kombucha alcoólica em lata de 350 mL?
15. O quanto você estaria disposto a pagar por uma kombucha alcoólica em garrafa de vidro de 350 mL?
16. Qual sabor de *hard* kombucha você gostaria de consumir?
17. Por que você não compraria *hard* kombucha?

As perguntas de 1 a 8 foram destinadas a todos os respondentes. Conforme a resposta à pergunta número 8, relativa à intenção de compra do produto kombucha alcoólica, os respondentes foram direcionados a seções diferentes. Aqueles que responderam “sim” ou “talvez” puderam responder às perguntas de número 9 à 16. Já os que responderam “não” foram direcionados à pergunta 17.

4.2 Kombucha Base

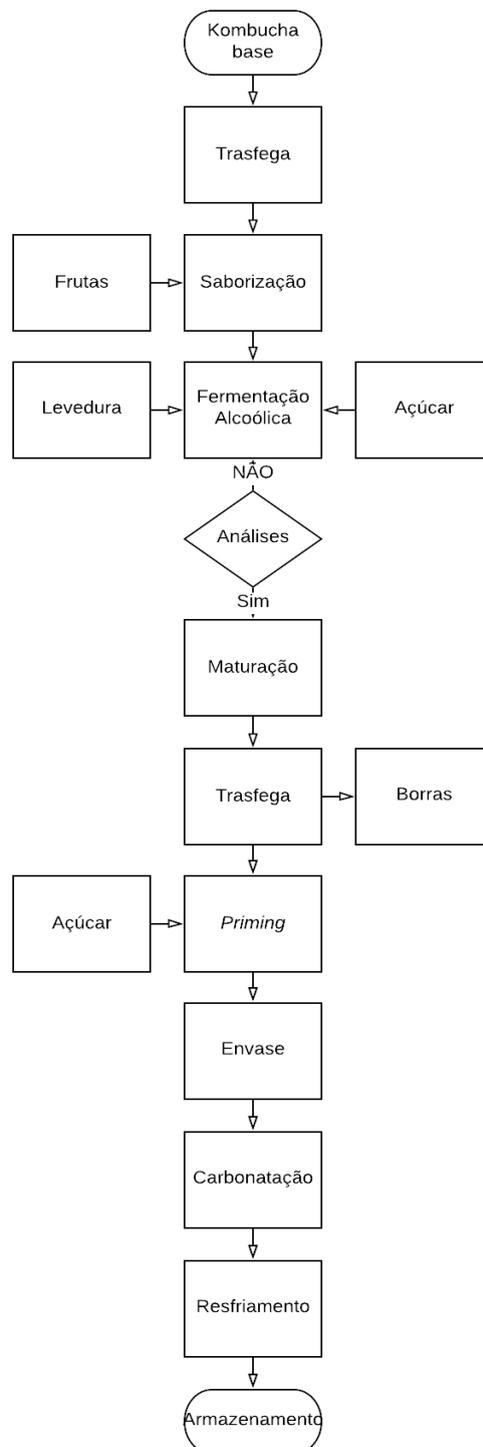
A kombucha base para esse experimento foi produzida pela empresa Dêvi Produção de Bebidas Orgânicas, localizada em Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Desta forma, a formulação e os fornecedores não serão divulgados, pois configuram segredo industrial. Para a sua preparação, foram utilizados chá verde orgânico moído grosso e açúcar demerara orgânico, além de SCOBY e líquido *stater* da empresa. O processo realizado foi semelhante ao descrito na Figura 1, até a etapa de fermentação aberta, que foi conduzida por 7 dias em fermentador de aço inox 304, com capacidade útil de 500 L, da marca Roman Máquinas e Equipamentos LTDA. Para o experimento foi retirada uma alíquota de 45 L de kombucha base.

4.3 Kombucha Alcoólica

A kombucha alcoólica foi produzida de acordo com o método sugerido pelo KBI no *Code of Practice* adaptado para este estudo. O fluxograma de produção da kombucha alcoólica por ser visto na Figura 3. A kombucha base, que passou apenas pela primeira fermentação, foi saborizada com frutas vermelhas orgânicas, amora e framboesa, adquiridas da fazenda Espaço do Sossego de Farroupilha - RS. A proporção das frutas utilizadas também configura segredo industrial. A saborização ocorreu através da imersão das frutas orgânicas *in natura* no líquido, dentro de bags do tecido voil, por uma noite. Após, as frutas foram

retiradas e foi adicionado açúcar demerara orgânico, conforme o teor de sólidos solúveis da kombucha saborizada e o teor alcoólico desejado ao final do processo.

Figura 3: Fluxograma de produção da kombucha alcoólica sabor frutas vermelhas.



Fonte: A autora, 2021.

Para a fermentação alcoólica foi utilizado o fermento Premier Blanc Red Star (Fermentis, França), adquirido na loja WE Consultoria de Porto Alegre. O fermento consiste na levedura *Saccharomyces bayanus* e suas especificações técnicas podem ser vistas na Tabela 5. O preparo e a hidratação do fermento se deram conforme as especificações do fabricante. A levedura foi adicionada ao mosto em fermentador plástico HDPE, com capacidade útil de 60 L, adquirido na Malteshop de Porto Alegre. O mesmo foi fechado e nele acoplado airlock modelo tipo “S” (Brewder Equipamentos, Itália) para a saída do gás carbônico. O sistema pode ser visto na Figura 4.

Tabela 5: Especificações técnicas do fermento Red Star Premier Blanc.

Temperatura de fermentação	15 - 30°C (59 - 86°F)
Atenuação (%)	-
Floculação	Baixa - Média
Tolerância ao Álcool (%)	13 - 15
Taxa de fermentação	Rápida
Produção de espuma	Moderada
Exigências nutritivas	Normal
Produção de H ₂ S	Baixa
Produção de SO ₂	Baixa
Perfil	Hidromel e Vinho

Fonte: WE Consultoria, 2021.

Figura 4: Fermentador fechado com airlock acoplado.



Fonte: A autora, 2021.

A fermentação alcoólica transcorreu por 10 dias sob temperatura de 26°C, controlada por ar condicionado tipo split (Samsung, Digital Inverter). O término da fermentação foi determinado através da diminuição da atividade fermentativa (bolhas no airlock), análise de densidade e de teste sensorial, pelo grau de acidez atingido, também aferido em pHmetro. Após, o fermentador foi transferido para câmara fria (EOS Câmaras Frigoríficas) para maturação por 3 dias sob temperatura de refrigeração (<4°C). O líquido foi transferido para 2 tanques de aço inox com capacidade útil de 30 L (Metal Traço) para a etapa de *priming*. O *priming*, que é a adição de açúcar na bebida para a formação de gás carbônico, se sucedeu com a adição de 6 g/L de açúcar demerara orgânico.

O experimento foi envasado parte em barril de aço inox 304 de 30 L (Global Beer) e parte em garrafas de vidro de 330 mL (Owens Illinois) com tampamento em *pry off*, totalizando 49 garrafas. Os recipientes permaneceram em carbonatação por 4 dias sob temperatura de 21°C, controlada por ar condicionado tipo split (LG, Inverter V), até atingirem pressão de 1 bar, medida por manômetro (Brewder Equipamentos, Itália). Por fim, os recipientes foram armazenados em câmara fria (EOS Câmaras Frigoríficas) sob temperatura de refrigeração (<4°C).

4.4 Análises Físico-Químicas

4.4.1 Brix, Densidade e pH

As análises de sólidos solúveis totais (°Brix), densidade e pH foram realizadas na Dêvi Produção de Bebidas Orgânicas. Os sólidos solúveis totais foram medidos através de refratômetro com escala de 0 a 32°Brix (Huixi Supply Co. Limited, Mod. SBR0032). A densidade foi medida através de densímetro com escala 1000/1100 (Incoterm Indústria de Termômetros, Mod. 5582) em proveta plástica de 250 mL (Nalgon), a qual foi preenchida até o menisco com as amostras homogeneizadas. Por fim, o pH foi medido através de pHmetro de bolso (Huixi Supply Co. Limited, Mod.6020) previamente calibrado com soluções tampão pH 7 e pH 4 (Nalgon).

4.4.2 Determinação de Teor Alcoólico e Teor de Açúcar

A determinação do teor alcoólico e de açúcar foram realizadas em laboratório externo. O teor de etanol foi determinado pela diferença de densidade entre as amostras ao longo do processo, sendo estas densidades aferidas por densímetro digital (Easy Dens, Anton Paar). Os resultados foram expressos em percentual de teor alcoólico (v/v).

O teor de açúcar ou extrato real também foi determinado por densímetro digital (Easy Dens, Anton Paar) e os resultados foram expressos em percentual de açúcar (g/100 g). Ambos os valores foram estimados mediante a medição indireta da transformação de açúcares em etanol e gás carbônico, através da análise das densidades (g/cm^3) inicial e final e da aplicação da ferramenta *Alcohol and Attenuation* no programa Beersmith, versão 3.

4.4.3 Limite de Atenuação

A determinação do limite de atenuação foi realizada em laboratório externo segundo método apresentado por White *et al.* (2010). Esta análise teve por objetivo verificar a quantidade de açúcar fermentescível presente nas etapas de fabricação. As amostras foram inoculadas com uma colônia da levedura *Saccharomyces cerevisiae* CBC-1 (Lallemand), incubadas em estufa bacteriológica (De Leo, 42 L) a 30°C e pesadas diariamente até a sua

estabilização. Após, as amostras foram submetidas à medição de densidade por densímetro digital (Easy Dens, Anton Paar).

