

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E EXTENSÃO  
DOUTORADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**LORENE SIMIONI YASSIN**

**DESENVOLVIMENTO DE *SMOOTHIE* FERMENTADO POR MICRORGANISMOS  
DA KOMBUCHA COM BASE NO PERFIL DE CONSUMO, COMPOSIÇÃO  
QUÍMICA, COMPOSTOS BIOATIVOS E DESCRIÇÃO SENSORIAL**

**PONTA GROSSA**

**2019**

**LORENE SIMIONI YASSIN**

**DESENVOLVIMENTO DE *SMOOTHIE* FERMENTADO POR MICRORGANISMOS  
DA KOMBUCHA COM BASE NO PERFIL DE CONSUMO, COMPOSIÇÃO  
QUÍMICA, COMPOSTOS BIOATIVOS E DESCRIÇÃO SENSORIAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade  
Estadual de Ponta Grossa, como requisito para obtenção  
do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de  
Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Nogueira

**PONTA GROSSA**

**2019**

Y29                      Yassin, Lorene Simioni

Desenvolvimento de *Smoothie* fermentado por microorganismos da Komucha com base no perfil de consumo, composição química, compostos bioativos e descrição sensorial / Lorene Simioni Yassin. Ponta Grossa, 2019. 112 f.

Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Área de Concentração: Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Nogueira.

1. Análise sensorial. 2. Bebidas fermentadas. 3. Antioxidante. 4. Atividade antiglicêmica. I. Nogueira, Alessandro. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ciências e Tecnologia de Alimentos. III.T.

CDD: 664

## TERMO DE APROVAÇÃO

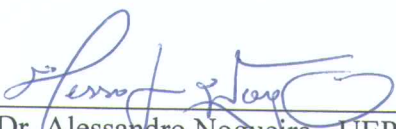
LORENE SIMIONI YASSIN

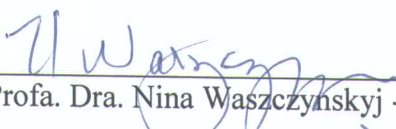


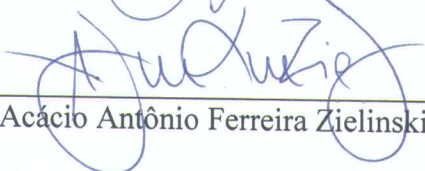
### **DESENVOLVIMENTO DE UM *SMOOTHIE* FERMENTADO PELOS MICRORGANISMOS DA KOMBUCHA COM BASE NO PERFIL DE CONSUMO, COMPOSIÇÃO QUÍMICA, COMPOSTOS BIOATIVOS E DESCRIÇÃO SENSORIAL**

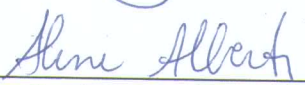
Tese aprovada como requisito para obtenção do grau de Doutor no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

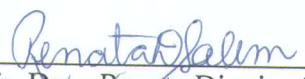
Orientador:

  
Prof. Dr. Alessandro Nogueira - UEPG - PR

  
Profa. Dra. Nina Waszczynskyj - UFPR - PR

  
Prof. Dr. Acácio Antônio Ferreira Zielinski - UFSC- SC

  
Profa. Dra. Aline Alberti - UEPG- PR

  
Profa. Dra. Renata Dinnies Santos Salem - UEPG- PR

Ponta Grossa, 12 de julho de 2019.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por planejar minha vida de forma tão cuidadosa.

A minha família, por ser amor, referência e suporte incondicional.

Ao meu orientador, Professor Alessandro Nogueira, por lapidar com paciência o meu potencial sendo sempre exemplo de profissional dedicado, visionário e íntegro.

Aos meus professores Aline Alberti e Acácio A. F. Zielinski que, em conjunto com os meus colegas de laboratório, me ensinaram o real significado de trabalhar em grupo com paciência, humildade e colaboração.

A todos os que providenciaram a estrutura necessária para eu cursar esse doutorado desde os mantenedores dessa universidade, funcionários, a população brasileira que tem parte de seus impostos empregados em educação, os órgãos de fomento à pesquisa, e tantos outros envolvidos.

Aos professores que se dedicam à Ciência e Tecnologia de Alimentos na UEPG. Especialmente, ao Prof Gilvan Wosiacki, que sonhou e trabalhou sem descanso com sua equipe para que um dia esse programa fosse realidade. Muito obrigada!

## RESUMO

Sensorialidade, bem estar e praticidade são características desejadas pelo público consumidor de bebidas saudáveis. Portanto, o desenvolvimento de um *smoothie* com essas características, demanda planejamento e análises que verifiquem sistematicamente se a qualidade sensorial e funcional estão alinhadas afim de aumentar as chances de aceitação pelo consumidor. Diante disso, o objetivo dessa pesquisa foi desenvolver um protocolo de produção de *smoothie* fermentado por microrganismos da Kombucha com base no perfil de consumo, na composição química, nos compostos bioativos e na descrição sensorial. Esta pesquisa foi fundamentada em duas partes distintas. Na primeira fase foi feita uma caracterização dos *smoothies* no mercado nacional, a qual foi subdividida em três partes: [1] uma pesquisa prévia sobre o perfil de consumidores de *smoothies*; [2] análise sensorial e [3] caracterização físico-química e instrumental dos principais *smoothies* comercializados no mercado brasileiro. As informações coletadas na primeira fase nortearam a segunda fase, na qual foram definidas as frutas bases e demais ingredientes que deveriam ser utilizados nos planejamentos experimentais de misturas. Após a definição nutricional e sensorial das melhores misturas as mesmas foram inoculadas com kombucha. Os resultados identificaram que *smoothies* são bebidas consumidas por mulheres 71124/jovens, de classe social alta residentes na região sul do Brasil e o que motiva o consumo é o propósito de saúde e o sabor. As bebidas existentes no mercado brasileiro apresentam propósitos e composição físico-química variada. Os valores de pH (3,21 a 4,3), grau brix (10,1 a 18) e acidez (0,34 a 1,02 g/100 mL), glucose (1,4 a 4,80 g/100 mL), frutose (2,94 a 9,12 g/100 mL) e sacarose (1,69 a 5,23 g/100 mL) apresentaram diferenças significativas nas 17 amostras comerciais avaliadas. A viscosidade variou de 22 a 328 mPa.s. *Smoothies* compostos por frutas amarelas apresentam maior intensidade de cor, carotenóides e elevada atividade antioxidante em relação aos compostos por frutas verdes ou vermelhas. O conteúdo fenólico variou de 612 a 1498 mg CAT/L. Ácido clorogênico (6,95 a 54,8 mg/L) e floridzina (2,08 a 20,03 mg/L) foram os fenólicos em maior concentração em todas as amostras. As bebidas aceitas sensorialmente não são as mesmas que se destacaram em relação ao aspecto físico-químico o que também pode ter influenciado a descrição sensorial diversa dessas. A partir dos resultados da primeira fase foi possível desenvolver misturas planejadas por um planejamento simplex centroid, contendo ingredientes antioxidantes e diferenciadas pelo processo de fermentação por kombucha. A fermentação durante 15 horas a 28° C dos *smoothies* pelo consórcio de bactérias presentes na kombucha proporcionou viscosidade 3,3 vezes menor (39,68 para 12,33 mPa.s), redução de 13,3% na glucose (1,80 para 1,56 g/100 mL) e 16,11% na frutose (2,98 para 2,50 g/100 mL). A acidez foi 27% maior (0,65 para 0,83 g/100 mL) e ácido ascórbico 2,7 vezes maior (5,4 para 14,60 mg/L). Fenóis totais tiveram aumento de 7,6 % (10758 para 11641 mg CAT/L). O teor de epicatequina dobrou (14,24 para 29,80 mg/L), o de floridzina foi 1,5 vezes maior (2,92 para 4,17 mg/L) e o de ácido clorogênico (40,92 para 43,96 mg/L) foi 7% maior. A atividade antioxidante da bebida não fermentada foi superior à fermentada nos quatro tipos de análises dessa. Verificou-se a modificação físico-química no *smoothie* fermentado, e isso impactou na capacidade dessa formulação ter atividade antiglicêmica até 22,8% maior (IC50 = 68,90 mg/mL versus 80,61 mg/mL). Portanto, a fermentação permitiu destacar formulações que simultaneamente apresentaram alto potencial antioxidante, antiglicêmico e sensorial. Sendo assim, esta pesquisa apresenta informações técnico-científicas para o desenvolvimento de *smoothies* direcionados à expectativa do mercado consumidor, ou seja, saboroso, com propósito e inovador.

