

# **Inovação com produtos endógenos: bebidas fermentadas de cereja e marmelo**

**Rodrigo José Cardoso Paulo Rato**

Relatório de Estágio curricular para obtenção do Grau de Mestre em  
**Biotechnologia**  
(2º ciclo de estudos)

Orientador: Eng.<sup>a</sup> Cátia Marlisa Leitão Baptista

Co-orientadores: Eng<sup>o</sup> Mário Cristovão  
Prof. Doutor António José Geraldês de Mendonça

**junho de 2024**



## **Declaração de Integridade**

Eu, Rodrigo José Cardoso Paulo Rato, que abaixo assino, estudante com número de inscrição M12571 de Biotecnologia da Faculdade de Ciências, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridade da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, e que em particular atendi à exigida referência de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assim assumo na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 11/06/2024

Rodrigo José Cardoso Paulo Rato



# Agradecimentos

Em primeiro lugar, ao Centro Tecnológico Agro Alimentar de Castelo Branco pela oportunidade que me deu.

Um enorme obrigado ao Mário Cristovão por toda a disponibilidade, dedicação e sobretudo paciência demonstrada ao longo destes meses, assim como pela compreensão, confiança e por todo o conhecimento transmitido. À Cátia Batista por toda a simpatia e compreensão desde o primeiro dia.

Aos meus avós por toda a ternura, ajuda e conselhos que me deram ao longo de todas as etapas da minha vida.

À minha namorada Gisela, por ter sido o meu principal suporte nesta etapa e por todo o carinho, ajuda e paciência que teve comigo, mesmo às vezes não sendo fácil, sem ti não tinha conseguido.

À minha irmã Carolina, por todas as brincadeiras e momentos de descontração ao longo destes meses, mas sobretudo por todo o carinho e apoio que me deu, mesmo às vezes estando longe.

Por último, aos meus ídolos, pai e mãe, um enorme obrigada, por todo o carinho, dedicação e sacrifício que fizeram para me proporcionarem concluir mais uma etapa e por nunca duvidarem de mim. A pessoa que me tornei, devo-o a vocês.



## **Resumo**

Atualmente, a kombucha é uma bebida que tem ganho popularidade e apresenta um grande potencial de crescimento no mercado das bebidas saudáveis devido a ser um produto fermentado. Este trabalho tem como objetivo desenvolver uma kombucha que apenas utilize sumo de fruta na segunda fermentação, utilizando dois frutos: marmelo e cereja. Esta escolha deve-se ao facto de serem produtos endógenos e sazonais que apresentam quebras na sua cadeia devido a sua alta perecibilidade, sendo assim possível utilizar os frutos sem valor comercial (baixos calibres e com defeito). As duas bebidas apresentaram um título alcoométrico adquirido abaixo de 0,5% sendo considerada uma bebida não alcoólica. Nutricionalmente as kombuchas desenvolvidas apresentam um valor de fibra bruta relativamente elevado para uma bebida, a kombucha de cereja com 0,79g/100Kcal e a de marmelo 2,10g/100kcal, sendo a última considerada um produto “fonte de fibra”. Quando quantificados os açúcares presentes, antes e pós segunda fermentação em ambos os casos foi possível aferir uma perda de sacarose e o aumento de frutose e glucose. Todas as kombuchas apresentaram um resultado em prova sensorial acima do limite de aceitação.

## **Palavras-chave**

Kombucha; Marmelo; Cereja; Análise Sensorial



## **Abstract**

Kombucha as a drink is gaining popularity and exhibits substantial growth potential within the healthy beverages market due to be a fermented product. This work aims on developing a kombucha that solely uses fruit juice during the second fermentation, specifically utilizing quince and cherry. These fruits were selected because they are endogenous and seasonal, and their high perishability, which often results in losses in the food chain due to their high perishability, thus allowing the use of non-commercial grade fruits (smaller or defective). The resulting beverages demonstrated an alcohol content below 0,5 % classifying them as non-alcoholic. Nutritional analysis revealed that the kombuchas developed have a relatively high crude fibre value for a beverage, with cherry kombucha containing 0,79g/100Kcal and the quince kombucha with 2,10g/100Kcal, the latter considered a “source of fibre’ product. Sugars analysis indicated a reduction in sucrose and increase in fructose and glucose levels when compared before and after the second fermentation. Sensory evaluation showed that all kombuchas exceeded the acceptance threshold.

## **Keywords**

Kombucha; Quince; Cherry; Sensory evaluation



# Índice

<b>1. Introdução .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Enquadramento Teórico .....</b>	<b>5</b>
2.1. Marmelo .....	5
2.1.1 Origem.....	5
2.1.2 Morfologia.....	5
2.1.3 Cultivares .....	6
2.1.4 Produção e mercado comercial .....	6
2.1.5 Consumo .....	7
2.1.6 Tendências .....	8
2.2 Cereja.....	9
2.2.1 Origem.....	9
2.2.2 Morfologia.....	9
2.2.3 Cultivares .....	10
2.2.4 Produção e mercado comercial .....	10
2.2.5 Consumo .....	11
2.2.6 Tendências .....	12
2.3 Kombucha .....	13
2.3.1 Origem.....	13
2.3.2 Produção .....	13
2.3.3 SCOBY .....	13
2.3.4 Composição química e nutricional.....	14
2.3.5 Composição microbiológica.....	14
2.3.6 Consumo .....	15
2.3.7 Efeitos na saúde.....	15
2.4 Análise Sensorial .....	17
2.4.1 Definição .....	17
2.4.2 Testes sensoriais.....	17
2.4.3 Importância no desenvolvimento de novos produtos .....	18
<b>3 Objetivos .....</b>	<b>21</b>
<b>4 Material e Métodos .....</b>	<b>21</b>
4.1 Processamento da fruta.....	21
4.2 Preparação da kombucha.....	22
4.2.1 Esterilização do material .....	22
4.2.2 Fermentação .....	22
4.3 Determinações Físico-químicas .....	26

4.3.1	Determinação do pH .....	26
4.3.2	Sólidos solúveis totais .....	27
4.3.3	Teor alcoólico em volume .....	27
4.4	Parâmetros nutricionais.....	27
4.4.1	Fibra .....	27
4.4.2	Determinação do teor de açúcares .....	28
4.4.3	Determinação do teor de proteína .....	28
4.4.4	Determinação do teor de humidade.....	28
4.4.5	Determinação do teor de cinzas .....	28
4.4.6	Determinação do teor de gordura .....	29
4.4.7	Determinação dos hidratos de carbono .....	29
4.4.8	Valor energético.....	29
4.5	Análise sensorial.....	31
4.5.1	Prova sensorial .....	31
4.5.2	Preparação de amostras.....	31
4.6	Análise estatística .....	32
<b>5</b>	<b>Resultados e discussão .....</b>	<b>33</b>
5.1	Determinação do pH .....	33
5.2	Sólidos solúveis totais .....	34
5.3	Teor alcoólico em volume .....	35
5.4	Parâmetros nutricionais.....	36
5.41	Fibra .....	36
5.42	Determinação do teor de açucares .....	36
5.43	Composição nutricional .....	37
5.5	Análise sensorial.....	39
<b>6</b>	<b>Conclusão .....</b>	<b>43</b>
	<b>Bibliografia .....</b>	<b>45</b>
	<b>Anexos .....</b>	<b>55</b>
	Anexo I- Questionário Prova sensorial de kombucha .....	55





# Lista de Figuras

Figura 1- Indicador de esterilização .....	22
Figura 2- Esterilização do material .....	22
Figura 3- Preparação do chá.....	23
Figura 4- Câmara de fluxo laminar .....	23
Figura 5- SCOBY .....	24
Figura 6- Kombucha .....	25
Figura 7- Kombucha no fim da 1 <sup>a</sup> fermentação .....	25
Figura 8- Kombucha de cereja, marmelo e controlo .....	26
Figura 9- Prova sensorial.....	31
Figura 10- Preparação das amostras.....	32
Figura 11- Evolução dos valores de pH da primeira fermentação da kombucha ao longo de 6 dias (144 horas) .....	33
Figura 12- Valores de TAV nas diferentes kombuchas .....	35
Figura 13- Análise sensorial hedónica comparativa das diferentes kombuchas .....	39
Figura 14- Intenção de compra nas diferentes kombuchas.....	40



## Lista de Tabelas

Tabela 1- Produção mundial de marmelo em 2022, adaptado do FAOSTAT, 2024. ....	7
Tabela 2- Produção nacional de marmelo em 2022, adaptado do INE, 2024. ....	7
Tabela 3- Produção mundial de cereja em 2022, adaptado da FAOSTAT, em 2024. ....	10
Tabela 4- Produção nacional de cereja em 2022, (INE, 2024). ....	11
Tabela 5- Valores de SST comparativos entre os sumos e kombucha. ....	34
Tabela 6- Tabela comparativa de açucares pré e pós fermentação anaeróbia (48 horas). ..	36
Tabela 7- Composição nutricional das kombuchas de marmelo e cereja. ....	37
Tabela 8- Comparação dos diferentes parâmetros avaliados .....	40



# Lista de Acrónimos e Abreviaturas

A. M. – Análise Microbiológica  
AC – Ácido Cítrico  
ADQ – Análise Descritiva Quantitativa  
AF – Análise Físico-química  
AOAC – Association of Official Analytical Chemists  
ATP – Adenosina Trifosfato  
CATAA – Centro de Apoio Tecnológico Agro Alimentar  
CFU – Colony Forming Units  
CMC – Carboximetilcelulose  
CV – Coeficiente de Variação  
DNA – Ácido Desoxirribonucleico  
EU – União Europeia  
FAO – Food and Agriculture Organization  
FB- Fibra bruta  
FDA – Food and Drug Administration  
GC – Cromatografia Gasosa  
HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência  
IGP- Indicação Geográfica Protegida  
INE- Instituto Nacional de Estatística  
KPI – Key Performance Indicator  
LCA – Life Cycle Assessment  
LQ- Limite de quantificação  
LSD – Least Significant Difference  
MS – Espectrometria de Massas  
NGS – Next-Generation Sequencing  
NMR – Ressonância Magnética Nuclear  
PCR – Reação em Cadeia da Polimerase  
RSD – Desvio Padrão Relativo  
SCOBY- Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast  
SD – Desvio Padrão  
SPSS – Statistical Package for the Social Sciences  
SST- Sólidos Solúveis Totais

TAV- Teor alcoólico em volume

TBA – Ácido Tiobarbitúrico

TCA – Ácido Tricloroacético

UF – Ultrafiltração

UV – Ultravioleta

WHO –World Health Organization





# 1. Introdução

O presente relatório resulta do estágio curricular do Mestrado em Biotecnologia na Universidade da Beira Interior, tendo em vista a obtenção do grau de mestre. O estágio foi realizado no Laboratório de Análise Sensorial e numa das unidades piloto no Centro de Apoio Tecnológico Agro Alimentar (CATAA), em Castelo Branco, sob orientação da Engenheira Cátia Baptista, entre os meses de setembro de 2023 e junho de 2024.

O CATAA – Centro de Apoio Tecnológico Agro Alimentar assume-se como um centro de excelência, a nível nacional e transfronteiriço, no apoio tecnológico ao sector agroalimentar, na promoção da investigação e no desenvolvimento e inovação em áreas de intervenção alinhadas com as prioridades das empresas. Oferece suporte tecnológico, desenvolvimento e inovação para o setor agroalimentar, contando com três laboratórios (Microbiologia, Físico-química e Análise Sensorial) e quatro unidades piloto (Lácteos, Carnes e Pescado, Azeites e Hortofrutícolas).

O estágio centrou-se no desenvolvimento de um produto à base de cereja e marmelo e, posteriormente, avaliação sensorial e aceitação destes produtos com recurso a um painel de consumidores.

A realização deste estágio teve como objetivo proporcionar uma experiência em contexto profissional e abordar os conceitos e metodologias da análise sensorial e a sua aplicação direta na indústria alimentar permitindo adquirir, aprofundar e aplicar competências teóricas e práticas relacionadas com a área da Biotecnologia. De forma paralela, pretende-se desenvolver capacidades de comunicação, competências na pesquisa de informação científica, realizar as tarefas propostas com autonomia, trabalhar em grupo, desenvolver a capacidade de adaptação a novas situações e garantir a preocupação na qualidade do trabalho a desenvolver.

Este relatório de estágio encontra-se dividido em seis partes. A primeira parte foca-se na caracterização da empresa e nas atividades desenvolvidas nos departamentos onde se desenvolveu o trabalho prático. A segunda visa o enquadramento teórico, onde são abordados conceitos importantes para desenvolver a parte prática, a terceira parte consiste na apresentação dos objetivos definidos para a realização do estágio. A quarta parte tem

como foco o desenvolvimento e execução dos respetivos objetivos propostos, na quinta parte são analisados e discutidos os resultados obtidos. Por fim, a última parte é destinada a uma breve conclusão sobre todo o trabalho desenvolvido.