4.5 Análises Microbiológicas

4.5.1 Morfologia e Quantificação

A quantificação e a identificação da morfologia de bactérias e leveduras foram realizadas em laboratório externo. As amostras foram diluídas (10^3) e plaqueadas no volume de 0,1 mL nos seguintes meios de cultura: Macconkey (MC), para identificação de coliformes; Wallerstein Laboratory Differential (WLD), para bactérias acéticas; Man Rogosa & Sharpe (MRS), para bactérias lácticas e Sabouraud para leveduras. A incubação foi realizada a 30°C por 72 horas em estufa bacteriológica (De Leo, 42 L). O crescimento foi quantificado em unidades formadoras de colônia (UFC) por mL utilizando um contador de colônias (Ion, CC90). Os microrganismos foram identificados conforme o crescimento nos meios seletivos, confirmação em microscópio biológico binocular (Sdorf Scientific, SDMB-100) com aumento de 1000x, coloração gram e teste da catalase.

4.6 Teste de Mercado

Devido a situação da pandemia do COVID19, o teste de mercado foi realizado, de forma excepcional, com apenas 30 respondentes, todos maiores de 18 anos. Cada provador recebeu uma garrafa de 330 mL do produto e uma ficha conforme as Figuras 5 e 6, respectivamente. O questionário teve por objetivo avaliar a aceitação global do produto em escala hedônica de 5 pontos (1 - Desgostei muitíssimo e 5 - Gostei muitíssimo), percepções dissertativas acerca de qualidades e defeitos do produto, a intenção de compra e o valor que o respondente estaria disposto a pagar.

Figura 5: Protótipo do produto kombucha alcoólica sabor frutas vermelhas.



Fonte: A autora, 2021.

Figura 6: Questionário de avaliação enviado para o consumidor junto à amostra.

FICHA DE TESTE DE MERCADO	
<p>Este questionário é referente à avaliação do produto kombucha alcoólica sabor frutas vermelhas para o trabalho de conclusão de curso da Maria Eugênia, em Engenharia de Alimentos na UFRGS. A pesquisa é destinada somente a maiores de 18 anos. Agradeço a sua disponibilidade em participar.</p>	
<p>Retorne a ficha ou envie uma foto por Whatsapp para Maria Eugênia Adami (51) 99858-0490.</p>	
<p>Você é maior de 18 anos e concorda em degustar o produto e responder às perguntas abaixo?</p>	
<p><input type="checkbox"/> Sim</p>	
<p><input type="checkbox"/> Não</p>	

GÊNERO: () Masculino () Feminino () Outro

IDADE: _____

Escolaridade: () Fundamental () Médio () Superior

Renda Familiar Média:

- () Até R\$ 1.748,59 () Entre R\$ 5.641,64 e R\$ 11.279,14
() Entre R\$ 1.748,59 e R\$ 3.085,48 () Entre R\$ 11.279,14 e R\$ 25.554,33
() Entre R\$ 3.085,48 e R\$ 5.641,64 () Acima de R\$ 25.554,33

Por favor, prove a amostra e responda às seguintes questões:

1) Marque na escala abaixo o quanto você gostou da kombucha alcoólica sabor frutas vermelhas:

- () Gostei muitíssimo
() Gostei
() Não gostei nem desgostei
() Desgostei
() Desgostei muitíssimo

Comentários: Escreva o que você gostou e/ou desgostou:

GOSTEI: _____

DESGOSTEI: _____

2) Você compraria esse produto?

- () Sim
() Não
() Talvez

3) Marque na escala abaixo quanto você pagaria pela kombucha alcoólica sabor frutas vermelhas, considerando a porção de 330 mL em garrafa de vidro:

- () Não compraria () R\$ 15,00 a R\$ 17,00 () R\$ 17,00 a R\$ 19,00
() R\$ 19,00 a R\$ 21,00 () R\$ 21,00 a R\$ 23,00 () Outro: _____

Fonte: A autora, 2021.

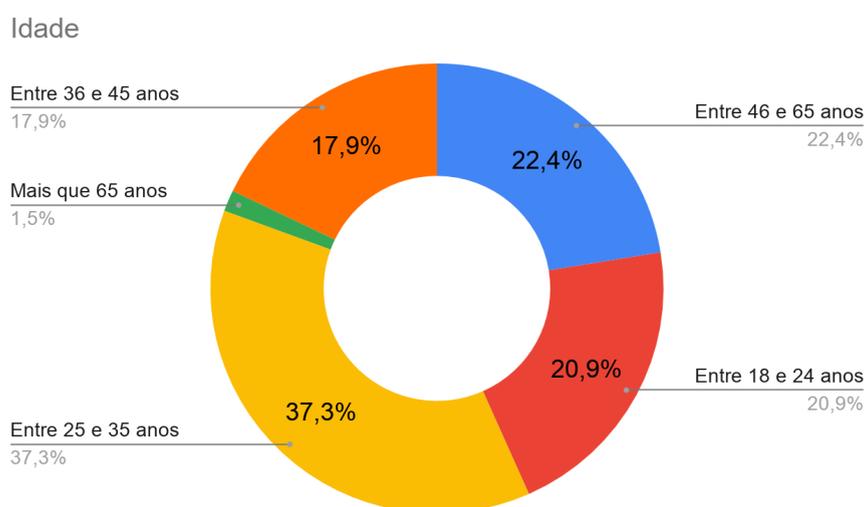
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Pesquisa Quantitativa

A pesquisa quantitativa obteve 263 respondentes. O público atingido era majoritariamente de faixa etária inferior a 65 anos, prevalecendo os jovens entre 25 e 35 anos, e gênero feminino, como pode ser visto nas Figuras 7 e 8, respectivamente. Quanto ao grau de instrução e renda familiar média, 69% dos respondentes apresentam superior completo ou pós-graduação e 53% são das classes sociais B1 e B2 (CRITÉRIO BRASIL, 2019), conforme as Figuras 9 e 10, de modo respectivo.

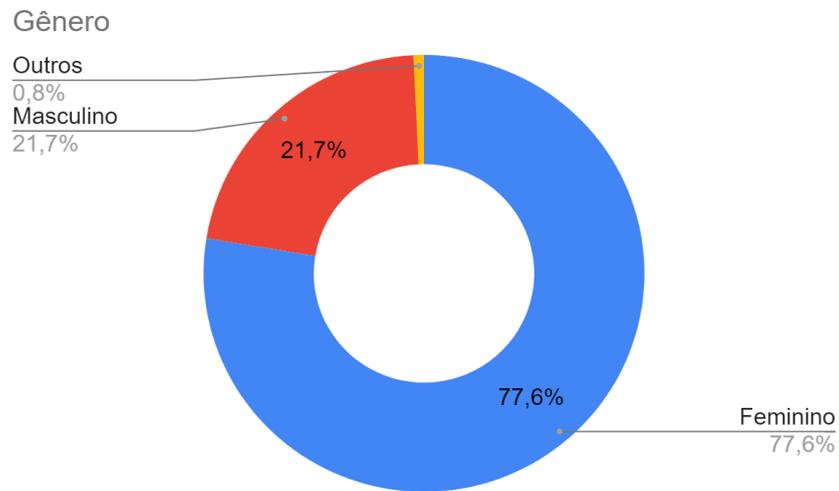
A pesquisa on-line atingiu moradores de todas as regiões do Brasil, com foco na região Sul e Sudeste, totalizando 92% (Figura 11). Por fim, o público atingido é predominantemente solteiro (Figura 12). Como a pesquisa foi divulgada preferencialmente em redes sociais de consumidores de kombucha, pode-se inferir que os compradores dessa categoria são principalmente mulheres jovens, solteiras, de alto grau de instrução e pertencentes à classe B (CRITÉRIO BRASIL, 2019).

Figura 7: Distribuição de faixa etária dos respondentes da pesquisa.



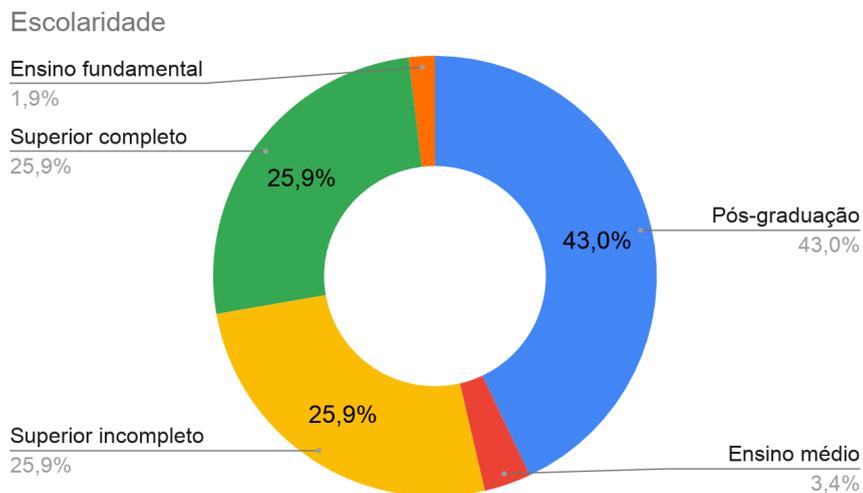
Fonte: A autora, 2021.

Figura 8: Distribuição de gênero dos respondentes da pesquisa.



Fonte: A autora, 2021.