**Palavras-chave:** Análise sensorial. Bebidas fermentadas. Antioxidante. Atividade antiglicêmica.

## ABSTRACT

Sensoriality, well-being and practicality are characteristics desired by healthy drink consumers. Therefore, the development of a smoothie with these characteristics demands planning and analyses that systematically check if the sensorial and functional qualities are aligned, in order to increase the chances of acceptance by consumers. In light of this, the aim of this research was to develop a protocol of production of a smoothie fermented by kombucha microorganisms based on consumption profile, chemical composition, bioactive compounds and sensorial description. This research was underpinned in two distinct parts. In the first phase, the smoothies were characterized in the Brazilian market, which was sub-divided into three parts: [1] previous research on the profile of smoothies' consumers; [2] sensorial analysis and [3] physicochemical and instrumental characterization of the main smoothies sold in the Brazilian market. The information collected in the first phase guided the second phase, in which the base fruits and other ingredients that should be used in the experimental planning of the mixtures were defined. After the nutritional and sensorial definition of the best mixtures, they were inoculated with kombucha. The results identified that smoothies are beverages consumed by young women of a high social class residing in the south region of Brazil, and what encourages their consumption is the purpose of health and flavor. The beverages existing in the Brazilian market present various purposes and varied physicochemical composition. The values of pH (3.21 to 4.3), Brix level (10.1 to 18) and acidity (0.34 to 1.02 g/100 mL) presented significant differences. Glucose (1.4 to 4.80 g/100 mL), fructose (2.94 to 9.12 g/100 mL) and sucrose (1.69 to 5.23 g/100 mL) presented variations between 51 and 74% in the 17 commercial samples evaluated. Viscosity varied from 22 to 328 mPa.s. Smoothies composed by yellow fruit presented greater intensity of color, carotenoids and high antioxidant activity in relation to those composed by green or red fruit. The phenolic content varied from 612 to 1498 mg CAT/L. Chlorogenic acid (6.95 to 54.8 mg/L) and phlorizin (2.08 to 20.03 mg/L) were the phenolics in the highest concentration in all the samples. The beverages sensorially accepted are not the same as the ones that stood out in relation to the physicochemical aspect, which may have also influenced their diverse sensorial description. From the results of the first phase, it was possible to develop planned mixtures by planning and a simplex centroid, containing antioxidant ingredients, and being differentiated by the kombucha fermentation process. The fermentation for 15 hours at 28° C of the smoothies by the bacteria consortium present in the kombucha provided a viscosity 3.2 times lower (39.68 to 12.33 mPa.s), reduction of 13.3% in glucose (1.80 to 1.56 g/100 mL) and 16.11% in fructose (2.98 to 2.50 g/100 mL). Acidity was 27% higher (0.65 to 0.83 g/100 mL) and ascorbic acid 2.7 times higher (5.4 to 14.60 mg/L). Total phenols had an increase of 7.6 % (10758 to 11641 mg CAT/L). The content of epicatechin doubled ( $14.24 \pm 0.51$  to  $29.80 \pm 0.94$  mg/L), of phloridzin was 1.4 times higher (2.92 to 4.17 mg/L) and of chlorogenic acid (40.92 to 43.96 mg/L) was 7% higher. The antioxidant activity of the unfermented beverage was higher than the fermented one in the four kinds of analyses of this activity. The physicochemical change in the fermented smoothie was confirmed, and this caused a great impact on its capacity to have antiglycemic activity up to 22.8% higher (IC<sub>50</sub> = 68,90 mg/mL *versus* 80,61 mg/mL). Therefore, the fermentation allowed to highlight formulations that simultaneously presented a high antioxidant, antiglycemic and sensorial potential. As such, this research presents technical and scientific information for the development of smoothies directed to the expectation of the consumer market, that is, tasty, purposeful and innovative.

**Key words:** Sensorial analysis. Fermented beverages. Antioxidant. Antiglycemic activity.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Representação gráfica do processo de obtenção do <i>smoothie</i> fermentado proposto na pesquisa. ....                                                                         | 15 |
| Figura 2 - Fluxograma do processamento de <i>smoothies</i> . ....                                                                                                                         | 23 |
| Figura 3 - Fluxograma do processamento de Kombucha.....                                                                                                                                   | 32 |
| Figura 4 - Gráfico de dispersão 2-D dos <i>smoothies</i> comerciais brasileiros (A) e suas respectivas variáveis correlacionadas (B) .....                                                | 65 |
| Figura 5 - Resultados da análise sensorial aplicada aos <i>smoothies</i> comerciais brasileiros por Análise Procrustes Generalizada (GPA) .....                                           | 67 |
| Figura 6 - Resultado da análise sensorial aplicada para as misturas testadas, feita por Análise Procrustes Generalizada (GPA) .....                                                       | 84 |
| Figura 7 - Resultado da análise sensorial aplicada para as misturas preferidas antes e pós fermentação de 10, 15 e 20 horas a 25° C, feita por Análise Procrustes Generalizada (GPA)..... | 85 |

## LISTA DE QUADROS

|                                                                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Quadro 1 - Classificação dos <i>smoothies</i> de acordo com as características da matéria prima e tecnologia de processamento. ....                            | 18 |
| Quadro 2 - Legislação aplicada para sucos, microrganismos adicionados em alimentos e novos produtos.....                                                       | 19 |
| Quadro 3 - Principais critérios e correspondentes características metabólicas para a seleção de <i>starters</i> para a fermentação de frutas e hortaliças..... | 27 |
| Quadro 4 - Seleção de pesquisas relacionadas à atividade antiglicêmica e outros efeitos biológicos da Kombucha.....                                            | 34 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                      |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabela 1 - Lista de <i>smoothies</i> codificados de acordo com especificações e características presentes nos rótulos .....                                          | 56  |
| Tabela 2 - Características físicas, químicas e instrumentais dos <i>smoothies</i> brasileiros.....                                                                   | 60  |
| Tabela 3 - Fenóis totais, ácido ascórbico, carotenóides, DPPH, FRAP, ABTS e CUPRAC analisados em <i>smoothies</i> comerciais brasileiros.....                        | 62  |
| Tabela 4 - Perfil de compostos fenólicos (mg / L) analisados em <i>smoothies</i> comerciais brasileiros .....                                                        | 64  |
| Tabela 5 - Delineamento de mistura simplex centroid dos <i>smoothies</i> planejados .....                                                                            | 76  |
| Tabela 6 - Preferência das amostras de <i>smoothies</i> pré fermentação.....                                                                                         | 83  |
| Tabela 7 - Preferência das amostras de <i>smoothies</i> pré e pós fermentação de 10, 15 e 20 horas .....                                                             | 86  |
| Tabela 8 - Características físico-químicas dos <i>smoothies</i> desenvolvidos.....                                                                                   | 88  |
| Tabela 9 - Fenóis totais, carotenoides, ácido ascórbico, ABTS, CUPRAC, DPPH e FRAP e analisados nos <i>smoothies</i> desenvolvidos, no chá branco e na Kombucha..... | 89  |
| Tabela 10 - Perfil de compostos fenólicos (mg/L) analisados nos <i>smoothies</i> desenvolvidos, chá branco ( <i>Camellia sinensis</i> ) e Kombucha .....             | 92  |
| Tabela 11 - Análises microbiológicas dos <i>smoothies</i> desenvolvidos .....                                                                                        | 93  |
| Tabela 12 - Atividade inibitória da $\alpha$ -glucosidase dos <i>smoothies</i> desenvolvidos e do chá branco e Kombucha utilizados nas formulações. ....             | 94  |
| Tabela 13 - Características dos principais <i>smoothies</i> comerciais brasileiros.....                                                                              | 105 |

## LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

|         |                                                                                          |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| ABTS    | <i>2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid</i>                             |
| ANVISA  | Agência Nacional de Vigilância Sanitária                                                 |
| CUPRAC  | <i>Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity</i>                                          |
| CLAE    | Cromatografia líquida de alta eficiência                                                 |
| CQAE    | Ácido clorogênico equivalentes                                                           |
| DP      | Desvio padrão                                                                            |
| DPPH    | <i>2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate</i>                                            |
| FDA     | <i>Food and Drug Administration</i>                                                      |
| FOS     | Frutooligossacarídeos                                                                    |
| FRAP    | Poder antioxidante de redução do ferro                                                   |
| FSMA    | <i>Food Safety Modernization Act</i>                                                     |
| GPA     | <i>Generalized Procrustes Analysis</i>                                                   |
| GRAS    | <i>Generally Recognized as Safe</i>                                                      |
| HCA     | <i>Hierarchical Clustering Analysis</i>                                                  |
| IC50    | Concentração efetiva para obtenção de metade do efeito máximo                            |
| MAPA    | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento                                      |
| NMP     | Número mais provável                                                                     |
| OMS     | Organização Mundial da Saúde                                                             |
| PCA     | <i>Principal Component Analysis</i>                                                      |
| PCs     | <i>Principal Component</i>                                                               |
| PME     | Pectinametilesterase                                                                     |
| POD     | Peroxidase                                                                               |
| PPO     | Polifenol oxidase                                                                        |
| SCOBY   | <i>Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast</i>                                           |
| TROLOX  | <i>6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid</i>                            |
| VIGITEL | Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico |

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                     |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>INTRODUÇÃO .....</b>                                                                                                                             | <b>13</b> |
| <b>OBJETIVOS .....</b>                                                                                                                              | <b>14</b> |
| Objetivo Geral .....                                                                                                                                | 14        |
| Objetivos Específicos.....                                                                                                                          | 14        |
| <b>ESBOÇO DA PESQUISA .....</b>                                                                                                                     | <b>15</b> |
| <br>                                                                                                                                                |           |
| <b>CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>                                                                                                      | <b>16</b> |
| 1.1 DEFINIÇÃO E HISTÓRICO DOS <i>SMOOTHIES</i> .....                                                                                                | 16        |
| 1.2 DADOS ESTATÍSTICOS SOBRE O MERCADO DE <i>SMOOTHIES</i> .....                                                                                    | 17        |
| 1.3 TIPOS DE <i>SMOOTHIES</i> .....                                                                                                                 | 18        |
| 1.4 LEGISLAÇÃO NACIONAL E INTERNACIONAL.....                                                                                                        | 18        |
| 1.5 IMPORTÂNCIA NUTRICIONAL DOS <i>SMOOTHIES</i> .....                                                                                              | 20        |
| 1.6 PROCESSAMENTO DE <i>SMOOTHIES</i> .....                                                                                                         | 23        |
| 1.7 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS .....                                                                                                                  | 25        |
| 1.8 FERMENTAÇÃO ACÉTICA .....                                                                                                                       | 26        |
| 1.9 KOMBUCHA .....                                                                                                                                  | 28        |
| 1.9.1 Definição e Histórico da Kombucha .....                                                                                                       | 28        |
| 1.9.2 Microrganismos da Kombucha .....                                                                                                              | 29        |
| 1.9.3 Composição Química .....                                                                                                                      | 30        |
| 1.9.4 Processamento da Kombucha .....                                                                                                               | 30        |
| 1.9.5 Benefícios e Riscos à Saúde Humana .....                                                                                                      | 32        |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                                                                                                             | <b>39</b> |
| <br>                                                                                                                                                |           |
| <b>CAPÍTULO 2 – <i>SMOOTHIES</i> BRASILEIROS: PERFIL DO CONSUMIDOR,<br/>COMPOSIÇÃO QUÍMICA, COMPOSTOS BIOATIVOS E DESCRIÇÃO<br/>SENSORIAL .....</b> | <b>46</b> |
| 2.1 INTRODUÇÃO .....                                                                                                                                | 46        |
| 2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....                                                                                                                         | 47        |
| 2.2.1 Material.....                                                                                                                                 | 47        |
| 2.2.2 Químicos .....                                                                                                                                | 48        |
| 2.2.3 Métodos.....                                                                                                                                  | 48        |
| 2.2.3.1 Perfil de consumo dos smoothies .....                                                                                                       | 48        |
| 2.2.3.2 Análises físico químicas .....                                                                                                              | 49        |

|         |                                                                       |           |
|---------|-----------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.2.3.3 | Análise cromatográfica de açúcares .....                              | 49        |
| 2.2.3.4 | Parâmetros de cor .....                                               | 50        |
| 2.2.3.5 | Análise de viscosidade .....                                          | 50        |
| 2.2.3.6 | Perfil de compostos fenólicos .....                                   | 51        |
| 2.2.4   | Análise de Carotenoides .....                                         | 51        |
| 2.2.5   | Atividade Antioxidante <i>in vitro</i> .....                          | 52        |
| 2.2.6   | Análise do Perfil Sensorial por <i>Flash profile</i> .....            | 52        |
| 2.2.7   | Análise Estatística .....                                             | 53        |
| 2.3     | RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                                          | 53        |
| 2.3.1   | Perfil de Consumo dos <i>Smoothies</i> .....                          | 53        |
| 2.3.2   | Características dos <i>Smoothies</i> Brasileiros .....                | 55        |
| 2.3.3   | Composição Química de <i>Smoothies</i> .....                          | 58        |
| 2.3.4   | Descrição Sensorial dos <i>Smoothies</i> Comerciais Brasileiros ..... | 66        |
| 2.4     | CONCLUSÃO .....                                                       | 68        |
|         | <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                               | <b>69</b> |

### **CAPÍTULO 3 - DESENVOLVIMENTO DE UM SMOOTHIE FERMENTADO PELOS MICRORGANISMOS DA KOMBUCHA .....**

|          |                                                                            |    |
|----------|----------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.1      | INTRODUÇÃO .....                                                           | 73 |
| 3.2      | MATERIAL E MÉTODOS .....                                                   | 75 |
| 3.2.1    | Material .....                                                             | 75 |
| 3.2.2    | Químicos .....                                                             | 76 |
| 3.2.3    | Métodos .....                                                              | 76 |
| 3.2.3.1  | Planejamento de misturas para o <i>smoothie</i> .....                      | 76 |
| 3.2.3.2  | Análise sensorial das misturas planejadas .....                            | 77 |
| 3.2.3.3  | Fermentação do <i>smoothie</i> .....                                       | 77 |
| 3.2.3.4  | Análises físico-químicas .....                                             | 78 |
| 3.2.3.5  | Perfil de açúcares .....                                                   | 78 |
| 3.2.3.6  | Análise de fibras .....                                                    | 79 |
| 3.2.3.7  | Parâmetros de cor .....                                                    | 79 |
| 3.2.3.8  | Análise de viscosidade aparente .....                                      | 79 |
| 3.2.3.9  | Perfil de compostos fenólicos .....                                        | 80 |
| 3.2.3.10 | Análise de carotenoides .....                                              | 79 |
| 3.2.3.11 | Compostos fenólicos totais, ácido ascórbico e atividade antioxidante ..... | 80 |
| 3.2.3.12 | Análises microbiológicas .....                                             | 81 |

|          |                                                    |            |
|----------|----------------------------------------------------|------------|
| 3.2.3.13 | Análise de inibição da $\alpha$ -glucosidase ..... | 81         |
| 3.2.3.14 | Análise estatística.....                           | 82         |
| 3.3      | RESULTADOS E DISCUSSÃO.....                        | 83         |
| 3.4      | CONCLUSÃO.....                                     | 95         |
|          | <b>REFERÊNCIAS.....</b>                            | <b>95</b>  |
|          | <b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>                   | <b>101</b> |

|                     |                                                                                                                                                    |            |
|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>APÊNDICE A -</b> | <b>DESCRIÇÃO DOS <i>SMOOTHIES</i> UTILIZADOS NA PESQUISA</b>                                                                                       | <b>103</b> |
| <b>APÊNDICE B -</b> | <b>FORMULÁRIO DO PERFIL DO VOLUNTÁRIO DA ANÁLISE SENSORIAL DE <i>SMOOTHIES</i> COMERCIAIS.....</b>                                                 | <b>107</b> |
| <b>APÊNDICE C -</b> | <b>FORMULÁRIO DE DESCRIÇÃO DOS ATRIBUTOS PELOS VOLUNTÁRIOS DA ANÁLISE SENSORIAL DOS <i>SMOOTHIES</i> COMERCIAIS ..</b>                             | <b>109</b> |
| <b>APÊNDICE D -</b> | <b>FORMULÁRIO DE ORDENAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA OS ATRIBUTOS GERADOS PELOS VOLUNTÁRIOS NA ANÁLISE SENSORIAL DOS <i>SMOOTHIES</i> COMERCIAIS .....</b> | <b>111</b> |

## INTRODUÇÃO

Os *smoothies* surgiram na década de sessenta nos Estados Unidos da América (EUA). Consistem em bebidas saudáveis que auxiliam no aumento do consumo diário recomendado de frutas e hortaliças. Em muitos países, o consumo destes alimentos é substancialmente inferiores às orientações da OMS (Organização Mundial da Saúde) que recomenda de 400 a 600 gramas por dia. Países nos quais a população tem como base o hábito de ingestão frequente de frutas e hortaliças apresentam menor incidência de doenças crônicas.