## **2. Enquadramento Teórico**

### **2.1. Marmelo**

#### **2.1.1 Origem**

O marmelo (*Cydonia oblonga* Mill.) pertence à família *Rosaceae*, subfamília *Pomoideae* e tem sido cultivado há mais de 4000 anos. É originário do sudoeste da Europa, da Transcaucásia e na Ásia menor e pode ser encontrado no Médio Oriente, Europa Central, Norte do Cáucaso e África Sul (Daneshvand et al., 2012). Nos últimos anos, o marmelo ganhou uma importância económica considerável e foi utilizado em diferentes domínios, para fins farmacêuticos, cosméticos, aplicações alimentares e agrícolas (Al-Zughbi & Krayem, 2022).

#### **2.1.2 Morfologia**

O marmeleiro é uma árvore de folha caduca que cresce até 5-8 m de altura com ramos apinhados de folhas lisas na parte superior e na parte inferior as folhas apresentam uma pelagem característica (Sharma Yashwant Singh Parmar et al., 2011). A árvore pode viver mais de 50 anos em produção (Al-Zughbi & Krayem, 2022). O marmeleiro tem uma grande capacidade de resistir a eventos de climáticos extremos, sendo resiliente a solos inundados e tolerante à seca (Bolat et al., 2014). O crescimento ótimo da árvore é a uma temperatura média de 15°C, com grande tolerância ao frio é resistente a temperaturas baixas (Sharma Yashwant Singh Parmar et al., 2011). O marmelo requer 20°C para realizar o processo de maturação adequado, sendo colhido normalmente durante outubro-novembro (Al-Zughbi & Krayem, 2022). A colheita começa quando o fruto muda de cor, passando de verde-escuro para verde-claro, está revestido com uma camada de pelos que desaparecem progressivamente durante a maturação, tornando-se num fruto amarelo-dourado que se assemelha à maçã e à pera (Al-Zughbi & Krayem, 2022). O marmelo geralmente atinge um diâmetro de 3 a 5 cm (Najman et al., 2023) e o peso médio do fruto é de aproximadamente 386 g, sendo constituído por 90,6% de polpa, mesocarpo (cerca de 350 g), 4,4% de casca, exocarpo (cerca de 17 g) e 5% de caroço, endocarpo, (aproximadamente 19 g) (Sharma Yashwant Singh Parmar et al., 2011). Esta fruta é subutilizada ao nível do processamento de alimentos devido aos seus atributos sensoriais e à limitada apreciação do seu benefício para os consumidores (Al-Zughbi & Krayem, 2022), uma vez que apesar de serem extremamente aromáticos, devido à sua alta dureza e sabor ácido, adstringente e amargo, não são adequados para consumo direto. No entanto, são uma matéria-prima importante no

processamento de frutas, por exemplo, na produção de geleias e sumos (Najman et al., 2023).

### **2.1.3 Cultivares**

Com base na fisionomia do fruto, existem duas variedades de marmelo, *Cydonia oblonga* sub sp. Maliformis e Polyformis em forma de maçã e pera, respetivamente. A subespécie Maliformis contém uma polpa mais dura e um sabor mais adstringente relativamente à subespécie polyformis (Ashraf et al., 2016).

Em Portugal, foram identificadas quatro cultivares de marmelo: Champion, Gigante de Vranja, Gamboa e De Portugal (também conhecida como Portugal) (Regato et al., 2017). A variedade Champion produz frutos de grande calibre e de boa qualidade, a polpa é amarela e macia, enquanto a Gigante de Vranja, ou simplesmente Vranja, é uma cultivar muito produtiva, com frutos piriformes grandes, verde-claros a amarelos, a polpa é perfumada e de boa qualidade, em relação à cultivar Gamboa, esta variedade provém de Portugal e produz frutos em forma de pera, muito doces, com epiderme amarelo-vivo e polpa branca (Viveiros e Centro de Jardinagem, 2024), variedade Portugal apresenta a epiderme com cor amarelo-limão, consistente, pouco adocicado e algo adstringente (Regato et al., 2017).

### **2.1.4 Produção e mercado comercial**

Em 2022, de acordo com a Food and Agriculture Organization (FAO), a produção mundial de marmelo foi de 702 015 toneladas (t), distribuídas por uma área de 75 532 hectares (ha) (FAOSTAT, 2024). Em 2022, o continente asiático foi o principal produtor de marmelo, sendo a Turquia o maior país produtor, com 197 503 t, seguido da China e do Uzbequistão com 110 559 e 90 871 t, respetivamente (Tabela 1) (FAOSTAT, 2024).

Tabela 1- Produção mundial de marmelo em 2022, adaptado do FAOSTAT, 2024.

País	Produção (t)	Área (ha)	Produtividade (hg/ha)
<b>Turquia</b>	197 503	8 065	<b>244 889</b>
<b>China</b>	110 559	33 056	<b>33 446</b>
<b>Uzbequistão</b>	90 871	4 044	<b>224 706</b>
<b>Irão</b>	90 160	8 441	<b>106 812</b>
<b>Marrocos</b>	50 688	3 068	<b>165 215</b>
<b>Azerbaijão</b>	42 942	4 414	<b>97 286</b>
<b>Mundo</b>	<b>702 015</b>	<b>75 532</b>	<b>92 943</b>

Relativamente às trocas comerciais, a Turquia é o país que mais exporta com 19 860 t, seguido dos Países Baixos, Grécia e Áustria. Em relação às importações, a Rússia é o país que mais importa com 7 562 t, seguido da Áustria, Roménia e Alemanha em 2022 (FAOSTAT, 2024).

De acordo com o Instituto Nacional de Estatística (INE), em 2022, Portugal produziu 9 521 t de marmelo, das quais 7 934 t foram produzidas na região centro do país, numa área de 1 471 ha (INE, 2024) (Tabela 2).

Tabela 2- Produção nacional de marmelo em 2022, adaptado do INE, 2024.

Regiões	Produção (t)	Área (ha)	Produtividade (hg/ha)
<b>Norte</b>	995	172	<b>57 849</b>
<b>Centro</b>	7 934	1 206	<b>65 788</b>
<b>Área Metropolitana Lisboa</b>	31	3	<b>103 333</b>
<b>Alentejo</b>	384	71	<b>54 085</b>
<b>Algarve</b>	177	18	<b>98 333</b>
<b>Açores</b>	0	0	<b>0</b>
<b>Madeira</b>	0	0	<b>0</b>
<b>Portugal</b>	<b>9 521</b>	<b>1 471</b>	<b>64 725</b>

### 2.1.5 Consumo

O marmelo é uma fruta tradicionalmente consumida em Portugal, na época do outono, no entanto, não é consumido em cru. É usado de diferentes maneiras, como um subproduto (pectina) e na indústria alimentar (confeção de marmelada, geleia e licores) (Güney et al.,

2019). O marmelo é abundante em compostos fenólicos e ácidos orgânicos, é rico em ácido ascórbico (vitamina C), fibras e minerais, destacando-se o potássio, cálcio e fósforo (Legua et al., 2013). Além de apresentar elevado teor de água, exibe baixo teor calórico, é pobre em proteína e gordura. O consumo do marmelo confere benefícios à saúde devido às suas características nutricionais e apresenta propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas, anti ulcerativas, dermatites atópicas e anti carcinogênicas (Zhang et al., 2019; Veloso et al., 2020)..

### **2.1.6 Tendências**

Devido ao crescente interesse por alimentos de origem natural e com valiosas propriedades nutricionais e ao elevado potencial terapêutico, o marmelo tem vindo a ganhar cada vez mais popularidade entre os produtores e consumidores de alimentos (Najman et al., 2023). As partes inteiras do fruto constituem uma importante fonte de compostos químicos que podem substituir os medicamentos, pesticidas, produtos de higiene, aditivos químicos e fortificantes. Além disso, a integração de novos produtos de marmelo, tais como sumos e molhos, poderiam ser uma excelente opção para o processamento deste fruto em substituição de produtos tradicionais como a compota (Al-Zughbi & Krayem, 2022). Por outro lado, a resistência dos microrganismos aos antibióticos é uma questão emergente. Vários estudos indicam que o marmelo é rico em agentes microbiostáticos e pode ser a escolha para o isolamento de novos fitoquímicos na introdução de novos medicamentos (Ashraf et al., 2016). Adicionalmente, o trabalho futuro neste fruto poderá passar pelo desenvolvimento de um novo produto para venda, como o melaço de marmelo, o chá de marmelo ou cápsulas de marmelo para mulheres grávidas, com o objetivo de reduzir os sintomas da Neviparina (Al-Zughbi & Krayem, 2022). Além disso, a melhoria dos atuais produtos de marmelada do ponto de vista da transformação e da indústria e a integração deste fruto noutros produtos alimentares poderiam abrir novos procedimentos para utilizações deste fruto relacionadas com a saúde, como o desenvolvimento de alimentos e bebidas funcionais à base de marmelo (Al-Zughbi & Krayem, 2022).

## **2.2 Cereja**

### **2.2.1 Origem**

A cereja pertence ao género *Prunus*, é uma planta da família Rosaceae e apresenta uma longa história de cultivo de há mais de 2000 anos, embora existam mais de 30 espécies de cerejas cultivadas em todo o mundo, apenas dois tipos têm sido amplamente utilizados, incluindo as cerejas ácidas (*Prunus cerasus L.*) e as cerejas doces (*Prunus avium L.*) ((Eslami et al., 2022). A propagação e o cultivo da cerejeira começaram no século XVIII (Blando & Oomah, 2019) sendo originárias da Europa e da Ásia Ocidental e são atualmente cultivadas em todo o mundo (Chockchaisawasdee et al., 2016).

### **2.2.2 Morfologia**

Morfologicamente, a cerejeira pode atingir uma altura de 15-32 m (Chezanoglou et al., 2024), o peso médio dos frutos pode variar de 6 a 15 g e pode atingir um tamanho de até 3,4 cm de diâmetro (Blando & Oomah, 2019). A cerejeira é uma árvore de folha caduca, com um período de crescimento rápido de 4-9 semanas e um curto período de vida de 7-10 dias (Hussain et al., 2022). As características morfológicas do fruto dependem da variedade, da maturação, do armazenamento, das práticas agrícolas e das condições ambientais (Blando & Oomah, 2019). Os fatores mais importantes que afetam a estabilidade das cerejas no período pós-colheita são a temperatura e a humidade relativa (Chezanoglou et al., 2024). A temperatura recomendada para a colheita é de 10 a 20 °C, enquanto o armazenamento efetua-se a uma temperatura de 0 °C (Chockchaisawasdee et al., 2016). A cereja é um fruto com grandes variações dependendo da cultivar, mas em todas a constituição consiste no exocarpo (casca), mesocarpo (parte comestível) e endocarpo lenhificado (sementes) (Vignati et al., 2022). É uma das frutas mais valorizadas em todo o mundo, principalmente pelas características organolépticas, a doçura e cor vermelha brilhante (Chezanoglou et al., 2024). Além disso, apresentam diversos efeitos benéficos na saúde humana, tais como, a prevenção de problemas cardiovasculares, cancro e doenças associadas ao stress oxidativo (Chezanoglou et al., 2024). São uma matéria-prima importante na produção de diversos produtos como sumos concentrados, compotas, geleias, produtos secos ou bebidas alcoólicas (Chockchaisawasdee et al., 2016).

### 2.2.3 Cultivares

Existem centenas de cultivares comerciais de cereja, mas geralmente uma predomina num determinado país ou região (Chockchaisawasdee et al., 2016). As cultivares mais difundidas de cereja são “Alex”, “Attika”, “Bing”, “Brooks”, “Burlat”, “Chelan”, “Hedelfingen”, “Kordia”, “Lambert”, “Lapins”, “Rainier”, “Regina”, “Skeena”, “Sonata”, “Staccato”, “Stella”, “Sweetheart”, “Techlovan”, “Tulare” e “Van” (Schuster, 2012). Em Portugal, a cereja é produzida no Nordeste do país, nomeadamente na região da Beira Interior, onde esta fruta é mais cultivada. Em particular, a cereja “Cova da Beira” tem registo de Indicação Geográfica Protegida (IGP) de acordo com os regulamentos da EU (Serra et al., 2011). No entanto, a criação de novas cultivares de cereja com melhores características de pré e pós-colheita estão constantemente a ser ativamente investigadas (Chockchaisawasdee et al., 2016).

### 2.2.4 Produção e mercado comercial

Em 2022, de acordo com a FAO, a produção mundial de cereja foi de 2 765 827 toneladas (t), distribuídas por uma área de 454 644 há (FAOSTAT, 2024). Em 2022, o continente asiático foi o principal produtor de cereja, sendo a Turquia o maior país produtor, com 656 041 t, seguido do Chile e do Uzbequistão com 443 067 e 216 867 t, respetivamente (Tabela 3) (FAOSTAT, 2024).