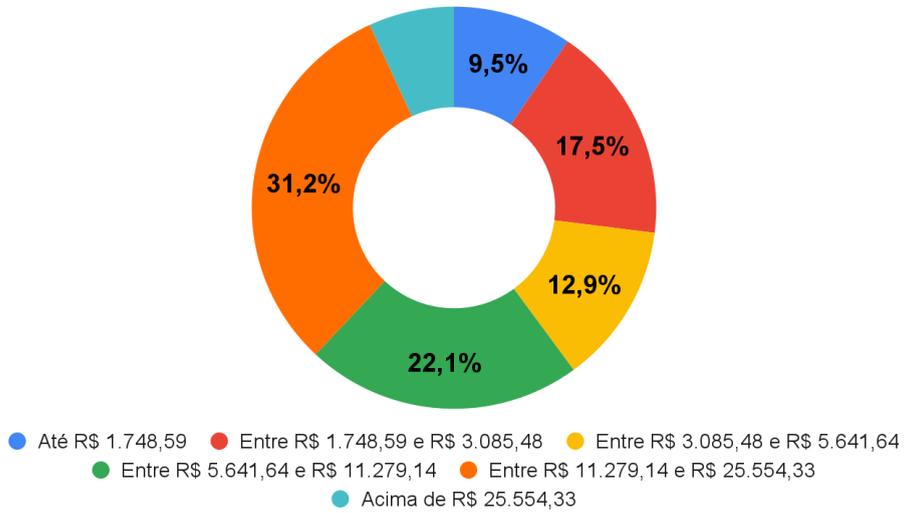
Figura 9: Grau de instrução dos respondentes da pesquisa.



Fonte: A autora, 2021.

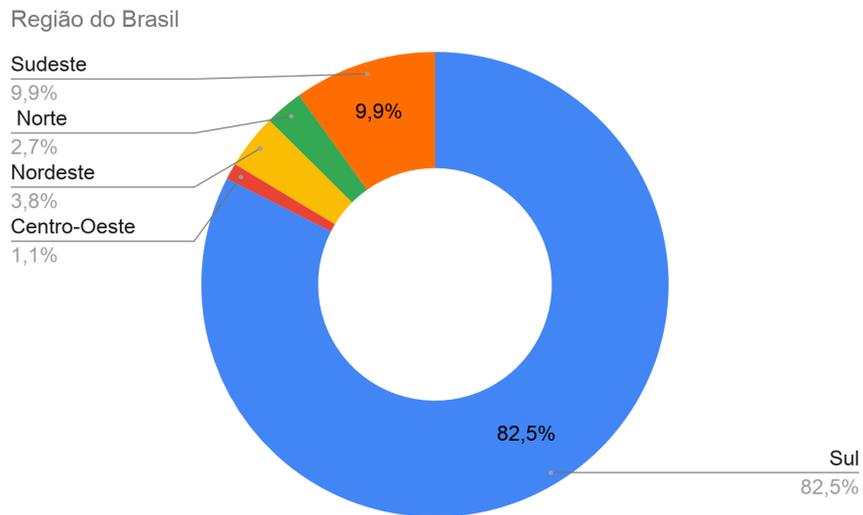
Figura 10: Distribuição de renda dos respondentes da pesquisa.

Renda Familiar Média



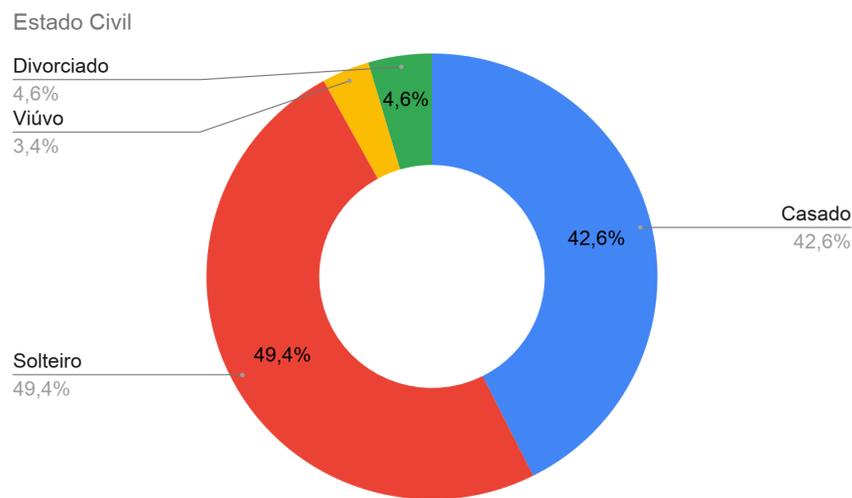
Fonte: A autora, 2021.

Figura 11: Origem geográfica dos respondentes da pesquisa.



Fonte: A autora, 2021.

Figura 12: Estado civil dos respondentes da pesquisa.



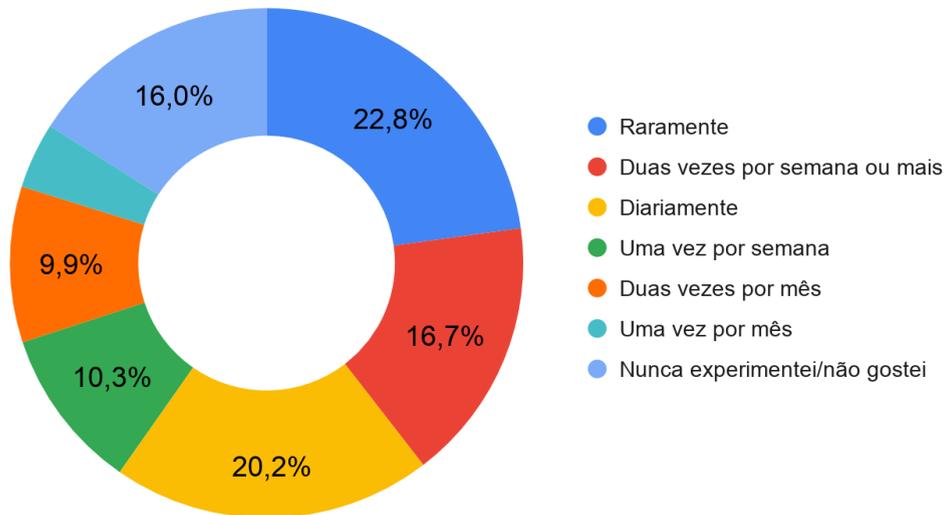
Fonte: A autora, 2021.

Dentre os respondentes, 16% não são consumidores de kombucha, 23% consomem raramente, 20% consomem diariamente e 41% são consumidores regulares, como pode ser visto na Figura 13. Frente a isso, foi apresentado o produto kombucha alcoólica e 82% dos respondentes demonstraram intenção de compra do produto (Figura 14). Dentre os não consumidores de kombucha, 98% demonstraram interesse no consumo de kombucha na sua versão alcoólica, respondendo “sim” ou “talvez” na intenção de compra (Figura 15). A inserção no mercado de kombucha alcoólica, portanto, é uma alternativa às empresas produtoras de kombucha para ampliação de mercado, uma vez que possibilita atingir novos consumidores.

Aos que responderam “não” na intenção de compra, foi-lhes questionado o motivo. Metade dos mesmos respondeu que não ingere álcool, seja por opção ou devido a problemas de saúde, 30% alegaram que o álcool foge à proposta do consumo de kombucha, por acreditarem que a mesma traz benefícios à sua saúde, e 20% não gostam de kombucha em geral. A presença de álcool em kombucha pode ser considerada um tabu atualmente, principalmente devido à falta da informação de que qualquer produto fermentado naturalmente possui alguma quantidade de álcool.

Figura 13: Distribuição de consumo de kombucha.

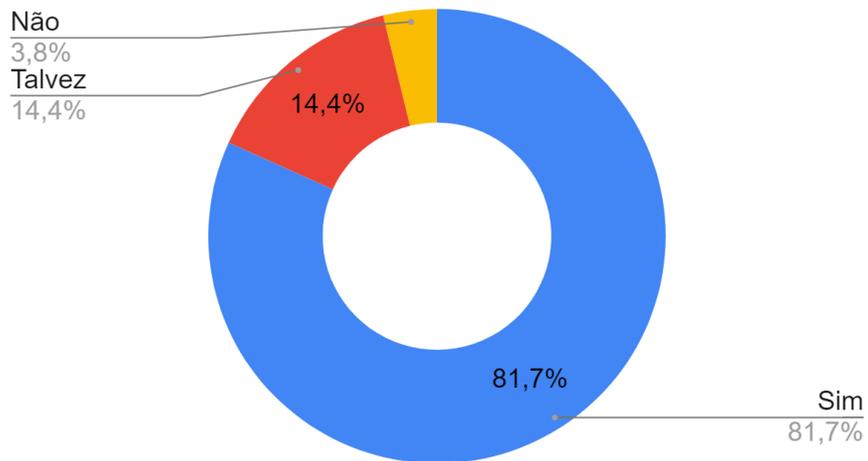
Com que frequência você consome kombucha?



Fonte: A autora, 2021.

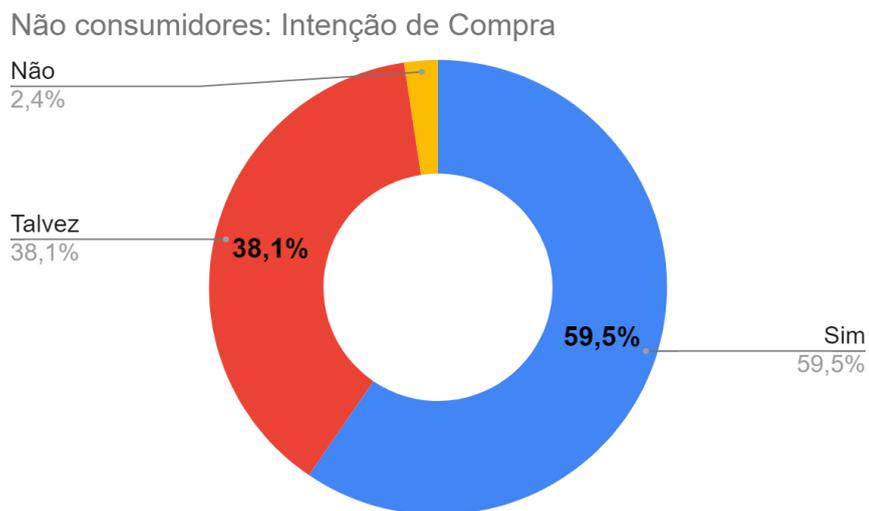
Figura 14: Intenção de compra do produto kombucha alcoólica.