No processamento do *smoothie* as frutas e hortaliças são processadas separadamente ou misturadas, podendo ser peneiradas ou não até a obtenção de uma bebida líquida com viscosidade variada conforme a sua formulação. Eles podem ser considerados como uma alternativa viável, “pronto para beber” e agradável sensorialmente para pessoas que não tem hábito de consumo de frutas e hortaliças frescas. Pode ser indicado também para as crianças e idosos que têm dificuldade de mastigação, assim como para as pessoas que não gostam das operações envolvidas no preparo de vegetais, tais como lavar, descascar e cortar.

O consumo de bebidas tipo *smoothie* aumentou significativamente nos Estados Unidos da América, Dinamarca, Inglaterra, Itália, França e Espanha. Este aumento foi impulsionado por fatores que incluem conveniência, portabilidade, sabor agradável e consciência/apelo de saúde entre os consumidores. Entretanto, em países como a Polônia, República Checa, Slovakia e Rússia são produtos pouco populares.

Apesar da história dos *smoothies* nos Estados Unidos da América ter forte influência dos sucos de frutas tropicais de países como o México e Brasil, o consumo nesses países também parece limitado e sem dados disponíveis sobre o conhecimento e perfil de consumo da bebida nessas populações.

Outra bebida que tem se destacado pelo potencial na saúde humana é a Kombucha. Apesar de existirem relatos de seu uso desde 220 a. C. no oriente, no ocidente seu consumo está se tornando popular e acessível há menos de 5 anos. Seu conteúdo de ácidos orgânicos e outros compostos funcionais formados durante a fermentação de chás são motivo de investigação em pesquisas *in vitro* e *in vivo*.

O desenvolvimento de produtos a base de frutas com atividade antioxidante e, em especial, com o diferencial apelo fermentado foram pouco exploradas até o presente momento. Portanto, o objetivo dessa pesquisa foi desenvolver um *smoothie* fermentado pelos microrganismos da kombucha contendo ingredientes que agregam funcionalidade e descrição sensorial condizente com o esperado para esse produto. A expectativa é que esse produto

possa ser útil para o consumidor que se beneficiará de um produto agradável sensorialmente e com o propósito de trazer benefícios a saúde devido o seu potencial nutricional e funcional. Além disso, a indústria poderá se beneficiar de um protocolo descritivo para a oferta de um produto inovador e moldado às expectativas dos exigentes consumidores do mercado de bebidas saudáveis.

## OBJETIVOS

### Objetivo Geral

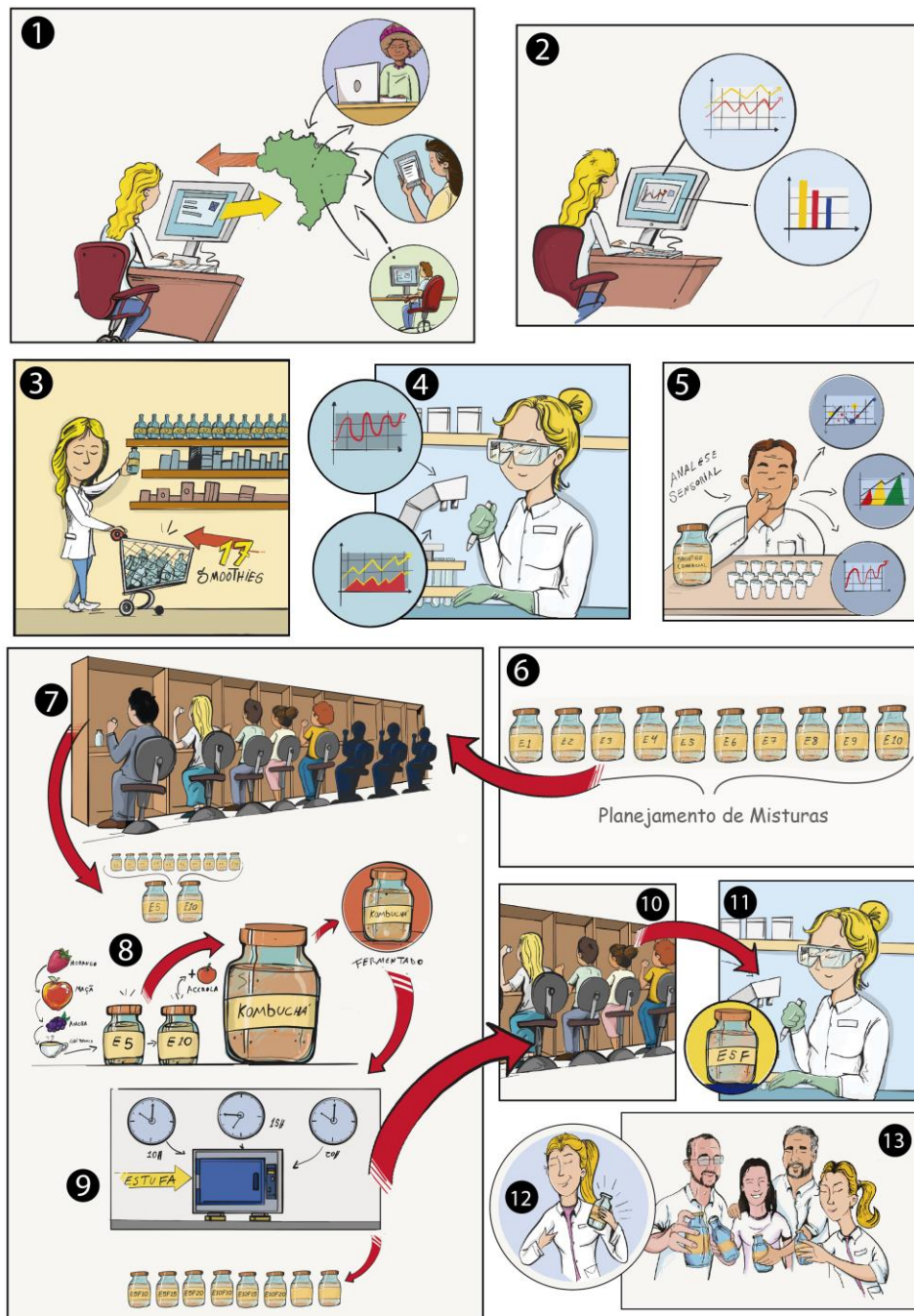
- *Desenvolver* um protocolo de produção de *smoothie* fermentado por microrganismos da Kombucha com base no perfil de consumo, na composição química, nos compostos bioativos e na descrição sensorial.

### Objetivos Específicos

- *Conhecer* o perfil de consumo de bebidas tipo *smoothies* no Brasil;
- *Caracterizar* a composição físico-química e instrumental dos principais *smoothies* comercializados no Brasil;
- *Fazer* a caracterização sensorial dos *smoothies* comerciais brasileiros;
- *Avaliar* o perfil fenólico dos *smoothies* comerciais brasileiros e das formulações desenvolvidas na presente pesquisa;
- *Avaliar* o efeito da fermentação por microrganismos da kombucha na composição físico-química e caracterização sensorial dos *smoothies* desenvolvidos;
- *Verificar* o potencial antioxidante e antiglicêmico dos *smoothies* desenvolvidos;
- *Descrever* o processo de desenvolvimento de um *smoothie* fermentado por microrganismos da kombucha.

## ESBOÇO DA PESQUISA

Figura 1 - Representação gráfica do processo de obtenção do *smoothie* fermentado proposto na pesquisa.



Fonte: A autora. Arte gráfica de Pablo Alejandro.

Nota: Pesquisa do perfil de consumo dos *smoothies* no Brasil através de questionário *on line*. 2. Tabulação dos dados da pesquisa de consumo em tabelas dinâmicas. 3. Seleção dos *smoothies* brasileiros líderes de mercado e análise do seu propósito. 4. Análises físico-químicas dos *smoothies* brasileiros selecionados. 5. Análise sensorial dos *smoothies* brasileiros selecionados, aplicada por equipe treinada. 6. Planejamento de misturas, feito com base nos dados obtidos nas etapas 1 a 5. 7. Análise sensorial das misturas planejadas, para selecionar as misturas a serem fermentadas. 8. Adição da Kombucha nas misturas que se destacaram na análise sensorial. 9. Fermentação das misturas durante diferentes tempos (10, 15 e 20 horas). 10. Análise sensorial das misturas fermentadas durante diferentes tempos. 11. Análises físico-químicas das misturas fermentadas que se destacaram sensorialmente. 12 e 13. Compilação dos dados para destacar as misturas com qualidade sensoriais e funcionais expressivas e simultâneas.

## CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1 DEFINIÇÃO E HISTÓRICO DOS *SMOOTHIES*

Derivado de ***smooth*** (batido/macio) com sufixo *ie* e pronúncia: \smu.ti\ \smu.fi\ *smoothie* pode ser definido como um produto espesso e úmido, geralmente composto apenas por frutas, podendo conter em menor proporções hortaliças e outros ingredientes misturados. Seu preparo envolve a quebra do parênquima da planta o que leva a uma solução dispersa em uma fase líquida (pectina e outros sólidos solúveis) e uma fase sólida contendo sólidos insolúveis representada pela parede celular da planta (RODRÍGUEZ-VERÁSTEGUI et al., 2016). A principal diferença entre *smoothies* e outras bebidas são as características de viscosidade e conteúdo de frutas. Smith et al. (2013) propõem que o conteúdo de frutas seja o melhor critério para caracterizar o produto como *smoothie*.

Estes produtos apresentam significativo valor nutritivo, estão prontos para o consumo, e representam uma saborosa alternativa às frutas frescas para aqueles que não as apreciam. Podem, por exemplo, ter indicação para crianças e pessoas idosas que possuem dificuldade na mastigação, mas também para aqueles que não gostam de consumir frutas devido às operações envolvidas em uma refeição como a higienização, descascar e cortar. Indica-se o seu consumo como substituto de uma refeição ou como uma sobremesa ou ainda com outros alimentos para fornecer um café da manhã ou um lanche (BAIANO; MASTROMATTEO; DEL NOBILE, 2012).

Classificadas como bebidas não-alcoólicas compostas pela mistura de vegetais, podem ser encontradas na forma processada ou elaboradas no momento para serem imediatamente consumidos. Alguns *smoothies* podem incluir outros ingredientes como iogurte, leite, sorvete, limão, água ou chá. Essa bebida tem consistência semelhante à de um *milk shake* que é mais espesso que a de uma vitamina.

Essas bebidas se tornaram uma tendência na área de refeições saudáveis e nutritivas servida em um copo. Suplementado de vitaminas e outros ingredientes funcionais, os “super *smoothies*” oferecem um incremento na alimentação e podem fazer parte de uma dieta para emagrecimento quando inseridos no planejamento alimentar para esse fim. Os *smoothies* são considerados a nova bebida e/ou refeição líquida para o futuro, pois são desenvolvidos para atender a um estilo de vida e consumidos por pessoas atentas ao sabor e informações em termos de alimentos naturais e qualidade de vida (JASA, 2016).

Na década de 1960 quando a alimentação macrobiótica surgiu nos EUA, os *smoothies* se tornaram populares e, na época, um dos itens mais solicitados nos cardápios eram os *smoothies* de sucos de frutas e vegetais como a cenoura. Califórnia, um dos locais de origem dessa tendência, adaptou os venerados *smoothies* a partir dos sucos de fruta dos vizinhos sul americanos. México e Brasil, conhecidos como países que tem frutas em abundância, e confeccionam sucos naturais há séculos com diferentes misturas e proporções delas (TITUS, 2000).

Em 1970 a primeira empresa que somente vendia *smoothies* foi inaugurada com o nome de *California smoothie*. O que difere dos *smoothies* atuais é que eles não tinham adição de leite ou creme, eram apenas suco de fruta, polpa de fruta e gelo. Na década de 1980 estes produtos eram consumidos em menor escala quando comparado com a década anterior. Na década de 1990 eles ressurgem como uma bebida “politicamente correta” fazendo parte do cardápio de pessoas com interesse em saúde motivados pelo “movimento *fitness*” daquela década. No ano 2000 os *smoothies* são considerados uma bebida exótica reconhecida por seus benefícios para a saúde em todo o mundo e vista como uma bebida funcional com benefícios diversos dependentes de sua formulação (TITUS, 2000).

## 1.2 DADOS ESTATÍSTICOS SOBRE O MERCADO DE SMOOTHIES

Enquanto os sucos de frutas estão perdendo mercado sob alvo das críticas relacionadas ao conteúdo de açúcares, os *smoothies* com formulações que tragam transparência relacionada a essa informação ganham espaço no setor de bebidas. Um dos fatores que influenciaram e continuarão influenciando o crescimento do mercado de dessas bebidas nos anos de 2016 até 2021 consiste no *marketing* focado em saúde e ao interesse do consumidor em ter lanches saudáveis (MINTEL GROUP, 2016).

O mercado para novos *smoothies* no mundo está estimado na produção de 4 milhões de litros ao ano segundo dados do grupo de pesquisa de mercado Mintel. Um elevado crescimento ocorreu na Irlanda com taxa de 214% entre 2002 e 2006 (MINTEL GROUP, 2016). Estimativas indicam que o setor mundial de bebidas tipo *smoothie* pode alcançar \$17 bilhões até o ano de 2024, sendo 45,7% desse valor gerado pelos Estados Unidos da América; 9,1 % pela Ásia e o restante desse montante dividido entre outras regiões do mundo (GLOBAL, 2019).

Em 2018 o mercado dos *smoothies* alcançou 11 bilhões de dólares impulsionado por fatores que incluem conveniência, portabilidade, sabor agradável e consciência/apelo de saúde entre os consumidores norte-americanos (GLOBAL, 2019).

Na Europa são mais conhecidos e consumidos em países como a Itália, França e Espanha. Entretanto, em países como a Polônia, República Checa, Slovakia e Rússia ainda são produtos pouco difundidos e consumidos em especial devido ao seu preço (TELESZKO; WOJDYLO, 2014).

### 1.3 TIPOS DE SMOOTHIES

Alinhados com o desejo de consumir produtos saudáveis os consumidores demandam por alimentos práticos e com aparência, sabor e odor frescos (KEENAN et al., 2011). O Quadro 1 traz uma classificação dos *smoothies* segundo Titus (2000) que divide os *smoothies* em categorias de acordo com os ingredientes e modo de preparo e de consumo da bebida.

Quadro 1 - Classificação dos *smoothies* de acordo com as características da matéria prima e tecnologia de processamento.

| Características                                                                       | Classificação dos <i>smoothies</i> |             |               |               |
|---------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|-------------|---------------|---------------|
|                                                                                       | <i>Platinum</i>                    | <i>Gold</i> | <i>Silver</i> | <i>Bronze</i> |
| Feito na hora de servir com ingredientes (frutas, verduras, chás, etc.) frescos       |                                    |             |               |               |
| Usa suco fresco extraído na hora do preparo                                           |                                    |             |               |               |
| Ingredientes são orgânicos                                                            |                                    |             |               |               |
| Usa frutas sazonais ou 100% polpa de fruta congelada e 100% suco de fruta concentrado |                                    |             |               |               |
| Feito com um <i>mix</i> pré-preparado ou outra base para <i>smoothie</i> 100% natural |                                    |             |               |               |

Fonte: Titus (2000)

### 1.4 LEGISLAÇÃO NACIONAL E INTERNACIONAL

*Smoothies* não possuem legislação específica e por esse motivo as resoluções que regem os sucos são também utilizadas para estas bebidas, seguindo o princípio de semelhança. O Quadro 2 detalha a legislação aplicada para sucos, para microrganismos adicionados em alimentos e para novos produtos. Assim sendo, os produtos sob a legislação brasileira deverão seguir as normas estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Quadro 2).

Quadro 2 - Legislação aplicada para sucos, microrganismos adicionados em alimentos e novos produtos.

| Legislação                                    | Estados Unidos                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Europa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Brasil                                                                                                                                                                                                                                   |
|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Sucos</b>                                  | A <i>Food Safety Modernization Act</i> do FDA (FSMA) estabelece padrões mínimos para a colheita, embalagem, e processamento de frutas e legumes cultivados para consumo humano. Em 19/01/2001, o FDA publicou uma regra final no <i>Federal Register</i> que requer dos processadores de suco desenvolver e implementar sistemas HACCP para as suas operações de processamento (66 FR 6138). | Directiva 2001/112/CE de 20/12/2001 relativa aos sumos de frutos e determinados produtos similares destinados à alimentação humana                                                                                                                                                                                                            | As bebidas são regulamentadas pela Lei n. 8.918, de 14/07/1994, do MAPA, e regida pelo Decreto n. 2.314, de 4/09/1997, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. |
| <b>Microrganismos adicionados a alimentos</b> | Alimento necessita ser reconhecido como <i>Generally Recognized as Safe</i> (GRAS). Um alimento GRAS é geralmente certificado por especialistas do FDA, os quais o qualificam como adequado ou não para ser seguro nas condições de seu uso pretendidas pelos produtores do alimento.                                                                                                        | Cultura de microrganismos em alimentos são considerados ingredientes e devem satisfazer os requisitos legais do Regulamento CE n. 178/2002 e a responsabilidade pela utilização segura de microrganismos em alimentos deve ser assegurada pelos fabricantes de alimentos.                                                                     | Resolução RDC n. 2, de 7/01/2002. O Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de propriedades Funcional e ou de Saúde.                                                                            |
| <b>Novos Alimentos</b>                        | Alimentos funcionais não são uma categoria especial de alimentos. Eles são regulamentados na <i>US Food and Drug Administration</i> (FDA) de acordo com o seu apelo funcional, o qual deve ser comprovado e então poderá usar esse apelo ou <i>claim</i> em sua embalagem.                                                                                                                   | Regulamento (CE) n. 258/97 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 27/01/1997 relativo a novos alimentos e ingredientes alimentares. São aqueles que ainda não são atualmente utilizados para o consumo humano. Dentre as categorias listadas estão os alimentos e ingredientes alimentares que consistem em microrganismos, fungos ou algas. | Resolução n. 16 e n. 19, de 30/04/1999, alimentos com alegações de propriedade funcional e ou de saúde e de substâncias bioativas isoladas ou probióticos (Resolução RDC n. 2, de 07/01/2002).                                           |

Fonte: Bourdichon et al. (2012); Brasil (1999a; 1999b; 1999c; 2002); FDA (2011); Council (1997; 2001; 2002).