Tabela 3- Produção mundial de cereja em 2022, adaptado da FAOSTAT, em 2024.

<b>País</b>	<b>Produção (t)</b>	<b>Área (ha)</b>	<b>Produtividade (hg/ha)</b>
<b>Turquia</b>	656 041	80 482	<b>81 514</b>
<b>Chile</b>	443 067	61 559	<b>71 974</b>
<b>Uzbequistão</b>	216 867	15 241	<b>142 292</b>
<b>Estados Unidos da América</b>	210 190	34 196	<b>61 466</b>
<b>Espanha</b>	116 070	29 310	<b>39 601</b>
<b>Itália</b>	107 910	28 610	<b>37 718</b>
<b>Mundo</b>	<b>2 765 827</b>	<b>454 644</b>	<b>60 835</b>

Relativamente às trocas comerciais, o Chile é o país que mais exporta com 396 525 t, seguido da China, Turquia e Estados Unidos da América. Em relação às importações, a China é o país que mais importa com 366 944 t, seguido de Hong Kong, Rússia e Alemanha, em 2022 (FAOSTAT, 2024). De acordo com o INE (2024), em 2022, Portugal produziu 24 678 t de cereja das quais, 13 052 t foram produzidas na região centro do país, numa área de 6 279 ha

(Tabela 4).

Tabela 4- Produção nacional de cereja em 2022, (INE, 2024).

<b>Regiões</b>	<b>Produção (t)</b>	<b>Área (ha)</b>	<b>Produtividade (hg/ha)</b>
<b>Norte</b>	11 384	2 960	<b>38 459</b>
<b>Centro</b>	13 052	3 200	<b>40 788</b>
<b>Área Metropolitana Lisboa</b>	6	11	<b>5 455</b>
<b>Alentejo</b>	151	71	<b>21 268</b>
<b>Algarve</b>	10	6	<b>16 667</b>
<b>Açores</b>	0	0	<b>0</b>
<b>Madeira</b>	75	31	<b>24 194</b>
<b>Portugal</b>	<b>24 678</b>	<b>6 279</b>	<b>39 302</b>

### 2.2.5 Consumo

A cereja é uma fruta sazonal tradicionalmente consumida em Portugal no final da primavera e no início do verão, por conseguinte, são muito apreciadas pelos consumidores e, em alguns países, são mesmo vistas como um fruto de luxo devido aos preços elevados (Blando & Oomah, 2019). A doçura e a acidez são indicadores importantes para o consumidor e refletem a qualidade e o sabor dos frutos (Ballistreri et al., 2013). A cereja é caracterizada por um nível reduzido de calorias, elevados níveis de água e ausência de sódio (Chezanoglou et al., 2024). É também rica em muitos nutrientes, tais como hidratos de carbono (açúcares e fibras), ácidos gordos e orgânicos, aminoácidos, vitaminas, minerais e fitoquímicos, como a melatonina, os carotenóides ácidos fenólicos (principalmente derivados hidroxicinâmicos) e flavonóides (Fonseca et al., 2021). Os hidratos de carbono são os principais compostos químicos das cerejas (12-17%) e a fibra representa 1,3-2,1% do total de compostos, enquanto o teor de açúcar varia tipicamente entre 11 e 15%, dependendo das condições climáticas (Blando & Oomah, 2019). Os principais açúcares encontrados nas cerejas são a glicose e a maltose e representam cerca de 90% do total de açúcares da fruta (Chockchaisawasdee et al., 2016). O consumo de cereja proporciona diversos efeitos benéficos na saúde, tais como, diminui o tempo de recuperação muscular no desporto, induz atividades anticancerígenas, anti-inflamatórias e antidiabéticas e fornece proteção contra doenças cardiovasculares (Blando & Oomah, 2019).

### **2.2.6 Tendências**

Em adição à utilização tradicional da cereja, existe um interesse crescente na recuperação de compostos bioativos para o desenvolvimento de alimentos funcionais ou terapias de saúde, com base em tecnologias de transformação emergentes (Serra et al., 2010; Chockchaisawasdee et al., 2016). Embora diversos métodos tenham sido desenvolvidos para extrair eficientemente os compostos fenólicos da cereja, esses métodos podem ser melhorados para aumentar a produtividade, otimizando as condições de extração (Scoma et al., 2012). Por outro lado, a maioria das terapias atuais, especialmente para o tratamento do cancro, tem sido derivada de recursos naturais, pelo que a purificação adicional de compostos individuais que são ricos em cerejas deve ser explorada para preparar materiais para utilização na indústria farmacêutica e na saúde (Newman & Cragg, 2012). Futuramente é necessário desenvolver um método para a purificação de compostos naturais ativos a partir da cereja, no entanto, é essencial que qualquer processo comercial seja económico, sustentável e amigo do ambiente (Chockchaisawasdee et al., 2016).

## **2.3 Kombucha**

### **2.3.1 Origem**

A kombucha é uma bebida fermentada de origem asiática (Coelho et al., 2020), terá sido utilizada pela primeira vez pelos seus benefícios terapêuticos em 220 AC (Chakravorty et al., 2016). Esta bebida é tradicionalmente preparada com folhas de chá preto ou verde e açúcar através da atividade fermentativa de uma mistura diversificada e variável de bactérias e leveduras denominada "SCOBY" (Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras) (Morales et al., 2023). Desde 2020, a popularidade da bebida tem aumentado e tem sido introduzida no mercado com uma variedade de novos sabores (Coelho et al., 2020).

### **2.3.2 Produção**

Os principais materiais necessários para a produção de kombucha são a água, chá, SCOBY e açúcar como fonte de sacarose (Içen et al., 2023). As proporções de chá e açúcar, o tempo e temperatura de fermentação utilizados na produção de kombucha podem variar de acordo com cada região ou com as preferências do consumidor (Coelho et al., 2020). Em geral, é preparada uma base de chá e adiciona-se açúcar, que servirá de substrato para as bactérias e leveduras fermentadoras do chá (Leal et al., 2018). Após a preparação, o chá deve ser arrefecido à temperatura ambiente para evitar a inativação dos microrganismos (Kim & Adhikari, 2020). A SCOBY só é adicionada junto com 10-20% (v/v) de kombucha já fermentada (Coelho et al., 2020). Além disso, o recipiente em que a kombucha é produzida deve ser coberto apenas com gaze e nunca completamente fechado para permitir o contacto com o ar e evitar a contaminação exterior (Jorge dos Santos, 2016). Finalmente pode ainda ocorrer uma segunda fermentação, adicionando uma fonte de açúcar ou sumo de fruta à bebida já fermentada (Coelho et al., 2020).

### **2.3.3 SCOBY**

A SCOBY é um biofilme obtido a partir da associação simbiótica entre leveduras e bactérias acéticas (Coelho et al., 2020), sendo este o nome comum dado a esta película celulósica que se forma na superfície do chá e cuja função é efetuar a fermentação para obter kombucha (Jorge dos Santos, 2016). As películas são formadas em camadas, sendo que a mais próxima da superfície é sempre a mais recente. Os microrganismos (bactérias e leveduras) reproduzem-se nesta matriz de celulose e são responsáveis pela fermentação (Jarrell et al., 2000). O crescimento desta associação de bactérias e leveduras aumenta o efeito simbiótico entre as bactérias e as leveduras (Coelho et al., 2020).

### **2.3.4 Composição química e nutricional**

Após o processo de fermentação, os principais produtos formados na kombucha são o etanol, o ácido acético e o ácido glucónico (Kaashyap et al., 2021). Para além destes compostos, contêm polifenóis do chá (catequinas, teaflavinas e flavanóis), ácidos orgânicos, vitaminas hidrossolúveis (por exemplo, B1, B2, B3, B6, B12 e C), bem como vitamina E, enzimas (amilase e invertase), aminoácidos, proteínas, purinas e minerais (Abaci et al., 2022). De um modo geral, a biodisponibilidade dos polifenóis aumenta devido à conjugação do ácido glucurónico com os polifenóis do chá (Içen et al., 2023). O ácido glucurónico é um precursor da vitamina C, funciona como toxina de destoxificação, aumenta a biodisponibilidade de compostos fenólicos participando na glucuronidação e reduz o dano oxidativo. Para além disso, a vitamina C, os polifenóis e o ácido láctico na kombucha, juntamente com o ácido glucurónico, desempenham um papel na redução da proliferação do cancro gástrico (Kitwetcharoen et al., 2023).

### **2.3.5 Composição microbiológica**

A composição microbiológica da kombucha não está bem definida, pois pode variar de acordo com a sua origem, substratos e condições de produção (Coelho et al., 2020). Os microrganismos que predominam durante a fermentação da kombucha são as bactérias do ácido acético e leveduras osmofílicas (Jorge dos Santos, 2016). As bactérias que predominam são as do ácido acético e produtores de ácido glucónico, pertencentes aos géneros *Acetobacter* e *Gluconobacter* (Coelho et al., 2020). A *Acetobacter xylinum* foi reclassificada como *Gluconacetobacter xylinus* e, mais recentemente, como *Komagataeibacter xylinus*, provou ser a principal bactéria porque, além de produzir ácido acético e glucónico, também produz celulose, um composto essencial para a formação de biofilmes (Villarreal-Soto et al., 2018). Por outro lado, diversos trabalhos de investigação indicam uma grande variedade de espécies de leveduras isoladas na kombucha, incluindo os géneros *Brettanomyces/Dekkera*, *Candida*, *Koleckera*, *Mycotorula*, *Mycoderma*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Torulospora* e *Zygosaccharomyces* (Coelho et al., 2020). As leveduras do género *Saccharomyces* também foram relatadas em vários estudos, incluindo *S. cerevisiae* e *S. bisporus* (Villarreal-Soto et al., 2018). As interações entre leveduras *Saccharomyces* e não-*Saccharomyces* são vantajosas no processamento da fermentação da kombucha, pois minimizam o risco do crescimento de bactérias que podem interferir no processo fermentativo, bem como contribuem para a formação de aromas e sabores característicos (Coelho et al., 2020).

### **2.3.6 Consumo**

Embora a história da kombucha no mercado comercial seja recente, a dimensão do mercado e a variedade de produtos estão a crescer rapidamente (Kim & Adhikari, 2020). A procura de alimentos e bebidas saudáveis por parte dos consumidores é considerada uma força motriz do crescimento do sector dos alimentos funcionais (Corbo et al., 2014). Com base nos produtos comerciais de kombucha atualmente no mercado, o teor médio de calorias por 100 ml é de 14,12 kcal e o teor médio de açúcar por 100 ml é de 3,17 g. A kombucha tem um perfil de teor calórico e de açúcar inferior ao dos refrigerantes normais (Kim & Adhikari, 2020). Estes resultados são considerados promissores, com vista à limitação do consumo de refrigerantes (Mullee et al., 2019). Além disso, tem havido um aumento da utilização da avaliação sensorial ou do consumidor em projetos de investigação sobre a kombucha, com esta tendência, espera-se que o número de pesquisas sensoriais e/ou de consumo sobre a kombucha aumente (Kim & Adhikari, 2020).

### **2.3.7 Efeitos na saúde**

A kombucha tem muitos efeitos benéficos para a saúde humana, como a contribuição para a redução dos níveis de colesterol e da pressão arterial, do stress e dos distúrbios nervosos (Kitwetcharoen et al., 2023). Sabe-se também que estimula as funções hepáticas, o sistema imunitário, normaliza a atividade intestinal e equilibra a microbiota intestinal (Sreeramulu et al., 2000). Os efeitos benéficos da kombucha são conhecidos por serem atribuídos aos metabolitos libertados durante o processo de fermentação (Kitwetcharoen et al., 2023). Estes metabolitos libertados induzem atividade antimicrobiana devido principalmente à presença de vários ácidos orgânicos (nomeadamente ácido acético) e ao elevado teor de compostos fenólicos produzidos durante a fermentação (Deghrigue et al., 2013). Além disso, nos últimos anos, foi demonstrado que a kombucha tem atividades anti-inflamatórias e anticancerígenas atribuídas a muitos polifenóis e outros metabolitos essenciais produzidos a partir de uma cadeia de reações metabólicas (Kitwetcharoen et al., 2023).