Você compraria uma hard kombucha?



Fonte: A autora, 2021.

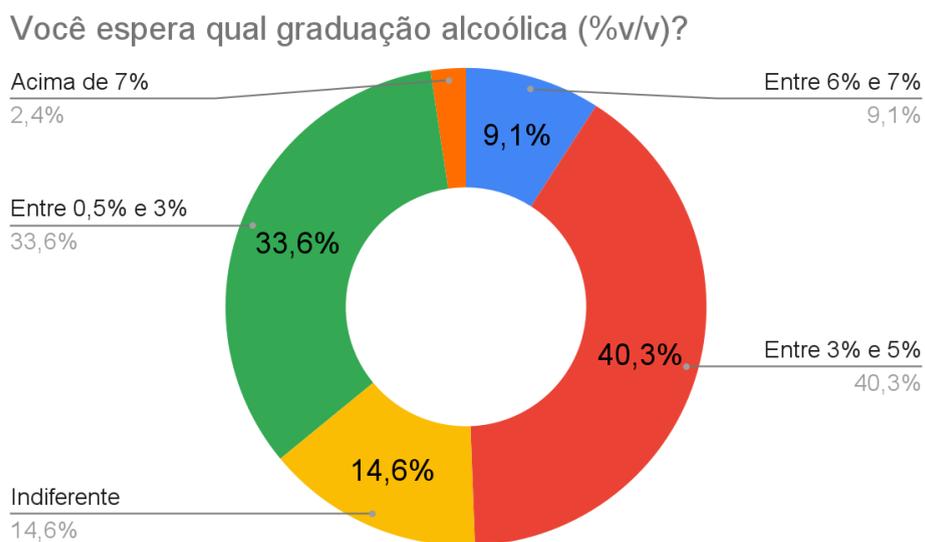
Figura 15: Intenção de compra dos não consumidores de kombucha.



Fonte: A autora, 2021.

Na seção de perguntas específicas, foi questionada a preferência de graduação alcoólica do produto. A maioria optou por baixos teores alcoólicos, sendo que 40% preferem de 3 a 5% (v/v) de álcool, faixa semelhante a cervejas pilsen (Figura 16). Apenas 11% preferiram graduações mais elevadas. Os resultados vão ao encontro das atuais tendências de consumo de bebidas de baixo teor alcoólico. A diminuição do consumo de álcool é uma tendência presente em menores de 35 anos, que desejam um estilo de vida mais saudável e preferem bebidas de menor teor alcoólico (IBRAVIN, 2019).

Figura 16: Preferência de graduação alcoólica para o produto.

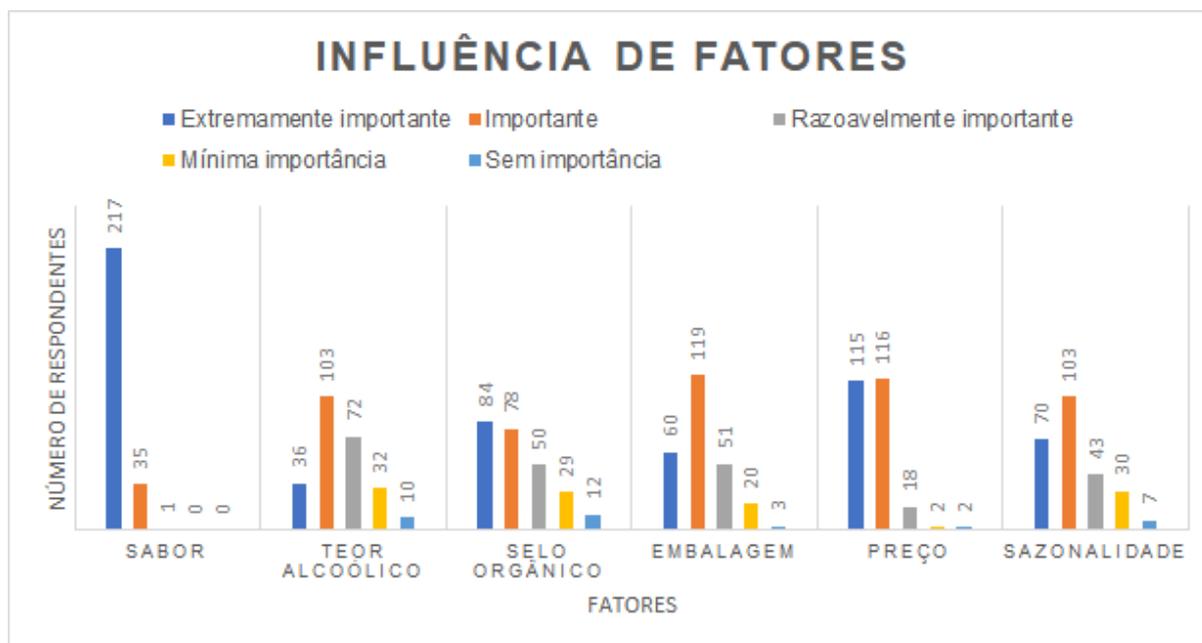


Fonte: A autora, 2021.

As respostas quanto ao grau de influência dos fatores sabor, teor alcoólico, selo orgânico, embalagem, preço e sazonalidade podem ser vistas na Figura 17. O fator sabor foi considerado de extrema importância para 86% dos respondentes, de forma a ser determinante para a recompra. Os fatores preço e embalagem também foram considerados importantes ou extremamente importantes por 91% e 71% dos consumidores, respectivamente, influenciando diretamente o momento da compra.

A utilização de ingredientes sazonais, certificação orgânica e teor alcoólico obtiveram graus de importância ou extrema importância de 68%, 64% e 55%, respectivamente. Diante disso, a sazonalidade e o selo orgânico se apresentam como diferenciais relevantes para o mercado de kombuchas alcoólicas.

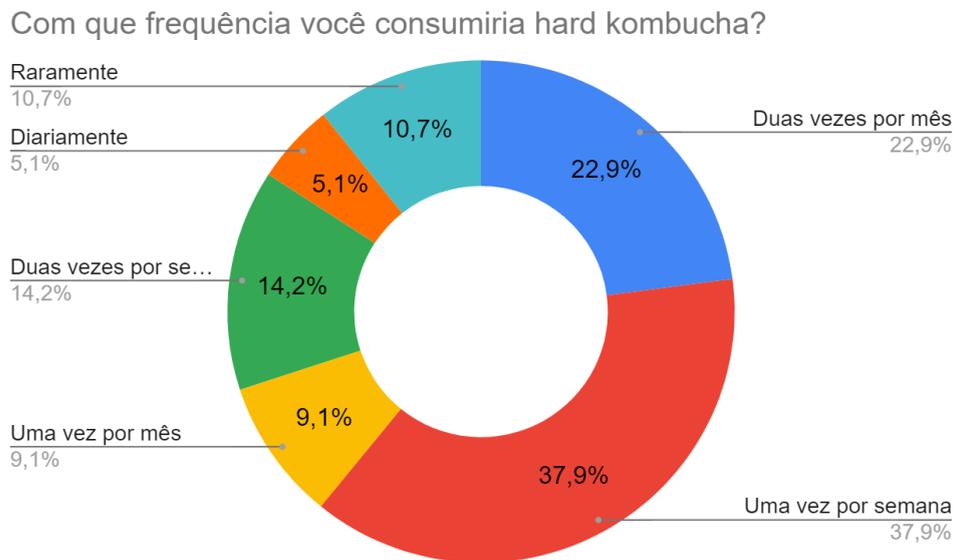
Figura 17: Influência de fatores na intenção de compra de kombucha alcoólica.



Fonte: A autora, 2021.

A frequência de consumo esperada para o produto *hard* kombucha pode ser vista na Figura 18. Em relação ao consumo de kombucha em geral, considerando somente as respostas dos consumidores na Figura 13, houve uma diminuição expressiva no consumo diário e duas vezes por semana, de 30% e 29% para 5% e 14%, respectivamente, por se tratar de uma bebida alcoólica cujo consumo diário traz prejuízos à saúde. Por conseguinte, os consumos semanal e quinzenal aumentaram de 12% e 14% para 38% e 23%, nesta ordem.

Figura 18: Frequência de consumo de kombucha alcoólica.

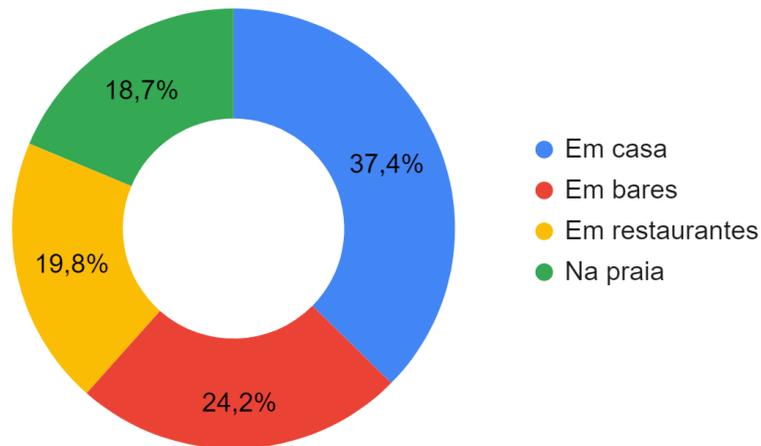


Fonte: A autora, 2021.