## 1.5 IMPORTÂNCIA NUTRICIONAL DOS *SMOOTHIES*

As frutas e hortaliças, principais componentes dos *smoothies*, contêm níveis significantes de componentes biologicamente ativos que conferem benefícios à saúde, aumentando a capacidade antioxidante do plasma. O consumo de frutas e hortaliças tem sido associado com a baixa incidência e baixo índice de mortalidade causada por doenças crônicas. Estes benefícios são provenientes, principalmente, dos polifenóis (VIJAYA; VIJAYENDRA; REDDY, 2015; COSTA et al., 2017; BEVILAQUA et al., 2018).

A pesquisa Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel) feita pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2017) entrevistou 40.853 brasileiros e trouxe dados de que somente 1 em cada 3 brasileiros tem o hábito de consumir frutas e hortaliças em 5 ou mais dias da semana. A recomendação diária de frutas e hortaliças proposta pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 2003) é de 400 a 600 gramas desse grupo alimentar ao dia. O baixo consumo pode estar associado a fatores econômicos, educacionais e a transição nutricional que cedeu espaço de alimentos naturais a alimentos industrializados e de consumo rápido. Ao mesmo tempo, observa-se um movimento contrário crescente com a procura por um estilo de vida saudável aliado à demanda de alimentos de conveniência, mas com apelo saudável (VIJAYA; VIJAYENDRA; REDDY, 2015). Confirma-se esse fato com a descrição do consumidor feita no *Brazil Food Trends 2020* (FIESP; ITAL, 2010) o qual cita que as tendências para área de alimentos estão focadas no neo-consumidor que procura por alimentos que tenham como característica agregada a sensorialidade e prazer, saudabilidade e bem estar, conveniência e praticidade, confiabilidade e qualidade, sustentabilidade e ética.

Os consumidores de *smoothies* não somente procuram por sabor, mas consomem essa bebida devido ao seu propósito. *Smoothies* com propósito foi o que impulsionou o surgimento e expansão da primeira franquia de *smoothies* do mundo no ano de 1973 por Steve Kuhnau. Esse empresário tinha como missão, através da manipulação nutricional de seus *smoothies*, auxiliar as pessoas a alcançar seus objetivos de saúde com bebidas que agregavam prazer e sabor. O mesmo desenvolveu e disponibilizou a venda formulações com nomes que remetiam ao objetivo do consumidor. Por exemplo, o *smoothie* de nome “Gladiator®” com um conteúdo duas vezes maior de proteína em relação aos demais *smoothies* devido esse ter um propósito de fornecer mais proteína para praticantes de exercícios físicos (TITUS, 2000).

O propósito da bebida ainda é o que norteia formulações inovadoras de marcas líderes de mercado como a Innocent (*Coca Cola Company*®) que divulga os benefícios de

seus lançamentos como “*Smoothies with a boost*” ou “*super smoothies*” devido aos benefícios agregados pela seleção criteriosa de ingredientes com propósitos específicos.

Um propósito já bem definido para *smoothies* é que eles podem ser uma solução prática e adequada para contribuir com o aumento do consumo de frutas e hortaliças pela população. A base da bebida é composta por vegetais (frutas, verduras, legumes) e portanto, expressam na sua composição química e nutricional a somatória das características dos ingredientes que as compõem. O pH destas bebidas geralmente é ácido, podendo variar de 3 a 5, e dependente dos ácidos orgânicos presentes nos vegetais e efeito tamponante dos ingredientes da formulação. Quanto aos macro nutrientes destaca-se o conteúdo de carboidratos digeríveis e não digeríveis. Em média podem apresentar 10 gramas de carboidratos em 100 mL do produto ou mais. Em relação aos açúcares as frutas contribuem, em ordem decrescente, com os teores de frutose, sacarose e glucose no produto.

O conteúdo de fibras dos *smoothies* é uma característica de destaque devido os produtos não serem filtrados, pois é característico desse tipo de bebida passar por poucas operações unitárias, mantendo-os o mais próximo possível do natural. Alguns fabricantes ressaltam na embalagem e em materiais de divulgação, o considerável conteúdo de fibras e quantidade de frutas (em unidade) em uma porção de 250 mL do produto que pode chegar a contribuir em até duas das 5 porções de vegetais recomendada por programas de saúde como o *Five a day* (IARC, 2003). Outros ingredientes que colaboram para esse conteúdo e para o apelo funcional da bebida são os frutooligosacarídeos (FOS) e os cereais integrais que podem estar presentes em formulações e incrementar a quantidade de fibras na porção da bebida.

Em *smoothies* a base de frutas a quantidade proteica geralmente é baixa e não considerável. O aumento do conteúdo de proteínas é dependente da adição de proteínas provenientes de leite, iogurte e/ou isolados proteicos como a proteína isolada do soro de leite, o colágeno hidrolisado e/ou de isolados proteicos vegetais (da ervilha, do arroz, da quinoa, entre outros).

Alguns ingredientes como abacate, açaí, cupuaçu, grãos e sementes oleaginosas podem contribuir para a composição lipídica do produto. Fontes vegetais fornecem gorduras mono e poli-insaturadas. A gordura saturada quando presente em geral vem de ingredientes de fonte animal como o leite e seus derivados, mas o coco e o amendoim quando presente na formulação também podem adicionar esse macronutriente na informação nutricional.

Em relação aos micronutrientes as vitaminas e minerais de destaque serão aqueles que o ingrediente que estiver em maior proporção na formulação irá expressar, em combinação com os demais ingredientes da bebida. Considerando a termolabilidade de

vitaminas e minerais, os *smoothies* feitos na hora poderão ter composição diferente daqueles que passaram por algum tratamento térmico (KEENAN et al., 2011).

Os antioxidantes provenientes da dieta são componentes biologicamente ativos que aumentam a capacidade antioxidante do plasma e os *smoothies* podem ser considerados boas fontes desses. Müller et al. (2010) determinaram a atividade antioxidante em 14 amostras de *smoothies* comerciais e 8 purês de frutas na Alemanha e encontraram valores de 0,34 a 1,28 mmol TE/100 g para ABTS. O *smoothie* de maior valor era composto por tipos diferentes de 9 frutas e vegetais, sendo o purê de maçã o ingrediente principal (31%), fruta já conhecida por seu potencial antioxidante (ZARDO et al., 2013).

A presença natural de peroxidase (POD) e polifenol oxidase (PPO) e pectinametilesterase (PME) entre outras, causam a perda de compostos fenólicos, modificações na cor e na viscosidade resultando em mudanças nutricionais e sensoriais (CHAKRABORTY et al., 2014).

Keenan et al. (2011) hipotetizaram que a homogeneização dos *smoothies* e algum componente individual, como, por exemplo, frutas que contém uma alta concentração de polifenóis oxidases pode deixar oxigênio e enzimas oxidantes intracelulares em direto contato com compostos antioxidantes, levando a um rápida auto-oxidação desses compostos bioativos nativos. Portanto, é objeto de estudo de um expressivo volume de pesquisas (WALKLING-RIBEIRO et al., 2010; KHANDPUR; GOGATE, 2015; ANDRÉS; VILANUEVA; TENORIO; 2016; CONEGERO et al., 2017; ADIAMO et al., 2018) técnicas que auxiliem na preservação dos nutrientes e compostos bioativos dessa bebida ao longo do seu prazo de validade. Isso ainda é um desafio para os fabricantes, pois trata-se de um produto que deve preservar características sensoriais de produtos frescos e naturais e com frequência os métodos convencionais, em especial a pasteurização podem interferir na qualidade nutricional e sensorial dessas bebidas.