## **2.4 Análise Sensorial**

### **2.4.1 Definição**

A análise sensorial é a ciência que está relacionada com a avaliação dos atributos organoléticos de um produto, mediante os sentidos. É realizada através das respostas transmitidas por avaliadores às sensações originadas por reações fisiológicas, que resultam de estímulos, dando origem à interpretação das características intrínsecas dos produtos avaliados (Zenebon et al., 2008). É uma ciência de natureza multidisciplinar, que engloba áreas como, por exemplo, a psicologia experimental, social, comportamental e fisiológica, a estatística e o marketing (Carmo, 2018). A análise sensorial é considerada um instrumento importante para as indústrias alimentares, uma vez que, torna possível o acesso a valiosas informações, tais como, características e aceitação de um determinado produto (Amaral & Santos, 2017). Para a realização desta avaliação são utilizados provadores, especializados ou não especializados (por exemplo consumidores), que, consoante um conjunto de normas e regras, realizam provas sensoriais de alimentos (Carmo, 2018). Utiliza a estatística, com o intuito de compreender se as respostas obtidas nas provas realizadas são suficientemente significativas, de forma a poder tomar uma decisão fiável sobre os produtos que estão a ser testados (Rodrigues & Teixeira, 2014).

### **2.4.2 Testes sensoriais**

Os testes sensoriais dividem-se em três grupos: testes discriminativos, testes descritivos e testes afetivos (Bech et al., 1994). Os testes discriminativos são utilizados para testar se existem, ou se são percebidas, diferenças entre os produtos testados, enquanto os testes descritivos são utilizados para descrever produtos, identificar diferenças entre produtos, bem como fazer avaliações de intensidade de atributos sensoriais específicos, sendo que este tipo de testes só deverá ser efetuado com recurso a provadores treinados, finalmente, os testes afetivos são realizados por consumidores (não treinados) e são utilizados para se efetuarem estudos de preferência em relação a determinados produtos, bem como para testar a aceitabilidade de produtos pelo consumidor (Carmo, 2018). Os testes discriminativos estão divididos em teste triangular, ordenação, duo-trio, pareado (Amaral & Santos, 2017). Para os testes descritivos, podem ser utilizados diferentes metodologias, tais como, Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), em que as avaliações são feitas através de repetições (entre 2 a 6 por produto) e os avaliadores fazem uma descrição e quantificação de todos os atributos sensoriais dos produtos em teste, e o Método Spectrum onde os atributos

sensoriais são avaliados utilizando um conjunto de termos específicos pré-existent para os produtos em questão (Carmo, 2018). Finalmente, os testes afetivos podem ser divididos em duas categorias: de preferência e de aceitação (Zenebon et al., 2008). Nos testes de preferência, o provador deve manifestar a sua preferência em relação a um produto sendo as escalas mais utilizadas para este tipo de testes os de ordenação-preferência e comparação pareada (Carmo, 2018). As provas de aceitação dividem-se em testes de aceitação por escala hedónica e testes de aceitação por escala ideal sendo que nos testes de aceitação por escala hedónica, o objetivo é o indivíduo expressar o seu gosto por um determinado produto, de forma globalizada ou em relação a um atributo específico (Zenebon et al., 2008).

### **2.4.3 Importância no desenvolvimento de novos produtos**

A alimentação encontra-se, desde sempre e de forma incontornável, presente no quotidiano do homem, ainda que, ao longo dos tempos, se tenha verificado uma clara mudança nos hábitos e nas preocupações inerentes ao consumo de géneros alimentícios, aliada à mudança social, à evolução científica e tecnológica, à expansão comercial e à globalização, todas estas mudanças conduziram a um aumento da preocupação com a segurança e a qualidade alimentar, conceitos estes praticamente indissociáveis (Catarina et al., 2015). A exigência cada vez maior dos consumidores relativamente aos produtos alimentares disponíveis, nomeadamente com as suas características nutricionais e organolépticas, leva a que as empresas do setor alimentar tenham uma constante preocupação, quando pretendem lançar novos produtos no mercado (Carmo, 2018). Dada a importância das características sensoriais dos produtos e o impacto destas nas escolhas diárias dos consumidores, a Análise Sensorial surge como uma ferramenta fulcral para o sector da indústria alimentar (Catarina et al., 2015). O desenvolvimento de produtos inovadores, que surpreendam e antecipem as necessidades do consumidor, tem uma importância significativa para a maioria das empresas do setor alimentar, no entanto, no lançamento de novos produtos existe um elevado índice de falhas, sendo a principal a não aceitação do produto pelo mercado (Barboza & Freitas, 2003). Conclui-se, assim, que a análise sensorial tem um papel fundamental no desenvolvimento de novos produtos, através da utilização de metodologias que auxiliam na previsão do comportamento do consumidor face a um novo alimento (Carmo, 2018).





### 3 Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo utilizar dois frutos endógenos e sazonais da beirabaixa durante a sua época de colheita para desenvolver duas bebidas fermentadas e inovadoras: kombucha de marmelo e kombucha de cereja. Posteriormente, foram caracterizadas nutricionalmente. Após o desenvolvimento destas bebidas, foi realizada uma avaliação sensorial, com recurso a um painel de consumidores (n=68), para determinar a aceitação destes dois novos produtos.

## 4 Material e Métodos

### 4.1 Processamento da fruta

Para preparar o sumo de marmelo, o primeiro passo foi garantir a limpeza adequada da fruta, nesse sentido, os marmelos foram lavados minuciosamente, removendo-se qualquer sujidade superficial que pudesse estar presente. Após a lavagem, os marmelos foram então cozidos para tornar a sua polpa mais macia e facilitar o processo de extração do sumo. Após cozedura, foram cuidadosamente cortados e as sementes foram removidas. Utilizando a polpa cozida e a água de cozedura (100°C), procedeu-se então à extração do sumo, a combinação da polpa e da água de cozedura resultou no sumo de marmelo. O sumo foi feito na razão de uma parte de polpa para duas partes da água de cozedura utilizando uma centrifugadora (*Vorwerk*, TM5, Alemanha). Finalmente, o sumo foi coado utilizando um coador de 0,71mm (*DIN ISSO 3310-1*, *VWR*, Alemanha), garantindo a remoção eficiente de quaisquer partículas sólidas.

Relativamente ao sumo de cereja, as cerejas foram lavadas e descaroçadas. Após o descaroçamento, as cerejas foram trituradas e pasteurizadas a uma temperatura de 100°C durante 5 minutos (*Vorwerk*, TM5, Alemanha) obtendo o sumo de cereja. Por último, o sumo foi cuidadosamente coado utilizando um coador de 0,71mm (*DIN ISSO 3310-1*, *VWR*, Alemanha), garantindo a remoção eficiente de quaisquer partículas sólidas.

## 4.2 Preparação da kombucha

### 4.2.1 Esterilização do material

A esterilização do material foi feita no Laboratório de Microbiologia que apresenta as condições necessárias de descontaminação e lavagem do material. O material utilizado no laboratório sofreu esterilização na autoclave (*Figura 2*), durante 15 minutos a 121°C (*Presoclave, JP Selecta, Espanha*). Após o ciclo de esterilização, o material foi seco numa estufa (*BD 115, Binder, Alemanha*). Para a verificação da eficácia do ciclo de esterilização são utilizados indicadores biológicos e químicos. O indicador biológico (ampola) é colocado na autoclave no primeiro ciclo diário de esterilização e posteriormente incubado a 60°C (*Figura 1*). Se o ciclo de esterilização for adequado não ocorrerá alteração da cor do indicador, caso o ciclo não seja eficaz, a cor de violeta inicial irá mudar para amarelo-alaranjado. O indicador químico consiste numa fita adesiva (*STERIS, Estados Unidos da América*) listada, que muda de cor branca para preta quando sujeita à esterilização.



Figura 1- Indicador de esterilização

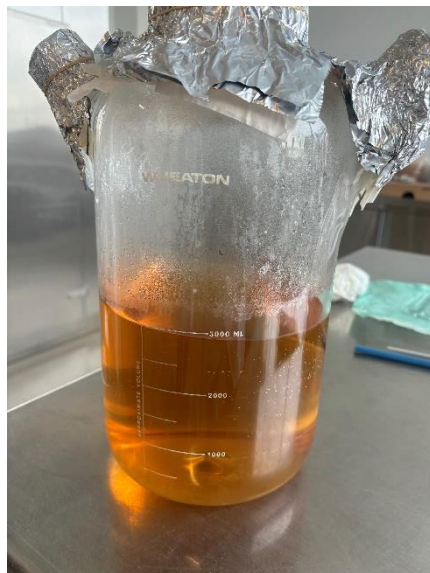


Figura 2- Esterilização do material

### 4.2.2 Fermentação

A preparação da kombucha é um processo que requer atenção e cuidado para garantir a qualidade final da bebida. O processo de fermentação da kombucha está dividido em duas fermentações. Para realizar a primeira fermentação, foi necessário aquecer água (*Perdiz, Portugal*), com pH de 6,4, até atingir a temperatura de 100°C. Uma vez atingida essa temperatura, é crucial o arrefecimento até  $\approx 80^{\circ}\text{C}$  (*Hajiaghaalipour et al., 2016*). Enquanto ocorre o arrefecimento, o chá verde (*Gorreana, Portugal*) foi pesado e adicionado à água

quente durante 5 minutos, após a infusão do chá, foi pesado (*FD15, Ohaus, Estados Unidos da América*) o açúcar (*Perdiz, Portugal*) e adicionado ao chá, o açúcar será necessário para ocorrer o processo de fermentação. Por fim, a mistura de chá e açúcar foi então transferida para o fermentador e colocado no frigorífico (*ProfiLine, Liebherr, Alemanha*) a  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ , onde permaneceu até a temperatura baixar para  $\approx 25^{\circ}\text{C}$  (*Figura 3*).



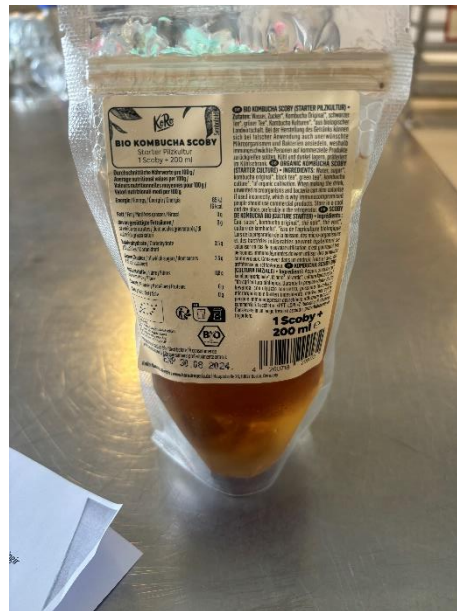
*Figura 3- Preparação do chá*

Ao alcançar a temperatura desejada, foi transferida para a Câmara de fluxo laminar (*HOT 10, STI, Portugal*). A câmara de fluxo laminar (*Figura 4*) forneceu uma atmosfera controlada, minimizando a exposição a microrganismos indesejados que poderiam prejudicar o processo de fermentação.



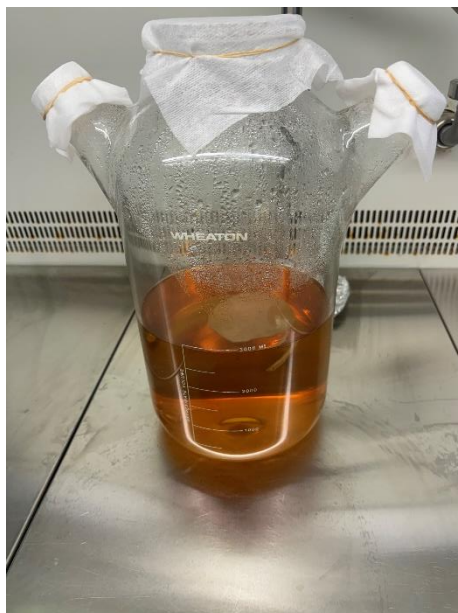
*Figura 4- Câmara de fluxo laminar*

Com o chá na câmara de fluxo laminar adicionou-se a SCOBY (*Koro*, Portugal), com cuidado garantindo que estivesse completamente submersa. A SCOBY (*Figura 5*) foi responsável por iniciar o processo de fermentação, transformando o chá em kombucha por meio da ação das bactérias e leveduras.



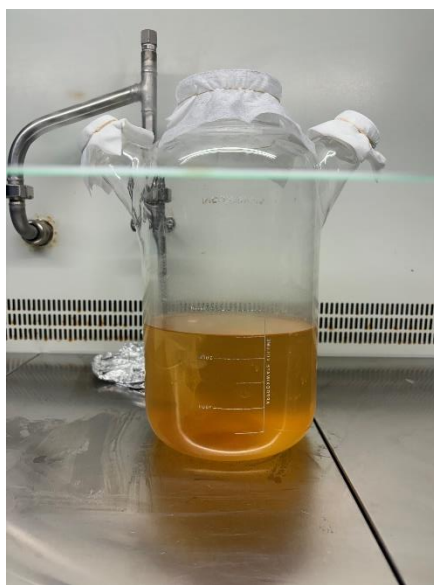
*Figura 5- SCOBY*

Ao ser adicionada ao chá era fundamental protegê-la da contaminação externa, para isso, os orifícios do fermentador foram cuidadosamente cobertos com gazes esterilizadas (*STERIS*, Estados Unidos da América). Essas gazes permitiram que o dióxido de carbono produzido durante a fermentação fosse expulso, enquanto impediu a entrada de microrganismos indesejados que poderiam comprometer a qualidade da kombucha. A manutenção da higiene e esterilização adequadas durante todo o processo foi fundamental para garantir a segurança e a qualidade da kombucha (*Figura 6*).