Os dados referentes à situação de consumo podem ser vistos na Figura 19. Era possível escolher mais de uma opção de local, sendo o mais citado “Em casa”, totalizando 38% das respostas. Em decorrência da pandemia do novo coronavírus, os hábitos dos brasileiros mudaram, de acordo com uma pesquisa realizada pela Veja Insights e EY Parthenon em 2020. A pesquisa, de abrangência nacional, contou com 1003 entrevistados entre 18 e 65 anos, 51% de mulheres e 49% homens. Nela, 66% dos brasileiros se declararam desconfortáveis em ir a restaurantes nesse período, preferindo fazer as refeições em casa.

Figura 19: Local de consumo de *hard kombucha*.

Em que local você consumiria *hard kombucha*?

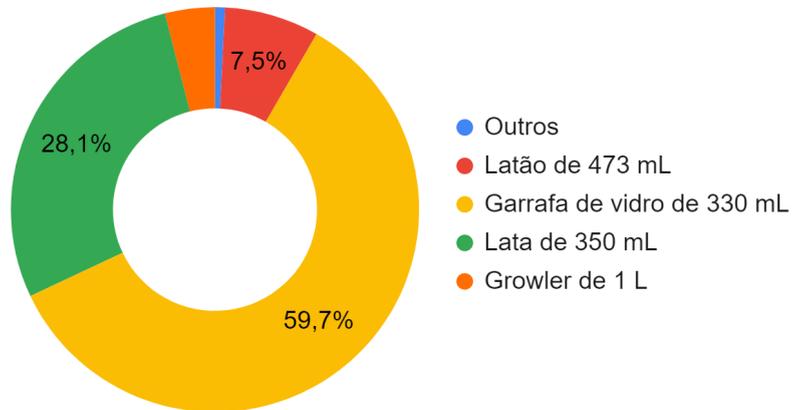


Fonte: A autora, 2021.

Conforme exposto na Figura 17, a embalagem do produto foi considerada um fator de extrema importância ou importante por 71% dos respondentes. A embalagem considerada mais adequada ao produto foi a garrafa de vidro de 330 mL, de acordo com 60% das respostas, que podem ser vistas na Figura 20. Quando questionados sobre o quanto pagariam por uma *hard kombucha* em garrafa de vidro de 330 mL, 51% dos respondentes pagariam entre R\$ 15,00 e R\$ 17,00, enquanto 31% pagariam um pouco mais, de R\$ 17,00 a R\$ 19,00 (Figura 21).

Figura 20: Preferência de embalagem dos respondentes.

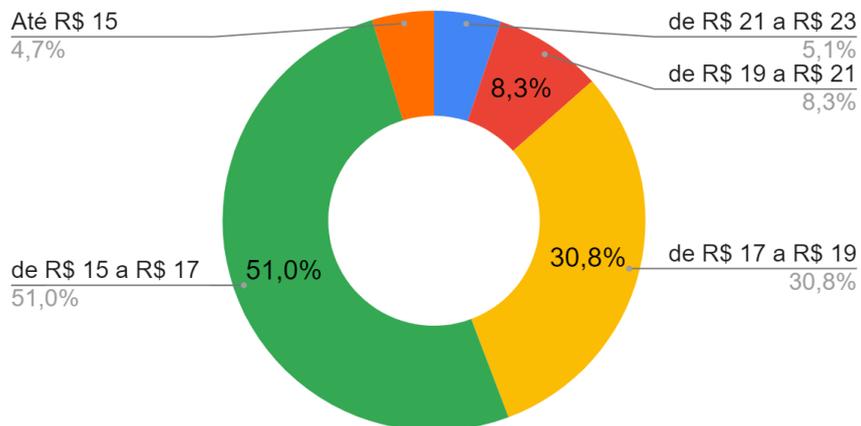
Em qual embalagem você preferiria consumir a hard kombucha?



Fonte: A autora, 2021.

Figura 21: Faixas de preço atribuídas ao produto *hard* kombucha em embalagem de vidro e conteúdo líquido de 330 mL.

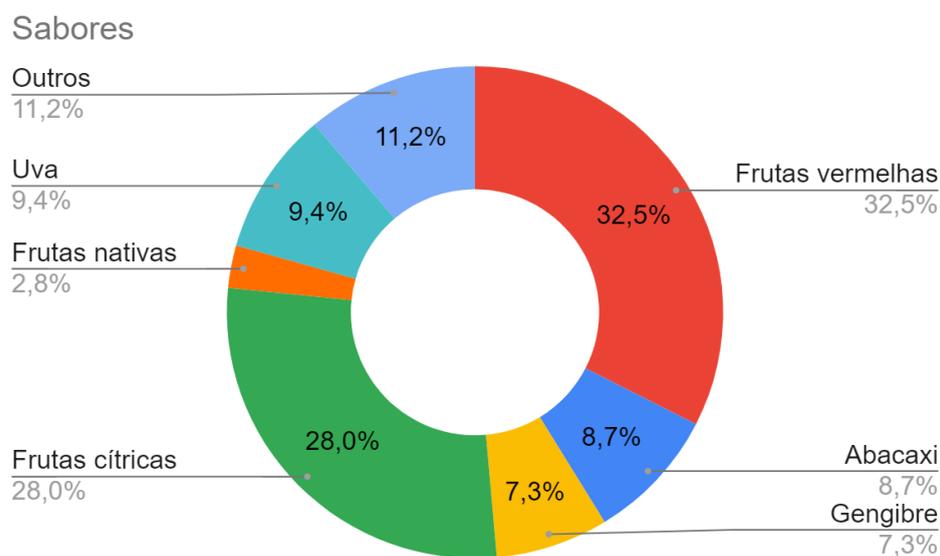
O quanto você estaria disposto a pagar por uma kombucha alcoólica em garrafa de vidro de 330 mL?



Fonte: A autora, 2021.

Ao final da pesquisa, foi disponibilizado um espaço para exposição de preferências de sabores para a *hard* kombucha, as quais foram classificadas em grupos (Figura 22). O sabor mais citado foi frutas vermelhas, por 32% dos respondentes, seguido por uma variedade de frutas cítricas, como maracujá, abacaxi e limão, que representam 28% das respostas.

Figura 22: Preferências de sabores para a *hard* kombucha.



Fonte: A autora, 2021.

5.2 Kombucha Alcoólica

A partir do resultado da pesquisa quantitativa, a kombucha foi desenvolvida conforme as preferências dos respondentes. O teor alcoólico de 5% (v/v) foi escolhido para este estudo, respeitando a faixa de 3% a 5% (v/v) mais votada. Da mesma forma, o sabor frutas vermelhas, mais citado na pesquisa, foi selecionado.

O processamento da *hard* kombucha ocorreu conforme a Figura 3. Após a etapa de saborização, foi recolhida uma amostra para determinação do Brix, pH e densidade e outra a ser enviada para laboratório externo. O resultado da análise do Brix no momento da produção, dia 0, que pode ser visto na Tabela 6, determinou a quantidade de açúcar a ser adicionada para obter-se o teor alcoólico desejado.

Tabela 6: Resultados das análises da kombucha saborizada.

Etapa	Brix (g/100g)	pH	Densidade
Saborização	4,0	3,31	1013

Fonte: A autora, 2021.

Considerando que 17 g/L de açúcar possibilitam a formação de 1% (v/v) de álcool (GIOVANNINI & MANFROI, 2009), para a obtenção de 5% (v/v) de álcool são necessários 85 g/L de açúcar. A partir do Brix da amostra, pode-se calcular que a mesma possuía 34 g/L de açúcar. Desse modo, foram adicionados 51 g/L de açúcar ao fermentador, que representam 2295 g de açúcar demerara orgânico em 45 L de kombucha.

5.3 Análises Físico-Químicas

A Tabela 7 apresenta o resultado das análises físico-químicas de todas as amostras analisadas, realizadas em duplicata. Nas etapas de saborização e início da fermentação alcoólica, foram analisadas a kombucha saborizada com frutas vermelhas e a mesma adicionada de açúcar e levedura, respectivamente. O teor de açúcar alcançado no início da fermentação mostrou-se inferior ao calculado, de 10 g/100g, o que pode dever-se a homogeneização ineficiente do fermentador após a adição do açúcar. A adição de açúcar à kombucha saborizada, além de elevar seu teor de açúcar, elevou seu pH. Isso se deve ao fato do pH de açúcar demerara orgânico ser de 6,3 (BETTANI *et al.*, 2014), superior ao pH da kombucha.

Tabela 7: Resultados das análises físico-químicas.

Etapa	Teor de açúcar (g/100g)	pH	Densidade (unidade)	Limite de Atenuação
Saborização	3,73	3,31	1013	999
Início da Fermentação Alcoólica	9,18	3,51	1032	1009
7º dia da Fermentação Alcoólica	1,64	3,26	1003	996
Final da Fermentação Alcoólica	1,03	3,20	998	995
Final Maturação	1,03	3,24	998	995

Produto Final	1,03	3,21	998	997
----------------------	------	------	-----	-----

Fonte: A autora, 2021.

Ao final da fermentação, a kombucha apresentou teor de açúcar de 1,03 g/100g, pH de 3,20 e densidade de 998. O resultado do limite de atenuação, de 997, mostra que ainda há açúcar fermentescível no produto, por ser inferior ao da densidade. Optou-se por cessar a fermentação nesse momento pelo grau de acidez elevado percebido em teste sensorial, apesar de não ter-se atingido o extrato zero desejado. Um mosto com extrato zero é aquele sem açúcares fermentescíveis residuais e o objetivo de obtê-lo é garantir uma maior vida útil ao produto, já que o mesmo não foi pasteurizado.