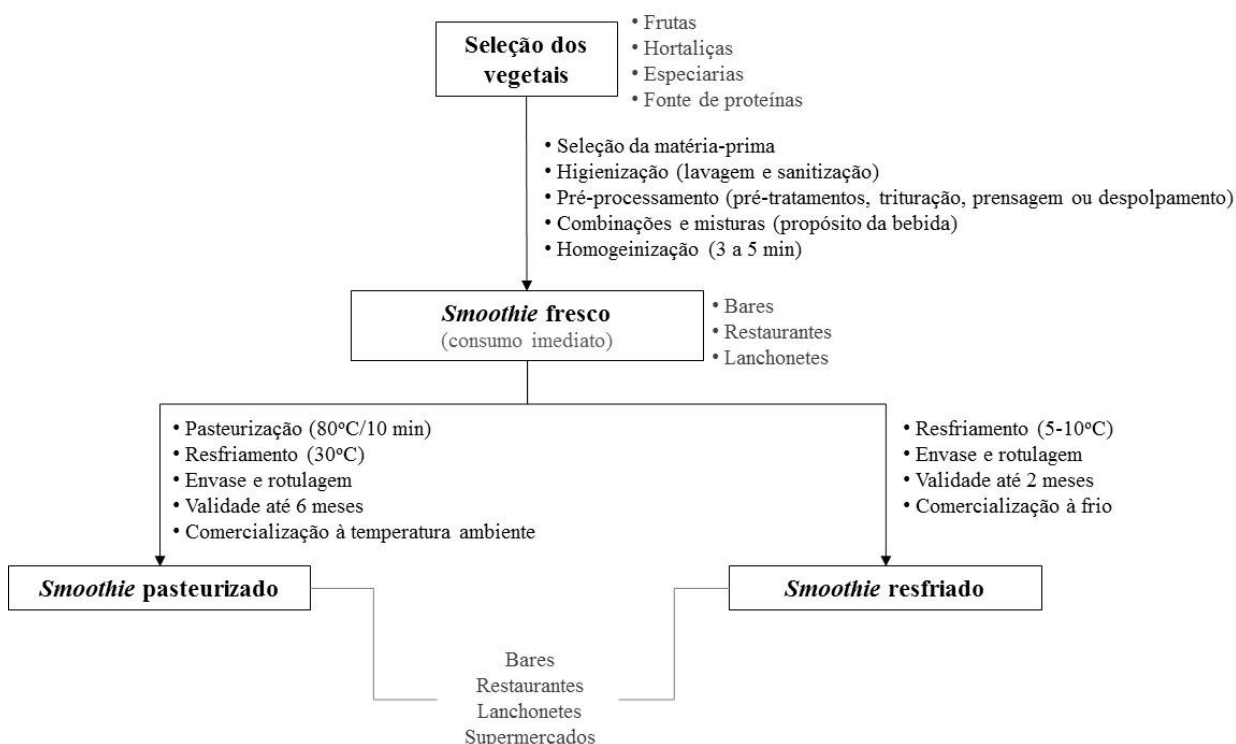
Khandpur e Gogate (2015) aplicaram ultrassom e radiação ultravioleta em sucos de laranja, limão, cenoura e espinafre e compararam com a pasteurização a 80° C durante 10 minutos em relação à qualidade nutricional. Ultrassom e ultravioleta, assim como a combinação dos dois métodos foram satisfatórias e superiores a pasteurização em relação a manter o conteúdo nutricional (fibras, ácido ascórbico e fenóis totais) durante 18 dias em condições refrigeradas, em especial nas amostras no qual foi aplicado somente ultrassom (100 W durante 15 minutos em 250 mL de bebida) não combinado com ultravioleta. Adiamo et al. (2018) aplicaram a termo a sonicação em 125 mL de bebida a base de cenoura e laranja

durante 5,04 minutos a 59,99 °C e obtiveram o máximo de fenóis totais (28,94 mg GAE/100 mL) e de atividade de DPPH (55,87%).

## 1.6 PROCESSAMENTO DE SMOOTHIES

O processamento de *smoothies* envolve poucas etapas devido à tendência de redução das operações unitárias em produtos com apelo saudável (Figura 2). A seleção de matérias primas dos *smoothies* é a etapa mais crucial para a qualidade do produto final e é feita essencialmente com base no propósito dessa bebida. Delineamentos experimentais podem direcionar a proporção dos ingredientes. Entretanto, a seleção das partes que compõem o delineamento demanda pesquisa e planejamento. A mistura final deve fornecer um produto que seja, simultaneamente, saboroso, nutritivo e que atenda às demandas do exigente público consumidor dessa bebida. Na maioria dos casos a seleção da mistura é baseada na cor, sabor, textura, e especialmente para evidenciar a alta concentração de nutrientes com baixo valor energético (WALTZL, 2008).

Figura 2 - Fluxograma do processamento de *smoothies*.



Fonte: Adaptado de: TIWARI, U. Production of fruit based smoothies. In: RAJAURIA, G.; TIWARI, B. **Fruit juices: extraction, composition, quality and analysis**. London: Elsevier, 2018. Chap. 1, p. 261-278.

A higienização dos ingredientes deve ser aplicada conforme as boas práticas de manipulação de alimentos e o pré-preparo envolve descascar, retirar sementes, cortar e/ou transformar a matéria prima em polpas ou purês antes de serem adicionados (Figura 2).

A homogeneização é dependente da escala de produção podendo ser feita em misturadores industriais, semi-industriais e domésticos como *mixer* com tempo mínimo de 3 minutos para a completa interação entre os ingredientes. A separação de fases pode ser um problema quando os ingredientes apresentam fraca interação. Com esse propósito muitas formulações são adicionadas ou são a base de banana, uma fruta que confere características de corpo em soluções (NGWANG, 2015). Outros ingredientes como a carboxi metil celulose (1 a 1,5 %) e/ou fibra de maçã (12,5 g em 300 mL) (SUN-WATHERHOUSE et al., 2014), *Aloe vera* (10 % w/w) (DI CAGNO et al., 2011) e purês de frutas e/ou goma acácia podem ser adicionados em variáveis proporções (NUNES et al., 2016). A bebida deve apresentar característica de frescor e saudabilidade, portanto o uso de aditivos artificiais é descartado.

A pasteurização pode garantir um produto estável por até 30 dias (KEENAN et al., 2011), mas é um ponto delicado, pois a alta temperatura altera as características sensoriais do produto podendo conferir sabor de cozido, interferir na vivacidade da cor e separação de fases, além de afetar o valor nutricional do produto devido perdas nos nutrientes termolábeis.

A opção por não pasteurizar encurta a vida útil do produto devido ao ambiente propício ao desenvolvimento de microrganismos. Pesquisadores têm aplicado novas tecnologias como a alta pressão, campo elétrico pulsado e liofilização para a bebida ser reconstituída antes de ser ingerida (WALKLING-RIBEIRO et al., 2010; ANDRÉS; VILANUEVA; TENORIO, 2016; CONEGERO et al., 2017).

A escolha da embalagem tem relação também com o tempo de armazenamento. Grande parte dos fabricantes opta pela embalagem de vidro devido ser material inerte e biodegradável, porém há dificuldade na logística do produto devido ao peso e volume que dificultam o transporte e armazenamento. A embalagem *cheer pack*, em conjunto com a pasteurização, pode estender a vida útil por até 6 meses, reduz problemas logísticos, mas não tem apelo sustentável e de material inerte como as embalagens de vidro. Alguns fabricantes da embalagem *cheer pack* encaminham seus resíduos para a fabricação de madeiras compostas objetivando reduzir o impacto ambiental dessas, fato também considerado pelos atentos e exigentes consumidores de *smoothies* (NUNES et al., 2016).

## 1.7 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS

*Smoothies* podem apresentar naturalmente bactérias e fungos capazes de se desenvolver em meio ácido provenientes do solo ou da microbiota do vegetal. As estratégias de controle microbiológico incluem a prevenção da contaminação por psicrótroficas, bolores e leveduras (JAYACHANDRAN et al., 2015).

O  $\text{pH} \leq 5$  pode inibir o crescimento da maioria dos esporos, mas podem se manter viáveis alguns microrganismos ácido tolerantes como as leveduras, bactérias ácido lácticas (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* e *Streptococcus*), *Alicyclobacillus acideoterrestris*, *Listeria monocytogenes*, algumas espécies de *Salmonella* e cepas de *E. coli* (GRAM et al., 2002; JAYACHANDRAN et al., 2015 apud FERNANDEZ et al., 2018). *Listeria innocua* quando a formulação tem leite nos seus ingredientes é um ponto crítico de controle (PALGAN et al., 2012).