*Figura 6- Kombucha*

Quando o pH atingiu valores  $\approx 3$  (Laureys et al., 2020), retirou-se a SCOBY da kombucha, este passo marcou o fim da primeira fermentação, como podemos observar na *Figura 7*. A kombucha foi então transferida para garrafas de vidro previamente esterilizadas. Este foi um momento de cuidado extremo, pois foi essencial garantir que as garrafas estivessem completamente limpas e esterilizadas para evitar qualquer contaminação que pudesse afetar a qualidade do produto final.



*Figura 7- Kombucha no fim da 1ª fermentação*

Relativamente à segunda fermentação foram utilizadas garrafas de vidro de 0,5L, previamente esterilizadas, com um rácio de 67% kombucha para 33% de cereja e marmelo. O objetivo era explorar o processo da segunda fermentação apenas com recurso aos açúcares naturalmente presentes na composição do sumo evitando assim o uso de açúcares refinados nesta fase do processo. Foi estabelecido um grupo de controlo onde se adicionou 5g de açúcar às garrafas de kombucha de forma a possibilitar um produto gaseificado, carbonatado naturalmente. Finalmente as garrafas foram, cuidadosamente, colocadas numa estufa (*BD 115, BINDER, Alemanha*) a 25°C ao abrigo de luz durante dois dias. Esta temperatura é ideal para estimular a atividade das bactérias e leveduras presentes na cultura de kombucha, promovendo uma fermentação saudável e eficiente. Ao final dos dois dias na estufa, a segunda fermentação foi concluída, as garrafas foram retiradas da estufa e refrigeradas a 4°C no frigorífico (*Figura 8*) (*ProfiLine, Liebherr, Alemanha*).



*Figura 8- Kombucha de cereja, marmelo e controlo*

## **4.3 Determinações Físico-químicas**

### **4.3.1 Determinação do pH**

O pH foi determinado por potenciometria, de acordo com a NP EN 1132:1996, para a determinação destes parâmetros utilizou-se um titulador automático (*GLP22, Hach Lange, Espanha*) com um eletrodo de pH (*SP10B, Consort<sup>TM</sup>, Bélgica*). Antes de efetuar as análises, o eletrodo foi calibrado com as soluções padrão de pH a 4,00, 7,00 e 9,00 (*BDH Prolabo®*).

### **4.3.2 Sólidos solúveis totais**

O teor dos SST ( $^{\circ}$ Brix) foi determinado através de um refratômetro digital (PR-32 $\alpha$ , ATAGO<sup>TM</sup>, Japão). O equipamento foi calibrado com água destilada no início de cada ensaio. A análise foi realizada com uma gota de polpa obtida de cada sumo e kombucha, de acordo com NP EN 12143:1999.

### **4.3.3 Teor alcoólico em volume**

O TAV (teor alcoólico em volume) foi determinado recorrendo ao método OIV-MA-AS313-O1A. Inicialmente, procedeu-se à destilação volumétrica da kombucha utilizando uma unidade de destilação digital (*Digital Distilling Unit - SUPER D.E.E, Gibertini, Itália*), com o objetivo de remover as substâncias não voláteis. Em seguida, a massa volumétrica do destilado foi determinada por meio de densimetria eletrónica (*Density Meter DS 7000, A. Kraüss Optronik, Alemanha*). Com os valores da massa volumétrica do destilado e a sua temperatura conhecida, foi possível calcular a percentagem de título alcoométrico. Os resultados foram expressos em % de volume.

## **4.4 Parâmetros nutricionais**

### **4.4.1 Fibra**

A fibra bruta (FB) foi determinada pelo método de Weende, de acordo com a NP 2029:1983. Inicialmente, pesou-se 1g de celite e 1g amostra (*AL 204, Mettler Toledo, Estados Unidos da América*) para cada cadinho de vidro. De seguida, os cadinhos foram colocados na unidade de extração a quente (*Fibertec System M, Tecator, Dinamarca*) ajustadas às colunas de ebulição. Posteriormente, foram adicionados 150mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,26N) fervente em cada uma das colunas e 5 a 6 gotas de octanol com o objetivo de evitar a formação de espuma. Após a entrada em ebulição, deixou-se ferver durante 30 minutos. Após ter terminado o tempo estabelecido, lavou-se com H<sub>2</sub>O destilada quente as colunas repetindo esta operação três vezes. Numa fase seguinte, foi adicionado 150mL de NaOH (0,32N) mantendo em ebulição durante 30 minutos. No final da ebulição lavamos, novamente, com H<sub>2</sub>O destilada quente três vezes. Posteriormente, foram lavados com acetona para extrair qualquer substância solúvel e para ajudar a desidratar a amostra.

Os cadinhos foram colocados na estufa (*UL 60, Memmert, Alemanha*) a 103 $^{\circ}$ C durante 2 horas, seguidamente, arrefeceram no exsiccador (*467-3120, Fisher Scientific, Estados Unidos da América*) e pesaram-se. Finalmente, os cadinhos foram colocados em mufla (*L15,*

*Nabertherm*, Alemanha) a 550°C para incineração durante 5 horas deixando arrefecer no exsiccador e por último foram pesados.

#### **4.4.2 Determinação do teor de açúcares**

A quantificação dos açúcares totais (glucose, frutose, sacarose e maltose) foi determinada pelo método AOAC 982.14. Os açúcares foram quantificados por cromatografia líquida através de um cromatógrafo iónico (*ICS-3000-DC1, Dionex*, Estados Unidos da América). Foi efetuada uma extração com água ultrapura, seguida de homogeneização no ultra-turrax (*T 50 basic, IKA® Werke*, Alemanha) e clarificação por centrifugação (*Biofuge Primo R, Thermo Fisher Scientific*, Estados Unidos da América). Os açúcares foram eluídos com uma solução de hidróxido de sódio a 50 % e detetados por um sistema de deteção amperimétrica.

#### **4.4.3 Determinação do teor de proteína**

O teor de proteína foi determinado segundo o método interno PT.LFQ.0105 (Kjeldahl). A amostra foi mineralizada através de uma mistura catalisadora (*kjeltabs Cu/3,5, FOSS*), combinada com ácido sulfúrico concentrado (95%, *BDH Prolabo®*), a 420 °C, num bloco de digestão (*Tecator™ Digestor 2508, FOSS*, Dinamarca). Durante este processo todo o azoto orgânico foi convertido em ião amónio. De seguida, foi destilado em corrente de vapor e recolhido numa solução de ácido bórico, onde foi doseado, por titulação, com ácido clorídrico (*BDH Prolabo®*). Esta segunda fase ocorreu no equipamento Kjeltec (*Kjeltec™ 8400, FOSS*, Dinamarca). A percentagem de proteína foi calculada através de um fator de conversão de azoto em proteína, que para a matriz em causa tem o valor de 6,25.

#### **4.4.4 Determinação do teor de humidade**

O teor de humidade foi determinado de acordo com o método AOAC 934.06 (1934). Este é um método gravimétrico que envolve a secagem das amostras a 70 °C sob vácuo (*VDL 115, Binder*, Estados Unidos) durante 4 horas, até se obter um peso constante.

#### **4.4.5 Determinação do teor de cinzas**

O teor de cinzas foi determinado de acordo com o método AOAC 940.26 (2000). Este método gravimétrico envolve a incineração das amostras até ficarem completamente carbonizadas. De seguida, são colocadas na mufla (*SAF 11/1, Lenton*, Estados Unidos) a 550 ± 25 °C durante a noite, até se obterem cinzas brancas. O resíduo mineral resultante da

incineração corresponde ao teor de matéria inorgânica presente na amostra.

#### **4.4.6 Determinação do teor de gordura**

O teor de gordura foi determinado de acordo com o método interno PT.LFQ.0104. Para este tipo de amostras, é necessário iniciar com uma hidrólise ácida utilizando o Soxcap (*SoxCapTM 2047, FOSS, Dinamarca*) e uma solução de ácido clorídrico a 6 M (BDH Prolabo®). Após a hidrólise, as amostras são filtradas e lavadas. Em seguida, realiza-se a extração com um solvente orgânico (éter de petróleo 40-60 (v/v), BDH VWR®) no Soxtec (*SoxtecTM 2055, FOSS, Dinamarca*). Finalmente, o solvente é removido por evaporação a  $103 \pm 3$  °C e o resíduo é pesado para determinar o teor de gordura.

#### **4.4.7 Determinação dos hidratos de carbono**

A determinação dos hidratos de carbono foi realizada por cálculo, conforme o Regulamento (UE) N° 1169/2011, utilizando os parâmetros nutricionais conhecidos, de acordo com a equação (1):

$$\text{Hidratos de carbono} = 100 - (\text{humidade} + \text{proteína} + \text{gordura} + \text{cinzas} + \text{fibra}) \quad (1)$$

#### **4.4.8 Valor energético**

O valor energético foi calculado utilizando os fatores de conversão especificados no regulamento (UE) N° 1169/2011, sendo expressos em kJ (2) e kcal (3).

$$\text{Energia (kJ)} = 37 \times \text{Gordura} + 17 \times \text{Hidratos de carbono} + 17 \times \text{Proteína} + 8 \times \text{Fibra} \quad (2)$$

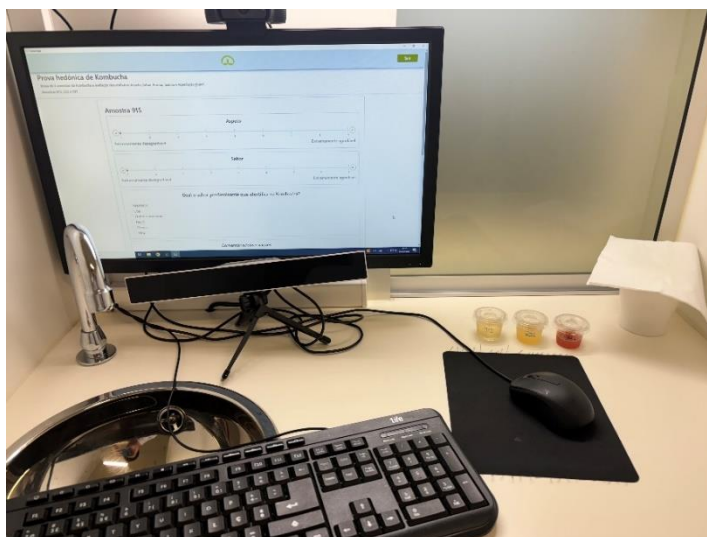
$$\text{Energia (kcal)} = 9 \times \text{Gordura} + 4 \times \text{Hidratos de carbono} + 4 \times \text{Proteína} + 2 \times \text{Fibra} \quad (3)$$



## 4.5 Análise sensorial

### 4.5.1 Prova sensorial

Foi realizada uma prova sensorial hedônica com o objetivo de avaliar a aceitabilidade das diferentes amostras de kombucha recorrendo a um painel de 68 provadores não treinados. Foram apresentadas três amostras distintas, cada uma identificada com um código diferente (*Figura 9*). Cada amostra foi submetida à avaliação de diferentes parâmetros sensoriais, incluindo o aspeto, sabor, aroma, textura e apreciação global. Os consumidores utilizaram uma escala de 1 a 9 para classificar cada parâmetro, onde 1 representava extremamente desagradável e 9 extremamente agradável. Ao final da avaliação, os consumidores ordenaram as amostras de acordo com suas preferências pessoais.



*Figura 9- Prova sensorial*

### 4.5.2 Preparação de amostras

As amostras foram servidas em copos de plástico transparentes com tampa com capacidade de 30mL, os recipientes foram previamente limpos e secos para evitar a contaminação. A kombucha foi agitada suavemente antes de ser colocada nos copos (*Figura 10*). Colocou-se 20 ml de kombucha no copo e tapou-se imediatamente a seguir à colocação da amostra. As amostras foram preparadas quando o provador já estava sentado na cabine e servidas a uma temperatura de  $\approx 6$  °C. Os provadores tinham disponível um copo com água para limpar o palato.