Na Tabela 8 pode-se ver a densidade inicial, densidade final e o resultado do teor alcoólico. O processo fermentativo realizado proporcionou a formação de 4,4% (v/v) de álcool, 0,6% inferior ao desejado no início do desenvolvimento, de 5% (v/v). O resultado, contudo, permanece dentro da faixa escolhida pelos respondentes da pesquisa quantitativa, entre 3 e 5% (v/v). Os resultados de pH e teor alcoólico encontram-se dentro do permitido por legislação, sendo o pH maior que 2,5 e inferior a 4,2, e o teor alcoólico acima de 0,5% (v/v). Em testes futuros, pode-se adicionar maior quantidade de açúcar, previamente à fermentação alcoólica, a fim de equilibrar o sabor ácido e permitir o alcance do teor alcoólico desejado, sem comprometer a sensorialidade. Essa opção, contudo, não pressupõe o atingimento do extrato zero, que seria uma concentração de açúcar final igual a zero, e para isso, pode-se utilizar uma kombucha base com pH mais elevado. O alcance do extrato zero garantiria maior estabilidade ao produto ao longo de sua vida útil, uma vez que não haveria refermentação na garrafa.

Tabela 8: Resultados das análises de densidade e teor alcoólico.

Etapa	Densidade Inicial (OG)	Densidade Final (FG)	Teor alcoólico obtido (v/v)
Produto Final	1032	998	4,4%

Fonte: A autora, 2021.

5.4 Análises Microbiológicas

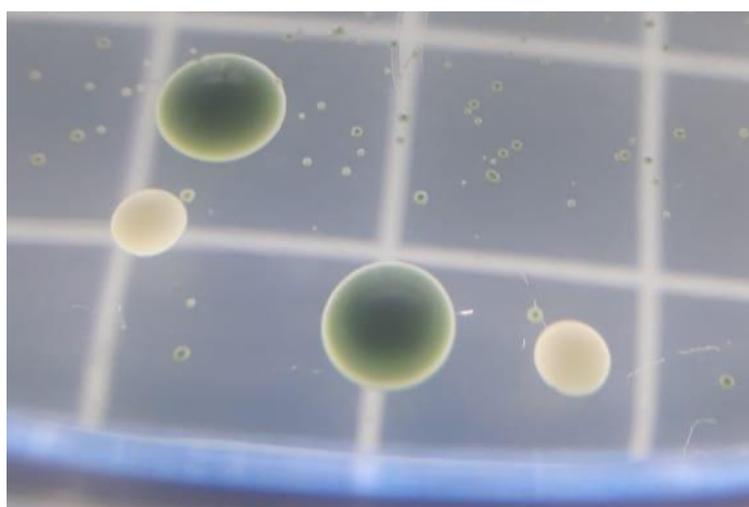
Os resultados das análises microbiológicas podem ser vistos na Tabela 9. Não houve crescimento de fungos filamentosos e coliformes nos meios de cultura. A análise da morfologia possibilitou a identificação de bactérias lácticas e leveduras. A morfologia das leveduras pode ser vista na Figura 23.

Tabela 9: Resultados das análises microbiológicas.

Etapa	Bactérias Lácticas (UFC/mL)	Leveduras (UFC/mL)
Saborização	1,23E+07	incontável
Início Fermentação Alcoólica	1,96E+07	3,20E+07
Final Fermentação Alcoólica	5,60E+07	1,03E+07
Produto Final	5,68E+07	3,40E+06

Fonte: A autora, 2021.

Figura 23: Morfologia das leveduras da *hard* kombucha.



Fonte: A autora, 2021.

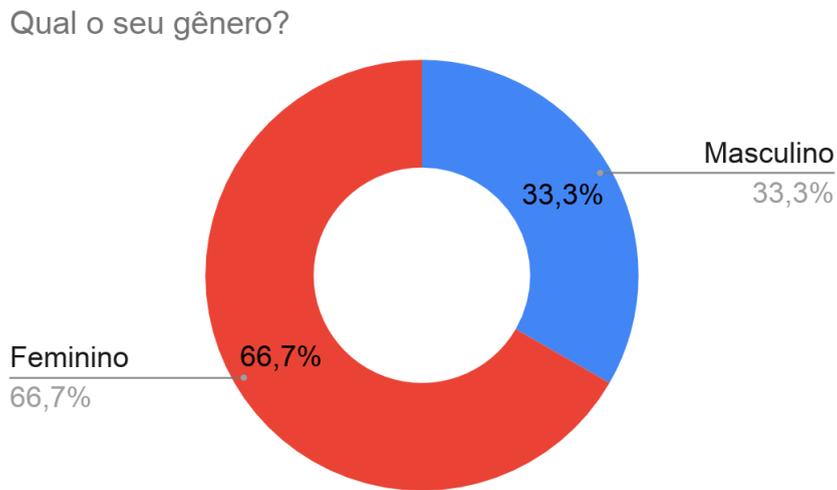
A diminuição do teor de leveduras ao longo do processo, que pode ser vista na Tabela 9, pode dever-se ao fato das leveduras decantarem para o fundo do fermentador, tanto durante a fermentação alcoólica quanto na etapa de maturação, sob temperatura de refrigeração (<5°C). Já o teor de bactérias lácticas não apresentou variação expressiva, pois as mesmas se mantêm em suspensão no líquido. Na Figura 23, pode-se inferir que a levedura de maior tamanho e coloração verde é a *S. bayanus* adicionada, pois o meio de cultura utilizado contém bromocresol, um corante verde que as leveduras do gênero *Saccharomyces spp.* não metabolizam (WHITE *et al.*, 2010). Já as leveduras de menor tamanho são as selvagens originais da kombucha base.

5.5 Teste de Mercado

A partir do resultado da pesquisa quantitativa, a *hard* kombucha foi apresentada aos provadores na embalagem garrafa de vidro de 330 mL, conforme a preferência dos respondentes. O teste de mercado foi realizado com um total de 30 provadores. Todos os provadores residem em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, local de elaboração deste estudo. A distribuição de gênero, faixa etária, escolaridade e renda familiar média podem ser vistas nas Figuras 24, 25, 26 e 27, nesta ordem.

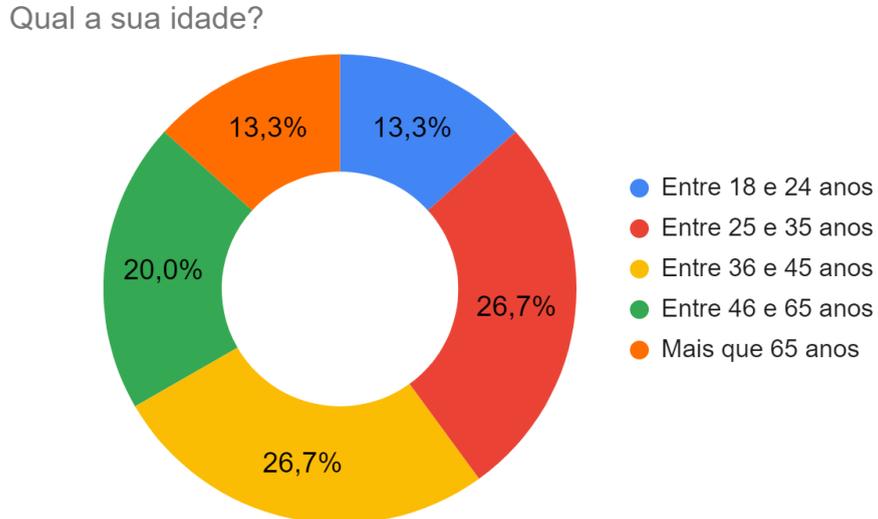
O gênero dos provadores se assimilou ao gênero dos respondentes da pesquisa quantitativa, sendo majoritariamente feminino (67%). A distribuição de faixa etária foi composta principalmente por jovens entre 25 e 35 anos e adultos entre 36 e 45 anos, ambos com 27%. O grau de escolaridade dos provadores é de 63% superior completo e 37% de ensino médio completo. Por fim, a renda média familiar divergiu em relação à pesquisa quantitativa, sendo majoritariamente composta pela classe B2, seguida pela B1, ambas totalizando 67% dos provadores.

Figura 24: Distribuição de gênero dos provadores.



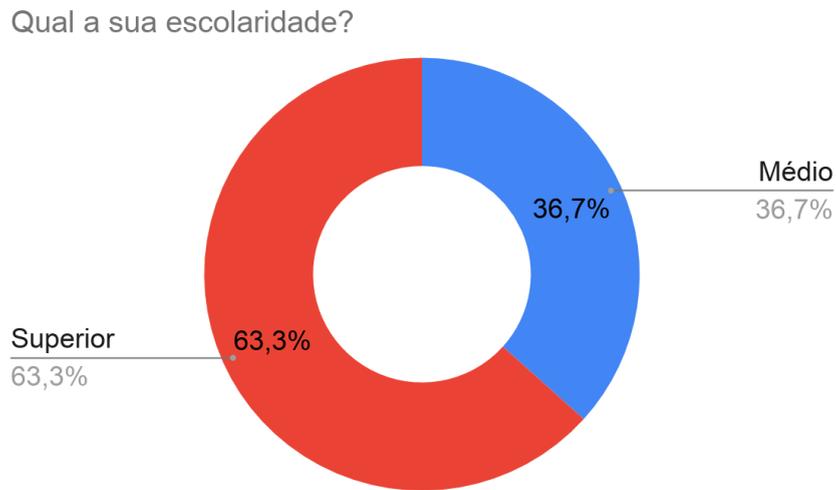
Fonte: A autora, 2021.

Figura 25: Distribuição de faixa etária dos provadores.