*Figura 10- Preparação das amostras*

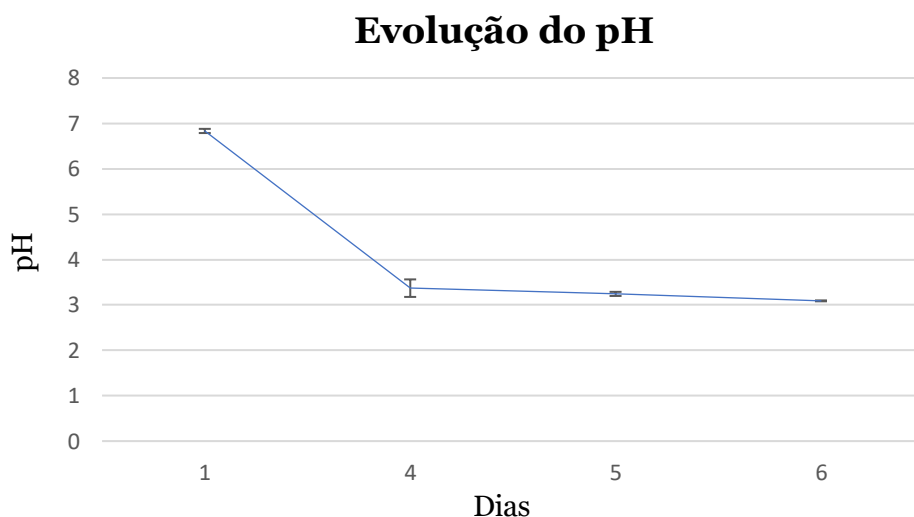
#### **4.6 Análise estatística**

Para o processamento da análise sensorial, foi utilizado o software SPSS (IBM statistics, Estados Unidos da América) versão 29.0. Foi aplicada uma ANOVA de uma via para comparar os diferentes parâmetros sensoriais em todas as amostras antes e depois da disponibilização da informação adicional sobre o produto, seguida do teste de Tukey para a comparação múltipla de médias. Em todos os casos, os níveis de significância foram estabelecidos em  $p < 0,05$ .

## 5 Resultados e discussão

### 5.1 Determinação do pH

Foram preparados três lotes de kombucha, cada um com um pH inicial  $6,83 \pm 0,05$ . O pH da SCOBY inicial foi medido, antes do início da primeira fermentação, tendo como valor  $2,65 \pm 0,01$ . Cada lote fermentou 144 horas (6 dias) para atingir o ponto desejado de acidez e sabor, o pH foi analisado ao longo dos dias, nos diferentes lotes, havendo uma diminuição do valor para  $3,09 \pm 0,01$ . Este decréscimo deveu-se à formação de ácidos orgânicos durante a fermentação da kombucha (Fernando dos Santos et al., 2024). Além disso, a diminuição do pH é importante para garantir a segurança contra microrganismos patogênicos ( $\text{pH} < 4,2$ ) (Hur et al., 2014). O intervalo de pH considerado seguro para o consumo humano situa-se entre 2,5 e 4,2, uma vez que valores inferiores indicam níveis excessivos de ácido acético e valores superiores estão correlacionados com um risco significativo de crescimento de microrganismos indesejáveis (Cardoso et al., 2020).



*Figura 11- Evolução dos valores de pH da primeira fermentação da kombucha ao longo de 6 dias (144 horas)*

Após a adição da fruta, o pH foi novamente determinado para avaliar o efeito da segunda fermentação com sumos marmelo e cereja afeta as propriedades da kombucha, em comparação com o grupo de controlo sem adição de fruta. Os resultados revelaram um aumento ligeiro do pH na kombucha de marmelo e cereja em relação ao controlo. Este aumento pode ser justificado pela composição diferente das matérias-primas,

nomeadamente devido ao teor de ácidos orgânicos (Morales et al., 2023). Além disso, este aumento está provavelmente associado às diferentes composições químicas das frutas que podem afetar o pH da solução final (Silva Júnior et al., 2021). Embora o resultado final de todos continue a ser seguro e estável para consumo, as kombuchas diferem estatisticamente entre si no valor de pH ( $p < 0,05$ ).

## 5.2 Sólidos solúveis totais

Relativamente aos valores obtidos para os SST, constataram-se diferenças nos sumos e nas respetivas kombuchas de fruta. Em relação aos SST nos sumos, o de cereja foi o que apresentou o valor mais elevado, em torno de  $19,50 \pm 1,25$ , enquanto o sumo de marmelo foi de  $5,70 \pm 0,40$ . No que diz respeito às kombuchas houve uma diminuição nos SST tanto na kombucha de cereja como na de marmelo,  $9,70 \pm 0,46$  e  $5,33 \pm 0,45$ , respetivamente. Na kombucha de cereja constataram-se diferenças significativas em relação ao sumo, controlo, sumo de marmelo e kombucha de marmelo.

Tabela 5- Valores de SST comparativos entre os sumos e kombucha.

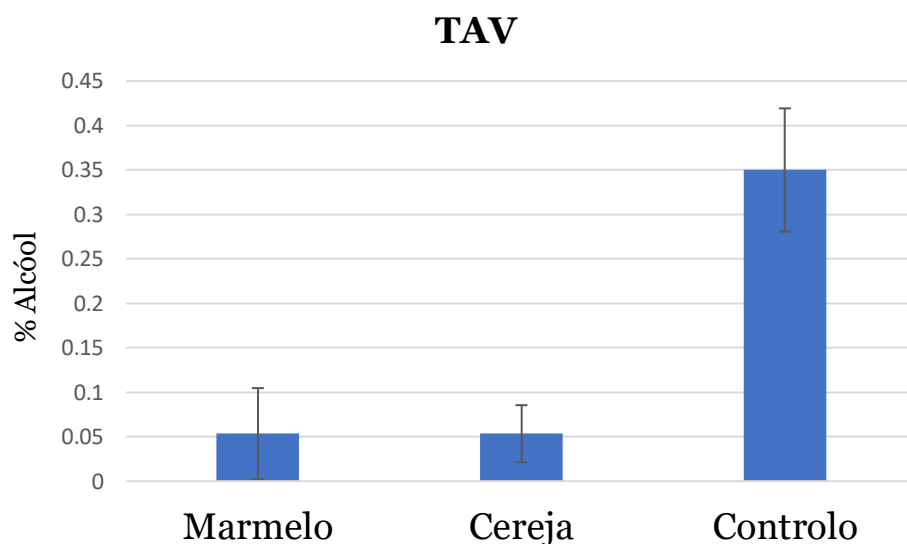
	Média ± Desvio Padrão
<b>Marmelo</b>	$5,70^a \pm 0,40$
<b>K Marmelo</b>	$5,33^a \pm 0,45$
<b>Cereja</b>	$19,50^b \pm 1,25$
<b>K Cereja</b>	$9,70^c \pm 0,46$
<b>Controlo</b>	$5,00^a \pm 0,20$
<b>Controlo + açúcar</b>	$5,40^a \pm 0,15$

1 letras diferentes no mesmo parâmetro indica diferenças significativas ( $p < 0,05$ )

Os SST diminuem durante o tempo de fermentação devido à sua utilização pelos microrganismos como fonte de energia, uma vez que estão diretamente ligados ao teor de açúcares presentes no meio (Chakravorty et al., 2016). Como resultado, os níveis de SST nas kombuchas tendem a ser mais baixos em comparação com os sumos.

### 5.3 Teor alcoólico em volume

Uma das grandes preocupações na produção da kombucha foi o controlo da produção de etanol durante o processo, pois as suas propriedades funcionais e potencialmente saudáveis devem estar dentro do contexto de uma bebida não alcoólica. As bebidas devem ser rotuladas como bebidas alcoólicas quando o seu teor alcoólico excede 1,2% (Parlamento Europeu e Conselho Da União Europeia, 2011). Neste trabalho, todas as kombuchas desenvolvidas apresentaram um valor abaixo de 0,5% como se pode verificar na *Figura 12*.



*Figura 12- Valores de TAV nas diferentes kombuchas*

A kombucha de marmelo e cereja apresentaram um valor mais baixo de álcool em comparação com o grupo de controlo. Os álcoois voláteis, são produzidos principalmente durante a fermentação e podem ser formados pelo metabolismo de leveduras e bactérias que são intermediários de alterações bioquímicas (Dartora et al., 2023). Esta diferença pode ser justificada pelo tempo de fermentação curto e a adição de 5g de açúcar ao grupo de controlo, uma vez que, o teor de açúcar disponível para a fermentação aumentou resultando numa produção ligeiramente maior de álcool durante o processo de fermentação em relação á kombucha de cereja e marmelo.

## 5.4 Parâmetros nutricionais

### 5.4.1 Fibra

Para a determinação do teor de fibra consideramos um grupo de 3 amostras de kombucha de marmelo e cereja. Os resultados obtidos revelaram que a kombucha de marmelo apresentou um teor de fibra de  $(0,40 \pm 0,04)\%$ , enquanto a kombucha de cereja registou  $(0,29 \pm 0,05)\%$ . A kombucha de marmelo apresentou uma maior percentagem de fibra devido às características nutricionais do marmelo. O marmelo é muito rico em fibra, especialmente quando cozido (Rasheed et al., 2018).

### 5.4.2 Determinação do teor de açúcares

Na determinação do teor de açúcares por cromatografia iónica consideramos um grupo de 3 amostras de kombucha de marmelo e cereja. O objetivo principal foi comparar os níveis de açúcares antes e depois da segunda fermentação. Em ambas as kombuchas, foi possível detetar dois monossacarídeos (glucose e frutose) e um dissacarídeo (sacarose) (Tabela 6).

Tabela 6- Tabela comparativa de açúcares pré e pós fermentação anaeróbia (48 horas).

	Glucose		Frutose		Sacarose	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
<b>Marmelo</b>	$0,34^a \pm 0,03$	$0,39^a \pm 0,09$	$0,73^a \pm 0,07$	$0,82^a \pm 0,11$	$2,99^a \pm 0,34$	$2,31^a \pm 0,35$
<b>Cereja</b>	$2,68^a \pm 0,35$	$2,89^a \pm 0,06$	$2,54^a \pm 0,32$	$2,99^b \pm 0,26$	$2,91^a \pm 0,34$	$2,37^b \pm 0,71$

1 letras diferentes no mesmo parâmetro indica diferenças significativas ( $p < 0,05$ )

Ambas as bebidas de kombucha mostraram diferenças nos níveis de açúcares devido ao processo de fermentação. A kombucha de cereja tem níveis mais altos de açúcares, tanto no início quanto no final da fermentação, em comparação com a kombucha de marmelo. A kombucha de cereja apresentou diferenças significativas nos parâmetros da frutose e sacarose. Contudo, quando existe um elevado teor de açúcar não significa necessariamente que apresente um sabor mais doce, pois a quantidade de ácidos orgânicos também é importante na perceção do sabor da fruta (Milivojević et al., 2011). Além disso, o consumo de açúcar é importante para a fermentação da SCOBY e resulta na produção de ácidos orgânicos, etanol, CO<sub>2</sub> e celulose bacteriana (Fernando dos Santos et al., 2024).

### 5.43 Composição nutricional

A caracterização nutricional das diferentes kombuchas é muito importante para o aumento do conhecimento sobre estas, uma vez que existe pouca informação disponível. Deste modo, os valores nutricionais obtidos para cada uma das kombuchas em estudo encontram-se apresentados na *Tabela 7*.

*Tabela 7- Composição nutricional das kombuchas de marmelo e cereja.*

	<b>Kombucha Marmelo</b>	<b>Kombucha Cereja</b>
<b>Valor energético (KJ)</b>	82 ± 2,58	155 ± 5,85
<b>Valor energético (kcal)</b>	19 ± 0,52	37 ± 1,38
<b>Lípidos (g/100g)</b>	<LQ	<LQ
<b>Hidratos de carbono (g/100g)</b>	4,66 ± 0,15	8,66 ± 0,38
<b>dos quais açúcares</b>	3,52 ± 0,26	8,25 ± 0,43
<b>Fibra (g/100g)</b>	0,40 ± 0,04	0,29 ± 0,05
<b>Proteína (g/ 100g)</b>	<LQ	0,31 ± 0,01
<b>Sal (g)</b>	<LQ	<LQ
<b>Humidade (g /100g)</b>	94,93 ± 0,15	90,64 ± 0,33
<b>Cinzas (g/100g)</b>	0,05 ± 0,03	0,11 ± 0,03

<LQ – valor abaixo do limite de quantificação.

A kombucha de cereja destacou-se por ter um maior valor energético, maior teor de açúcares e hidratos de carbono, e uma quantidade mensurável de proteína em comparação com a kombucha de marmelo. A kombucha de marmelo, por outro lado, apresentou um teor de humidade ligeiramente superior e mais fibra, ao calcular a dose diária recomendada segundo o Regulamento (ce) n.o 1924/2006 do Parlamento Europeu e do conselho de 20 de Dezembro de 2006 relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos, o calculo da alegação para fibra é realizada por 100kcal ao aferir os valores resultou num valor de 0.79g/100Kcal na kombucha de cereja e 2.10g/100kcal de kombucha marmelo o que resulta na possibilidade de alegar que a Kombucha de marmelo é “fonte de fibra”. Ambas as bebidas têm valores muito baixos ou indetectáveis de lípidos e sal. Existe uma diferença no valor de hidratos de carbono, especialmente devido à cereja apresentar um maior teor de açúcar, em comparação com o marmelo.



## 5.5 Análise sensorial

Para a realização da prova sensorial hedónica, foi selecionado um painel de 68 consumidores composto por 56% mulheres e 44% homens, com uma média de idade de 34 anos. Cada consumidor provou 3 amostras, rotuladas com os códigos 915 (controlo), 222 (marmelo) e 597 (cereja). Os provadores avaliaram essas amostras com base em critérios como aspeto, sabor, aroma, textura e apreciação global. No final, foi também ordenada cada amostra por ordem de preferência e avaliada a intenção de compra de cada amostra por parte do painel de consumidores.

Em relação à amostra controlo teve uma apreciação global de  $6,44 \pm 1,65$  e 62% dos consumidores revelaram que compravam este produto caso estivesse no mercado. Relativamente, à amostra de Marmelo esta teve uma apreciação global de  $6,35 \pm 1,52$  em que 63% dos provadores revelaram a sua intenção positiva de compra do produto. Finalmente, a amostra de Cereja foi a que teve apreciação global mais baixa de  $5,81 \pm 1,80$  e apenas 44% dos consumidores compravam este produto caso estivesse no mercado. Estes resultados estão compilados nas *Figura 13 e 14*.

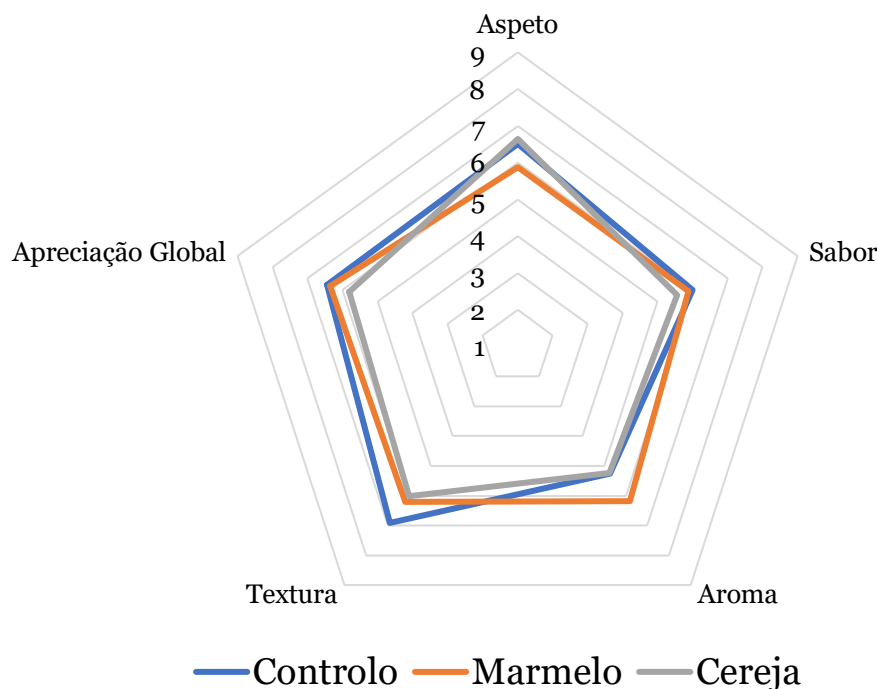


Figura 13- Análise sensorial hedónica comparativa das diferentes kombuchas

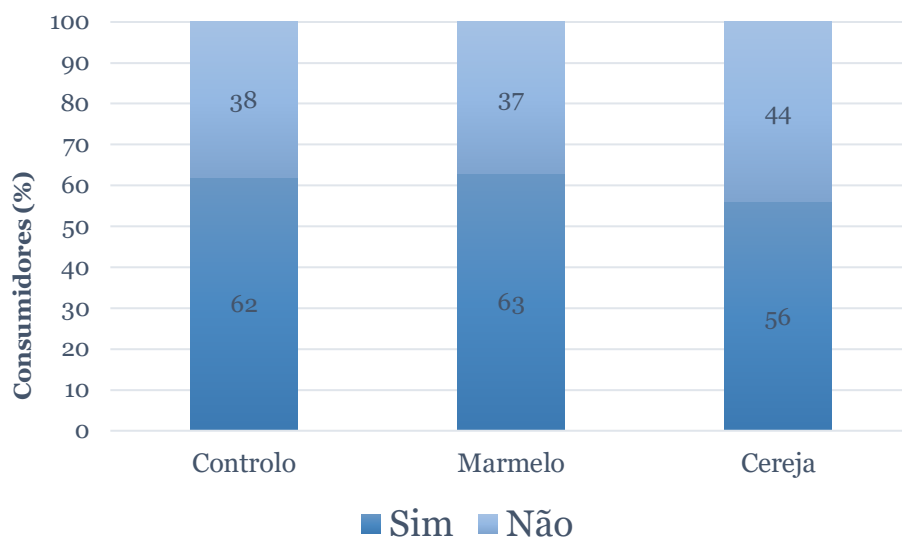


Figura 14- Intenção de compra nas diferentes kombuchas

Na Tabela 8, podemos observar a média da avaliação dos consumidores nos diferentes atributos analisados, proporcionando uma visão abrangente das suas percepções e satisfações em relação às kombuchas.

Tabela 8- Comparação dos diferentes parâmetros avaliados

Média <sup>1</sup> ± SD	Controle	Marmelo	Cereja
<b>Aspetto</b>	6,51 <sup>a</sup> ± 1,85	5,88 <sup>a</sup> ± 1,69	6,65 <sup>b</sup> ± 1,66
<b>Sabor</b>	6 <sup>a</sup> ± 1,91	5,88 <sup>a</sup> ± 1,75	5,56 <sup>a</sup> ± 1,77
<b>Aroma</b>	5,26 <sup>a</sup> ± 1,92	6,19 <sup>b</sup> ± 1,70	5,24 <sup>c</sup> ± 1,77
<b>Textura</b>	6,98 <sup>a</sup> ± 1,68	6,21 <sup>b</sup> ± 1,65	6,01 <sup>c</sup> ± 1,68
<b>Apreciação global</b>	6,44 <sup>a</sup> ± 1,65	6,35 <sup>a</sup> ± 1,52	5,81 <sup>a</sup> ± 1,80

<sup>1</sup> letras diferentes no mesmo parâmetro indica diferenças significativas (p<0,05).

No geral todas as amostras tiveram uma boa aceitação, contudo não houve diferenças significativas na apreciação global das diferentes kombuchas. As suas principais características sensoriais como o odor e o sabor são desenvolvidas através da atividade das bactérias do ácido acético e das leveduras (Sales et al., 2023). Os valores da apreciação global variam entre 6,68±1,12 (Jennifer & Surya, 2024), logo constatamos que todas as kombuchas desenvolvidas se encontram dentro dos parâmetros de aceitabilidade. Com base na análise

dos atributos avaliados, podemos observar que a textura e o aroma foram os que apresentaram diferenças significativas nas diferentes kombuchas. Essas diferenças indicam que os consumidores perceberam variações notáveis no aroma entre as diferentes kombuchas, com a de marmelo a receber uma avaliação mais alta. Relativamente à textura, também apresentou diferenças significativas. Essas diferenças sugerem que a percepção da textura varia significativamente entre as diferentes kombuchas, com o controle a ser melhor avaliado relativamente a esta característica. Além disso, os consumidores demonstraram uma maior intenção de compra da kombucha de marmelo em comparação com as outras variedades.



## 6 Conclusão

Nas primeiras fermentações, ao longo das repetições, os valores de pH indicaram que todas as amostras se mantiveram dentro do intervalo considerado seguro para o consumo humano, o que é essencial para garantir a sua segurança microbiológica e as suas características organoléticas. Os valores de SST variaram conforme o tipo de fruta utilizada, refletindo as diferenças naturais no conteúdo de açúcares das mesmas. Em relação ao TAV, manteve-se abaixo de 0,5, assegurando o cumprimento da norma para bebidas não alcoólicas. Além disso, o facto de ser uma bebida e apresentar valores de fibra, demonstra que a inclusão de frutas na produção de kombucha não só enriquece o valor nutricional da bebida, mas também pode aumentar a sua atratividade junto de consumidores preocupados com uma alimentação equilibrada e saudável. Relativamente ao teor de açúcares, a kombucha de cereja apresentou diferenças significativas na quantificação da frutose e sacarose quando comparada os valores pré e pós fermentação.

Os resultados demonstraram que todas as amostras de kombucha apresentaram avaliação sensorial acima do limite de aceitação. A kombucha de marmelo destacou-se, apresentando melhores avaliações nos parâmetros de aroma e maior intenção de compra por parte dos consumidores. Os parâmetros textura e o aroma, revelaram diferenças significativas entre as diferentes kombuchas. Essas diferenças podem ser atribuídas às diferentes composições químicas das frutas utilizadas, que influenciam diretamente as características finais do produto.

As perspetivas futuras deste produto são a estabilização e manutenção das características físicas, químicas, organoléticas e microbiológicas das kombuchas, este aumento de vida útil possibilitará uma maior rentabilidade para a produção em massa. A caracterização da bebida kombucha ainda não está estabelecida, este trabalho vem garantir mais um passo nesse processo caracterizando o efeito da adição de sumos de fruta durante uma das fases de fermentação, o próximo passo deste processo será avaliar o efeito na saúde humana destas bebidas.



## Bibliografia

Abaci, N., Senol Deniz, F. S., & Orhan, I. E. (2022). Kombucha – An ancient fermented beverage with desired bioactivities: A narrowed review. *Food Chemistry: X*, 14, 100302. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100302>

Al-Zughbi, I., & Krayem, M. (2022). Quince fruit *Cydonia oblonga* Mill nutritional composition, antioxidative properties, health benefits and consumers preferences towards some industrial quince products: A review. *Food Chemistry*, 393, 133362. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133362>

Amanda Luísa Sales, Cunha, S. C., Morgado, J., Cruz, Santos, Melo, A., Fernandes, J. O., Antônio, M., & Farah, A. (2023). Volatile, Microbial, and Sensory Profiles and Consumer Acceptance of Coffee Cascara Kombuchas. *Foods*, 12(14), 2710–2710. <https://doi.org/10.3390/foods12142710>

Amaral, A., & Santos, E. (2017). Tese *Análise sensorial: testes discriminativos, descritivos e afetivos*. Seminário de pesquisa e inovação tecnológica. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia

Ashraf, M. U., Muhammad, G., Hussain, M. A., & Bukhari, S. N. A. (2016). *Cydonia oblonga* M., A medicinal plant rich in phytonutrients for pharmaceuticals. *Frontiers in Pharmacology*, 7. *Frontiers Research Foundation*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00163>

Ballistreri, G., Continella, A., Gentile, A., Amenta, M., Fabroni, S., & Rapisarda, P. (2013). Fruit quality and bioactive compounds relevant to human health of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars grown in Italy. *Food Chemistry*, 140(4), 630–638. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.024>

Barboza, L., & Freitas, R. (2003). Tese *Desenvolvimento de produtos e análise sensorial*.

Bech, A. C., Engelund, E., Juhl, H. J., Kristensen, K., & Poulsen, C. S. (1994). QFood - Optimal design of food products. *QFood - Optimal Design of Food Products*. <https://pure.au.dk/portal/en/publications/qfood-optimal-design-of-food-products>

Blando, F., & Oomah, B. D. (2019). Sweet and sour cherries: Origin, distribution, nutritional composition and health benefits. *Trends in Food Science & Technology*, 86, 517-529. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.052>

Bolat, I., Dikilitas, M., Ercisli, S., İkinci, A., & Tonkaz, T. (2014). The effect of water stress on some morphological, physiological, and biochemical characteristics and bud success on apple and quince rootstocks. *The Scientific World Journal*, 2014, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2014/769732>

Cardoso, R. R., Neto, R. O., dos Santos D'Almeida, C. T., do Nascimento, T. P., Pressete, C. G., Azevedo, L., Martino, H. S. D., Cameron, L. C., Ferreira, M. S. L., & Barros, F. A. R. de. (2020). Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*, 128, 108782. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108782>

Carmo, J. (2018). *CARMO, Jéssica Lopes do Manual de Boas Práticas em Análise Sensorial*.

Catarina, A., Moreira, S., Orientador, S., Doutor, P., Manuel, R., Vaz, P., Co-Orientador, E., Batista, I., & Da Silva, T. (2015). *INTRODUÇÃO À ANÁLISE SENSORIAL DE GÊNEROS ALIMENTÍCIOS E SUA APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA ALIMENTAR*.

Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 63-72. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015>

Chockchaisawasdee, S., Golding, J. B., Vuong, Q. V., Papoutsis, K., & Stathopoulos, C. E. (2016). Sweet cherry: Composition, postharvest preservation, processing and trends for its future use. *Trends in Food Science and Technology*, 55, 72-83. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.002>

Coelho, R. M. D., Almeida, A. L. de, Amaral, R. Q. G. do, Mota, R. N. da, & Sousa, P. H. M. de. (2020). Kombucha: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 22,100272. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100272>

Corbo, M. R., Bevilacqua, A., Petruzzi, L., Casanova, F. P., & Sinigaglia, M. (2014). Functional Beverages: The Emerging Side of Functional Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(6), 1192–1206. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12109>

Daneshvand, B., Ara, K. M., & Raofie, F. (2012). Comparison of supercritical fluid extraction and ultrasound-assisted extraction of fatty acids from quince (*Cydonia oblonga* Miller) seed using response surface methodology and central composite design. *Journal of Chromatography A*, 1252, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.06.063>

Dartora, B., Hickert, L. R., Fabricio, M. F., Ayub, M. A. Z., Furlan, J. M., Wagner, R., Perez, K. J., & Sant'Anna, V. (2023). Understanding the effect of fermentation time on physicochemical characteristics, sensory attributes, and volatile compounds in green tea kombucha. *Food Research International*, 113569. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113569>

Deghrigue, M., Chriaa, J., Battikh, H., Abid, K., & Bakhrouf, A. (2013). *African Journal of Microbiology Research Antiproliferative and antimicrobial activities of kombucha tea*. 7(27), 3466–3470. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.1230>

Eslami, O., Khorramrouz, F., Ghavami, A., Hajebi Khaniki, S., & Shidfar, F. (2022). Effect of cherry consumption on blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 16(2),102409. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2022.102409>

Evangelos Chezanoglou, Ioannis Mourtzinis, & Goula, A. M. (2024). Sweet cherry and its by-products as sources of valuable phenolic compounds. *Trends in Food Science and Technology*, 104367–104367. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104367>

FAO. (2024). Acedido 17 de fevereiro de 2024. Disponível em <https://www.fao.org/faostat/en/#home>

Fernando dos Santos, D., Leonarski, E., Araújo Rossoni, M., Alves, V., Tavares dos Passos Francisco, C., Zanella Pinto, V., & Bergler Bitencourt, T. (2024). Honey-kombucha beverage with yerba maté infusion: Development, polyphenols profile, and sensory acceptance. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 100909-100909. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2024.100909>

Fonseca, L. R. S., Silva, G. R., Luís, Â., Cardoso, H. J., Correia, S., Vaz, C. V., Duarte, A. P., & Socorro, S. (2021). Sweet cherries as anti-cancer agents: From bioactive compounds to function. *Molecules*, 26(10), 2941. <https://doi.org/10.3390/molecules26102941>

Hajiaghaalipour, F., Sanusi, J., & Kanthimathi, M. S. (2016). Temperature and Time of Steeping Affect the Antioxidant Properties of White, Green, and Black Tea Infusions. *Journal of Food Science*, 81(1), H246–H254. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13149>

Hayrunisa İçen, Maria Rosaria Corbo, Milena Sinigaglia, Korkmaz, O., & Bevilacqua, A. (2023). Microbiology and antimicrobial effects of kombucha, A short OVERVIEW. *Food Bioscience*, 56, 103270–103270. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103270>

Hur, S. J., Lee, S. Y., Kim, Y. C., Choi, I., & Kim, G. B. (2014). Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chemistry*, 160, 346–356. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.112>

Hussain, S., Javed, M., Amin Abid, M., Amjad Khan, M., Khurram Syed, S., Faizan, M., & Feroz, F. (2022). *Prunus Avium L.; Phytochemistry, Nutritional and Pharmacological Review How to Cite*. [www.als-journal.com](http://www.als-journal.com)

INE. (2024). Acedido 19 de fevereiro de 2024. Disponível em [https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpgid=ine\\_main&xpid=INE](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpgid=ine_main&xpid=INE)

Jarrell, J., Cal, T., & Bennett, J. W. (2000). The Kombucha consortia of yeasts and bacteria. *Mycologist*, 14(4), 166–170. [https://doi.org/10.1016/S0269-915X\(00\)80034-8](https://doi.org/10.1016/S0269-915X(00)80034-8)

Jennifer, & Surya, R. (2024). Antioxidant Activity and Consumer Acceptance Level of Kombucha Tea with Noni Fruit Extract (*Morinda citrifolia*). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1324(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1324/1/012122>

Jorge dos Santos, M. (2016). *KOMBUCHA: CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA E DESENVOLVIMENTO DE NOVOS PRODUTOS ALIMENTARES PARA USO EM RESTAURAÇÃO*.

Kaashyap, M., Cohen, M., & Mantri, N. (2021). Microbial diversity and characteristics of kombucha as revealed by metagenomic and physicochemical analysis. *Nutrients*, 13(12),4446. <https://doi.org/10.3390/nu13124446>

Kim, J., & Adhikari, K. (2020). Current trends in kombucha: Marketing perspectives and the need for improved sensory research. *Beverages*, 6(1),15. <https://doi.org/10.3390/beverages6010015>

Kitwetcharoen, H., Phung, L. T., Klanrit, P., Thanonkeo, S., Tippayawat, P., Yamada, M., & Thanonkeo, P. (2023). Kombucha Healthy Drink—Recent Advances in Production, Chemical Composition and Health Benefits. *Fermentation*, 9(1),48. <https://doi.org/10.3390/fermentation9010048>

Laureys, D., Britton, S. J., & De Clippeleer, J. (2020). Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*,78(3),1-10. <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1734150>

Legua, P., Serrano, M., Melgarejo, P., Valero, D., Martínez, J. J., Martínez, R., & Hernández, F. (2013). Quality parameters, biocompounds and antioxidant activity in fruits of nine quince (*Cydonia oblonga* Miller) accessions. *Scientia Horticulturae*, 154, 61–65. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.02.017>

Martínez Leal, J., Valenzuela Suárez, L., Jayabalan, R., Huerta Oros, J., & Escalante-Aburto, A. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA - Journal of Food*, 16(1), 390–399. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>

Milivojević, J., Maksimović, V., Nikolić, M., Bogdanović, J., Maletić, R., & Milatović, D. (2011). chemical and antioxidant properties of cultivated and wild fragaria and rubus berries. *Journal of Food Quality*, 34(1), 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2010.00360.x>

Morales, D., Gutiérrez-Pensado, R., Bravo, F. I., & Muguerza, B. (2023). Novel kombucha beverages with antioxidant activity based on fruits as alternative substrates. *LWT*, 189,115482. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115482>

Mullee, A., Romaguera, D., Pearson-Stuttard, J., Viallon, V., Stepien, M., Freisling, H., Fagherazzi, G., Mancini, F. R., Boutron-Ruault, M. C., Kühn, T., Kaaks, R., Boeing, H., Aleksandrova, K., Tjønneland, A., Halkjær, J., Overvad, K., Weiderpass, E., Skeie, G., Parr, C. L., ... Murphy, N. (2019). Association between Soft Drink Consumption and Mortality in 10 European Countries. *JAMA Internal Medicine*, 179(11). <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2019.2478>

Murat Güney, Salih Kafkas, Aysen Koç, Aras, S., Hakan Keles, & Harun Karci. (2019). Characterization of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) accessions by simple sequence repeat markers. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*., 43(1), 69–79. <https://doi.org/10.3906/tar-1804-95>

Najman, K., Adrian, S., Sadowska, A., Świąder, K., Hallmann, E., Buczak, K., Waszkiewicz-Robak, B., & Szterk, A. (2023). Changes in Physicochemical and Bioactive Properties of Quince (*Cydonia oblonga* Mill.) and Its Products. *Molecules*, 28(7). <https://doi.org/10.3390/molecules28073066>

Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2012). Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 75(3),311-335. <https://doi.org/10.1021/np200906s>

Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia. (2011). Regulamento (UE) n.º 1308/2013 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 17 de dezembro de 2011.

Rasheed, M., Hussain, I., Rafiq, S., Hayat, I., Qayyum, A., Ishaq, S., & Awan, M. S. (2018). Chemical composition and antioxidant activity of quince fruit pulp collected from different locations. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 2320–2327. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1514631>

Regato, M., Guerreiro, I., & Regato, J. (2017). *A cultura do marmeleiro no Alentejo*. [www.infoagro.com](http://www.infoagro.com)

Regulamento (ce) n.o 1924/2006 do Parlamento Europeu e do conselho de 20 de dezembro de 2006 relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos

Rodrigues, S., & Teixeira, A. (2014). Effect of Breed and Sex on Pork Meat Sensory Evaluation. *Food and Nutrition Sciences*, 05(07), 599–605. <https://doi.org/10.4236/fns.2014.57070>

Schuster, M. (2012). Incompatible (S-) genotypes of sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L.). *Scientia Horticulturae*, 148, 59–73. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.09.012>

Scoma, A., Pintucci, C., Bertin, L., Carlozzi, P., & Fava, F. (2012). Increasing the large scale feasibility of a solid phase extraction procedure for the recovery of natural antioxidants from olive mill wastewaters. *Chemical Engineering Journal*, 198–199, 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.05.079>

Serra, A. T., Duarte, R. O., Bronze, M. R., & Duarte, C. M. M. (2011). Identification of bioactive response in traditional cherries from Portugal. *Food Chemistry*, 125(2), 318–325. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.088>

Sharma Yashwant Singh Parmar, R., Joshi Yashwant Singh Parmar, V., & Rana, J. (2011). Nutritional composition and processed products of Quince (*Cydonia oblonga* Mill.). In *Article in Indian Journal of Natural Products and Resources*. <https://www.researchgate.net/publication/267800315>

Silva Júnior, J. C. da, Magnani, M., Almeida da Costa, W. K., Madruga, M. S., Souza Olegário, L., da Silva Campelo Borges, G., Macedo Dantas, A., Lima, M. dos S., de Lima, L. C., de Lima Brito, I., & Tribuzy de Magalhães Cordeiro, A. M. (2021). Traditional and flavored kombuchas with pitanga and umbu-cajá pulps: Chemical properties, antioxidants, and bioactive compounds. *Food Bioscience*, 44, 101380. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101380>

Sreeramulu, G., Zhu, Y., & Knol, W. (2000). Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2589–2594. <https://doi.org/10.1021/jf991333m>

Veloso, A., Sousa, R., & Sempiterno, C. (2020). *Composição mineral dos frutos de cinco cultivares de marmeleiro na região de Alcobaça*.

Vignati, E., Lipska, M., Dunwell, J. M., Caccamo, M., & Simkin, A. J. (2022). Fruit Development in Sweet Cherry. *Plants*, 11 (12),1531. <https://doi.org/10.3390/plants11121531>

Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. P., & Taillandier, P. (2018). Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of Food Science*, 83(3), 580-588. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14068>

Viveiros e Centro de Jardinagem. Acedido 22 de fevereiro de 2024. Disponível em <https://www.planfor.pt/comprar,marmeleiro,0089,PO>

Zenebon, O., Pascuet, N. S., & Tiglia, P. (2008). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4<sup>a</sup> Edição. Instituto Adolfo Lutz

Zhang, M., Wang, Z., Mao, Y., Hu, Y., Yang, L., Wang, Y., Zhang, L., & Shen, X. (2019). Effects of quince pollen pollination on fruit qualities and phenolic substance contents of apples. *Scientia Horticulturae*, 256, 108628–108628. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108628>





# Anexos

## Anexo I- Questionário Prova sensorial de kombucha

### Dados demográficos

Género

Idade

Feminino

Masculino

De seguida irá provar 3 amostras de Kombucha e avaliar os seguintes atributos: **Aspetto, Sabor, Aroma, Textura e Apreciação global.**

### Aspetto

1 Extremamente desagradável

2

3

4

5 Indiferente

6

7

8

9 Extremamente agradável

### Sabor

1 Extremamente desagradável

2

- 3
- 4
- 5 Indiferente
- 6
- 7
- 8
- 9 Extremamente agradável

**Qual o sabor predominante que identifica na Kombucha?**

- Marmelo
- Chá
- Frutos vermelhos
- Maçã
- Cereja
- Pêra

**Comentários/observações:**

---

**Aroma**

- 1 Extremamente desagradável
- 2
- 3
- 4
- 5 Indiferente
- 6
- 7
- 8

9 Extremamente agradável

**Textura**

1 Extremamente desagradável

2

3

4

5 Indiferente

6

7

8

9 Extremamente agradável

**Apreciação Global**

1 Extremamente desagradável

2

3

4

5 Indiferente

6

7

8

9 Extremamente agradável

**Compraria este produto?**

Sim

Não

Ordene por ordem de preferência, da amostra que gostou mais para a que gostou menos.

**Amostra preferida**

**Amostra que menos gostou**

**Comentários/observações:**

---

**Gratos pela sua colaboração!**