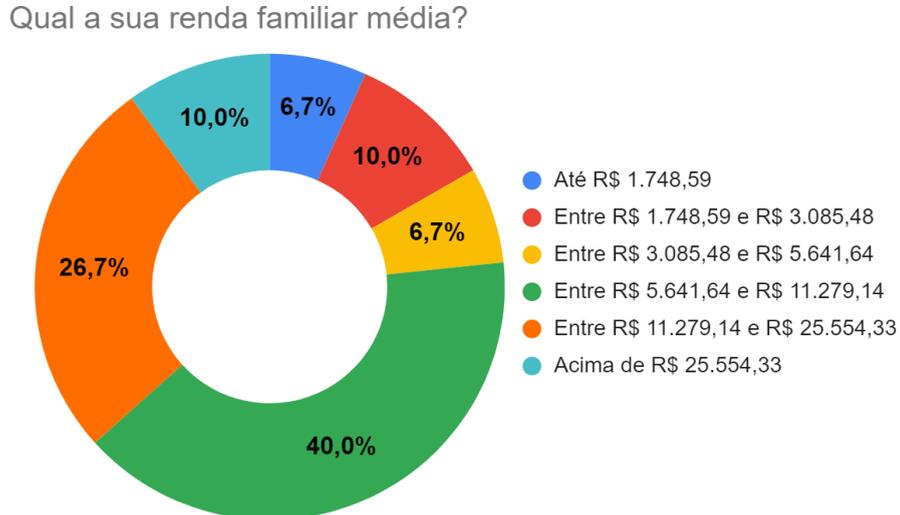
Fonte: A autora, 2021.

Figura 26: Distribuição de escolaridade dos provadores.



Fonte: A autora, 2021.

Figura 27: Distribuição de renda dos provadores.

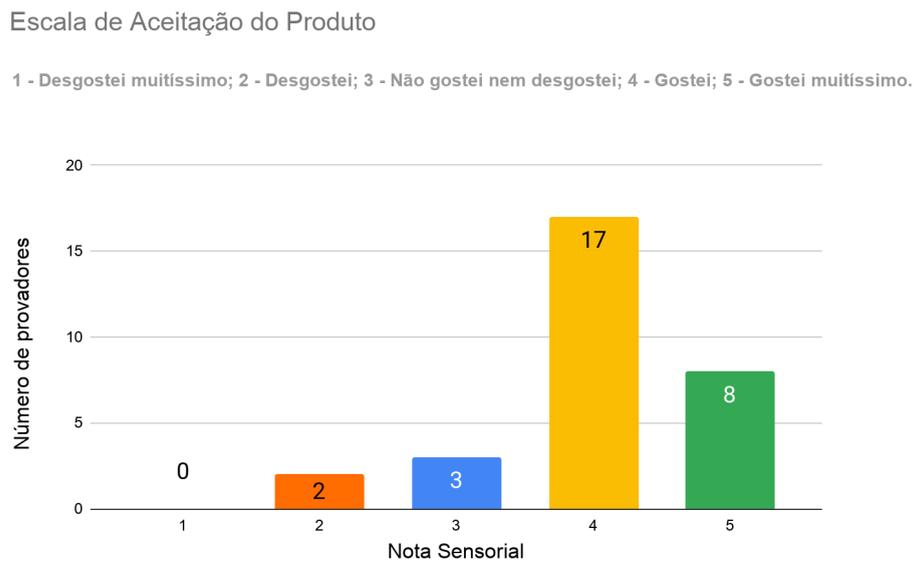


Fonte: A autora, 2021.

Após a degustação do produto, os provadores assinalaram o grau de aceitação em escala hedônica de 5 pontos (1 - Desgostei muitíssimo e 5 - Gostei muitíssimo). Conforme a Figura 28, o produto foi aceito sensorialmente, obtendo grau médio de 4,0, equivalente a “Gostei” e 80% de aceitação. Quanto à intenção de compra, 70% dos provadores

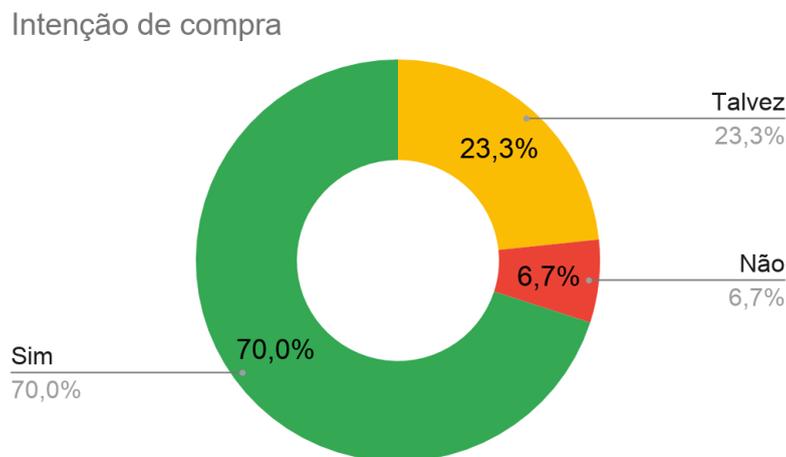
comprariam, 23% talvez comprariam e 7% não comprariam, como mostra a Figura 29. A mesma foi inferior à pesquisa quantitativa, que indicava 82% de intenção de compra somente pela descrição do produto. A degustação permite uma maior compreensão do produto e uma tomada de decisão com maior respaldo.

Figura 28: Escala de aceitação do produto *hard* kombucha sabor frutas vermelhas.



Fonte: A autora, 2021.

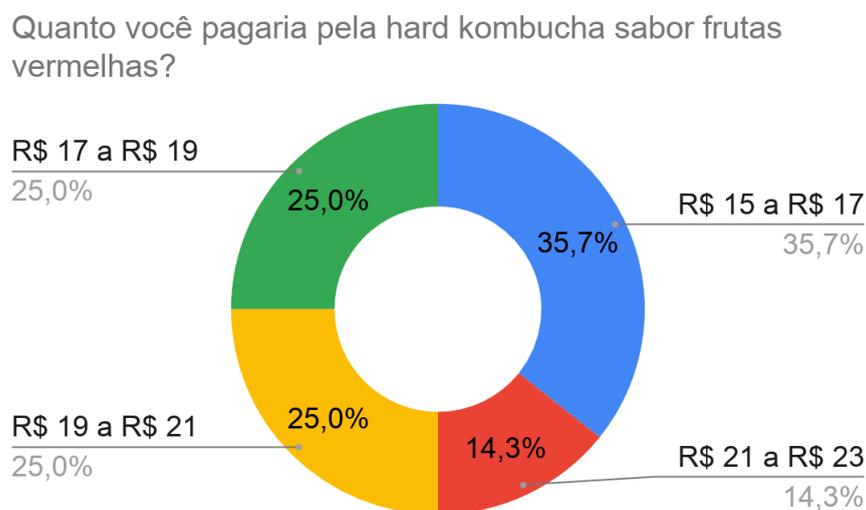
Figura 29: Intenção de compra do produto *hard* kombucha sabor frutas vermelhas.



Fonte: A autora, 2021.

A maioria dos provadores pagaria entre R\$ 15,00 a R\$ 17,00 pela kombucha alcoólica sabor frutas vermelhas (Figura 30). A distribuição das respostas divergiu em relação à pesquisa quantitativa. Nela, 51% dos respondentes pagariam entre R\$ 15,00 a R\$ 17,00, 31% entre R\$ 17,00 a R\$ 19,00 e 8% entre R\$ 19,00 a R\$ 21,00; em contrapartida, no teste de mercado essas parcelas equivalem a 36%, 25% e 25%, respectivamente. A degustação, portanto, aumentou a percepção de valor do produto.

Figura 30: Faixas de preço atribuídas ao produto *hard* kombucha sabor frutas vermelhas.

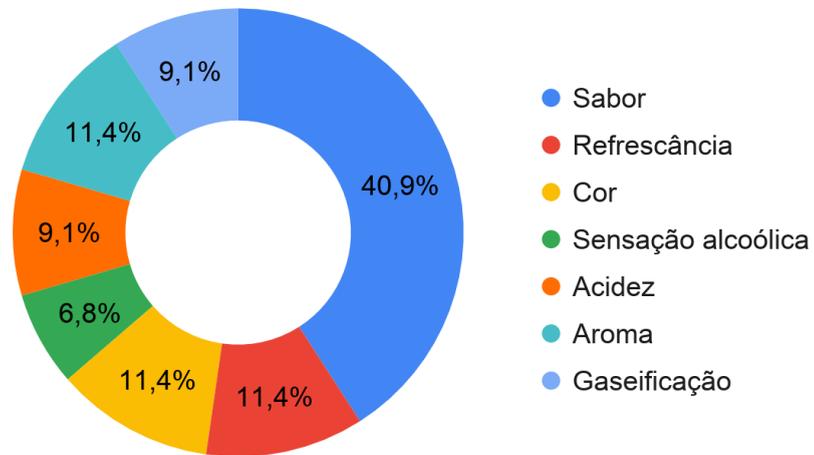


Fonte: A autora, 2021.

Por fim, o teste indagou o que os provadores gostaram e desgostaram ao degustar a *hard* kombucha, a fim de possibilitar melhorias ao protótipo. Dentre os atributos que agradaram os provadores (Figura 31), o fator sabor foi citado por 41%, seguido por refrescância (11%) e aroma (11%). Na pesquisa quantitativa, o sabor foi considerado o fator de maior influência no momento da compra, sendo de extrema importância para 86% dos respondentes. Já entre os atributos que desagradaram os provadores (Figura 32), os mais citados foram a falta de gaseificação (34%), pouco sabor de frutas vermelhas (29%) e acidez demasiada (11%).

Figura 31: Atributos que agradaram os provadores no teste de mercado.

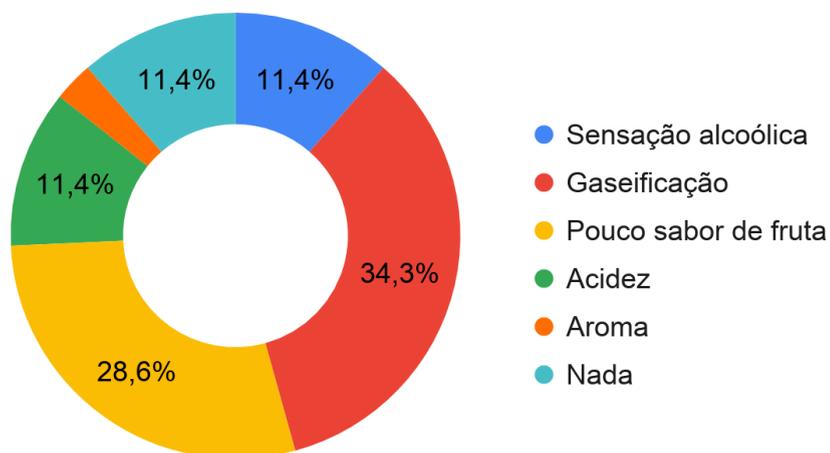
O que você gostou ao provar o produto?



Fonte: A autora, 2021.

Figura 32: Atributos que desagradaram os provadores no teste de mercado.

O que você desgostou ao provar o produto?



Fonte: A autora, 2021.

Dentre os pontos de melhoria do produto, pode-se considerar a carbonatação forçada, permitida pela legislação, como uma opção interessante tanto para sanar as críticas dos provadores quanto ao grau de gaseificação, como para diminuir em 17% o tempo de fabricação do produto. A sensação das frutas vermelhas variou conforme o provador, contudo

a maioria não sentiu o sabor das mesmas da forma esperada. Em testes futuros, pode-se adicionar as frutas ao final da fermentação alcoólica, a fim de trazer um sabor mais fresco das mesmas.

A percepção da acidez também variou conforme o provador, obtendo 9% de aceitação e 11% de rejeição; a sensação da mesma pode ser diminuída ao utilizar-se uma kombucha base menos ácida ou adicionando mais açúcar à fermentação alcoólica. A acidez elevada também foi verificada por Cardoso *et al.* (2021) ao elaborar cerveja tipo *sour* utilizando o consórcio de microrganismos da kombucha.

O desenvolvimento de uma kombucha alcoólica decorreu de acordo com os objetivos. O custo de produção desta categoria, conforme o apresentado neste estudo, é superior ao de uma kombucha tradicional. Isso se deve ao fato da *hard* kombucha apresentar maior tempo de produção, devido à fermentação adicional para formação de álcool e tempo elevado de gaseificação, além de ingrediente complementar, a levedura exógena. Como forma de diminuir o tempo de processamento, é possível realizar a gaseificação de forma forçada através de cilindro de gás carbônico puro. Perspectivas de continuidade deste trabalho seriam a fim de solucionar a acidez elevada, apontada pelos provadores, através da utilização de kombucha base de pH maior ou adicionando maior teor de açúcar. A adição de mais açúcar, contudo, poderia diminuir a vida útil do produto. Ademais, cabe-se avaliar a vida útil do produto, através do acompanhamento sensorial, microbiológico e de pressão na garrafa.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Hard kombucha é uma kombucha alcoólica, com teor alcoólico acima de 0,5% (v/v), conforme a IN 41/2019. Segundo o KBI (2021), a mesma é obtida através da adição de levedura exógena. O mercado desta categoria vem crescendo nos EUA e no mundo nos últimos anos, sendo uma alternativa de consumo a outras bebidas alcoólicas. No Brasil, o segmento ainda é pouco explorado e concentrado nas regiões Sul e Sudeste. O presente estudo desenvolveu uma kombucha alcoólica sabor frutas vermelhas através da adição da levedura *S. bayanus*.

Através da pesquisa quantitativa, pôde-se inferir que a inserção no mercado de kombucha alcoólica é uma alternativa às empresas produtoras de kombucha tradicional para ampliação de mercado, visto que 98% dos não consumidores da categoria demonstraram interesse na compra da versão alcoólica. A preferência dos respondentes por um teor alcoólico mais baixo vai ao encontro da tendência mundial da diminuição do consumo de álcool.

O produto foi desenvolvido conforme as preferências dos respondentes da pesquisa quantitativa. O processamento possibilitou a obtenção de uma kombucha alcoólica com 4,4% (v/v), 1,03°Brix e pH 3,20. Foram identificadas bactérias lácticas e leveduras no produto final. As bactérias e leveduras selvagens são provenientes do SCOBY utilizado na primeira fermentação, que originou a kombucha base para este estudo.

Os resultados do teste de mercado demonstram o potencial deste produto no mercado, visto o alcance de 80% de aceitação e 70% de intenção de compra. O fator de maior preferência dos provadores foi o sabor; sendo que o mesmo foi considerado de extrema importância por 86% dos respondentes da pesquisa quantitativa. Dessa forma, o produto foi aprovado no teste de mercado e pode ingressar no mercado.

REFERÊNCIAS

BETTANI, Silvia Raquel *et al.* Avaliação físico-química e sensorial de açúcares orgânicos e convencionais. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 16, n. 2, p. 155-162, 2014.

BOESCH, C.; Trcek, J.; Sievers, M.; Teuber, M. *Acetobacter itermedius*, sp. nov. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 21, p. 220-229, 1998.

BRASIL, Critério de Classificação Econômica. Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (APEB). 2019.

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.

CARDOSO, Marina Passos Soares *et al.* Desenvolvimento de duas formulações base de cerveja estilo sour empregando kefir e kombucha na fermentação. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 5616-5628, 2021.

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

CRUM, Hannah; LAGORY, A. **The Big Book of Kombucha**. 2016.

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

DUFRESNE, C.; FARNWORTH, E. Tea, Kombucha, and health: a review. **Food research international**, v. 33, n. 6, p. 409-421, 2000.

FORBES (2020). Disponível em: <https://www.forbes.com/sites/bridgetshirvell/2020/08/13/how-hard-kombucha-became-the-drink-of-2020/?sh=1f77f9ba550c>. Acesso em: 24 de março de 2021.

GIOVANNINI, Eduardo; MANFROI, Vitor. **Viticultura e enologia: elaboração de grandes vinhos nos terroirs brasileiros**. IFRS, 2009.

GREENWALT, C. J.; STEINKRAUS, K. H.; LEDFORD, R. A. Kombucha, the fermented tea: microbiology, composition, and claimed health effects. **Journal of food protection**, v. 63, n. 7, p. 976-981, 2000.

GOH, W. N. *et al.* Fermentation of black tea broth (Kombucha): I. Effects of sucrose concentration and fermentation time on the yield of microbial cellulose. **International Food Research Journal**, v. 19, n. 1, p. 109, 2012.

IBRAVIN. PENSE FORA DA GARRAFA: Tendências Mundiais para 2019. 2019. Disponível em <<https://www.ibravin.org.br/informativo-vitivinicola-brasileiro>> Acesso em: 22 de abril de 2021.

IHSANI, Nisa; HERNAHADINI, Nelis; FAUZI, Muhammad. The variation of ethanol concentration and kombucha characterization on several incubation periods. In: **Journal of Physics: Conference Series**. IOP Publishing, 2021. p. 012008.

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

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

JAYABALAN, R.; MARIMUTHU, S.; SWAMINATHAN, K. Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. **Food Chemistry**, v. 102, n. 1, p. 392-398, 2007.

KOMBUCHA BREWERS INTERNACIONAL (2021). Disponível em: <https://kombuchabrewers.org/>. Acesso em 11 de março de 2021.

MALBASA, R. V. *et al.* The Influence of Starter Cultures on the Content of Vitamin B~ 2 in Tea Fungus Beverages. **Central European Journal of Occupational and Environmental Medicine**, v. 10, n. 1, p. 79-83, 2004.

MARKET WATCH (2020). Disponível em: <https://www.marketwatchmag.com/kombucha-on-the-rise/>. Acesso em: 21 de março de 2021.

NEFFE-SKOCINSKA, K., Sionek, B., Scibisz, I., Kolozyn-Krajewska, D. Acid contents 289 and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, 290 microbiological and sensory properties. **Journal of Food**, v.15, n. 4, p. 601-607, 2017.

O'DONNELL, Michelle M. *et al.* Lactobacillus ruminis strains cluster according to their mammalian gut source. **BMC microbiology**, v. 15, n. 1, p. 1-20, 2015.

REISS, Jürgen. Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung**, v. 198, n. 3, p. 258-261, 1994.

ROUSSIN, M. R. 1996. Analyses of Kombucha ferments: report on growers. **Information Resources**, LC, Salt Lake City, Utah.

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

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

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

TALEBI, Mohsen *et al.* Examination of the varied and changing ethanol content of commercial Kombucha products. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 12, p. 4062-4067, 2017.

TYAGI, Neha; SURESH, Sumathi. Production of cellulose from sugarcane molasses using *Gluconacetobacter intermedius* SNT-1: optimization & characterization. **Journal of Cleaner Production**, v. 112, p. 71-80, 2016.

VEJA (2020). Disponível em: <https://veja.abril.com.br/insights-list/insight-3/>. Acesso em: 25 de abril de 2021.

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

WHITE, Chris; ZAINASHEFF, Jamil. **Yeast: the practical guide to beer fermentation**. Brewers Publications, 2010.