A vida útil de *smoothies* pode ser em média 20 a 30 dias em refrigeração. Nunes et al. (2016) avaliaram 16 formulações comerciais de *smoothies* em Portugal, e perceberam que os compostos bioativos da bebida e a atividade antioxidante verificada ao longo do tempo de estocagem decresce, mas não é afetada pela proporção de ingredientes, formulação e nem por diferentes tipos de embalagem. Entretanto, sugerem que para o consumidor ter acesso a atividade bioativa dessa bebida, que consumo seja feito até o 21º dia após a fabricação.

O controle microbiológico com métodos que não reduzam ou até mesmo melhorem o potencial nutricional e funcional de *smoothies* é alvo constante de pesquisas e podem incluir tratamentos elétricos não termal, alta pressão, ultrassom, radiação, gás inerte, plasma frio, e processamento em membranas que podem ser, em alguns casos, tratamentos individuais ou combinados, entretanto a maioria deles, exceto o tratamento de alta pressão, ainda tem limitações para a aplicação em escala industrial, ficando restrito à aplicação laboratorial (BEVILACQUA et al., 2018).

Andrés, Vilanueva e Tenorio (2016) estudaram a influência da alta pressão (entre 450 e 650 MPa) na vida útil do produto monitorando o desenvolvimento de enterobactérias, fungos, leveduras e *Listeria* sp., além da composição físico-química e sensorial e encontraram que essa tecnologia pode estender a vida útil de *smoothies* por até 45 dias quando mantidos a 45°C e preservou as características sensoriais quando comparado à *smoothies* tratados termicamente.

A fermentação ácido láctica de *smoothies* com cultura *starter* autóctona foi proposto por Di Cagno et al. (2013) como uma biotecnologia emergente de conservação e encontraram

que além de não apresentarem contaminação por leveduras e enterobactérias durante o período de estocagem, os microrganismos se mantiveram em contagem adequada para ser considerado um *smoothie* probiótico durante 30 dias a temperatura de 4°C.

## 1.8 FERMENTAÇÃO ACÉTICA

Fermentação, originada do latim da palavra *fervere* (fervura), foi definida por Louis Pasteur como “*La vie sans l'air*” (vida sem ar). De um ponto de vista bioquímico, fermentação é um processo metabólico de derivação de energia proveniente de compostos orgânicos sem o envolvimento de agente oxidante (BOURDICHON et al., 2012).

As características dos alimentos podem ser modificadas quando passam pelo processo de fermentação. A fermentação ácido láctica é considerada como uma simples e valiosa biotecnologia para manter e ou aumentar a segurança, valor nutritivo, sensorialidade e tempo de prateleira de frutas e hortaliças (DI CAGNO et al., 2013).

A segurança e redução do risco microbiológico de sucos de frutas, *smoothies* e purês para aumentar a vida de prateleira é ainda um desafio para a indústria de alimentos, os quais procuram por tratamentos alternativos como métodos termais e não termais para aumentar à aceitabilidade de produtos que não alterem os atributos sensoriais e os benefícios a saúde (TIWARI, 2018).

A fermentação acética, feita por bactérias resistentes aos ácidos, ocorre em alimentos e bebidas fermentados de forma natural ou com inóculo de cepas comerciais. Entretanto, existem poucas informações científicas sobre ocorrência e papel funcional em ecossistemas naturais de fermentação. O cultivo, isolamento e identificação das bactérias acéticas são difíceis, além disso, suas células estão frequentemente presentes em um estado viável, mas não cultivável. Portanto, torna-se promissor o uso de culturas iniciais comerciais para controlar melhor os processos de fermentação acética de alimentos conhecidos ou para produzir novos alimentos e bebidas fermentadas (DE ROOS; DE VUYST; 2018).

As bactérias acéticas são ácido tolerantes e comumente encontradas em plantas, flores e frutas. Seus substratos são carboidratos, álcoois de açúcar e/ou etanol que são consumidos e como consequência acidificam o meio a partir da produção de ácidos orgânicos. Essas podem utilizar os ácidos orgânicos acumulados para o seu crescimento quando seus substratos preferenciais não estiverem disponíveis. Algumas têm capacidade de produção de celulose e formam biofilmes que podem ter cultura na sua superfície e que são meios favoráveis para a cultura de bactérias estritamente aeróbicas (DE ROOS; DE VUYST; 2018).

A fermentação pode agregar as seguintes características aos alimentos: preservação do alimento através da formação de inibidores dos metabólitos como os ácidos orgânicos (ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico e ácido propiônico), etanol e bacteriocinas e sempre em combinação com o decréscimo da atividade de água que ocorre por drenagem ou uso de sal. Podem ainda aumentar a segurança alimentar quando inibem patógenos ou pela remoção de compostos tóxicos. Aumentam o valor nutricional do alimento e podem melhorar suas características organolépticas (ALTAY et al., 2013).

Para a seleção de *starters* a serem utilizados em alimentos fermentados Di Cagno et al. (2013) citam critérios pró tecnológicos, sensoriais e nutricionais que podem ser observados no Quadro 3.

Quadro 3 - Principais critérios e correspondentes características metabólicas para a seleção de *starters* para a fermentação de frutas e hortaliças

| <b>Crítérios</b> | <b>Características metabólicas</b>                  |
|------------------|-----------------------------------------------------|
| Pró tecnológico  | Taxa de crescimento                                 |
|                  | Taxa de acidificação                                |
|                  | Tolerância ao sal                                   |
|                  | Crescimento em baixos valores de pH                 |
|                  | Crescimento em baixa temperature                    |
|                  | Finalização da fermentação                          |
|                  | Fermentação malolática                              |
|                  | Tolerância aos fenóis                               |
|                  | Síntese de compostos antimicrobianos                |
|                  | Síntese de peróxido de hidrogênio                   |
|                  | Atividade pectinolítica                             |
| Sensoriais       | Metabolismo heterofermentativo                      |
|                  | Síntese de compostos aromáticos ou seus precursores |
| Nutricional      | Síntese de compostos biogênicos                     |
|                  | Síntese de exo polissacarídeos                      |
|                  | Aumento da atividade antioxidante                   |
|                  | Síntese de aminas biogênicas                        |

Fonte: Di Cagno et al. (2013).

A maior parte de produtos contendo bactérias com potencial para a melhora da saúde são os derivados do leite. Entretanto, há esforços contínuos para oferecer ao consumidor uma alternativa aos leites fermentados por bactérias lácticas. Os sucos de frutas, por serem boas fontes de nutrientes e de compostos bioativos, podem ser uma alternativa de meio para inóculo de microrganismos de diferentes classes (VALERO-CASES; FRUTOS, 2017).

## 1.9 KOMBUCHA

### 1.9.1 Definição e Histórico da Kombucha

Considerada uma bebida milenar e consumida especialmente na Ásia teve sua popularidade difundida por conta de seus prováveis efeitos benéficos à saúde associados ao seu consumo regular.

Segundo a Portaria n. 103, de 20 de setembro de 2018 no anexo II (BRASIL, 2018) a Kombucha é definida como sendo:

Bebida gaseificada, não pasteurizada, obtida através da respiração aeróbica e fermentação anaeróbica de um mosto composto de infusão de origem vegetal e açúcares por um consórcio de bactérias e leveduras simbióticas microbiologicamente ativas, resultando em uma bebida ácida e doce com pH entre 2,5 e 3,5 e acidez titulável mínima de 6% de acidez volátil mínima expressa em % de Equivalente grama de ácido acético, podendo ser adicionada de suco de fruta, mel, especiarias, aromas naturais e aditivos permitidos em legislação específica da ANVISA.

A origem da kombucha é incerta, os maiores indicativos são que a bebida surgiu por volta de 220 a.C. no nordeste da China (onde era conhecida como o chá da imortalidade) e em 414 d.C ocorreu a sua disseminização para o Japão como medicamento, e posteriormente, através de rotas comerciais para a Rússia e para a Europa Oriental. O nome kombucha é originado de uma crença oriental, pois acreditavam que a colônia simbiótica de microrganismos (SCOBY) responsável pela fermentação da bebida, era uma alga marinha denominada “kombu” e o sufixo “cha” foi usado devido aos chás oriundos da *Camellia sinensis* na Índia (GREENWALT et al., 2000; JAYABALAN et al., 2014).

A bebida fermentada tornou-se muito popular na Rússia, sendo consumido devido aos seus efeitos medicinais. Os primeiros relatos dos russos durante a Primeira Guerra Mundial diziam que a Kombucha era o remédio caseiro secreto dos russos, pois ajudava com dores de cabeça, doenças gástricas, e especialmente regulava as atividades intestinais frequentemente perturbadas pelo estilo de vida no exército. Durante a Segunda Guerra Mundial, o consumo da kombucha se estendeu para além da Rússia, para a Europa Ocidental e Norte da África (ALLEN, 1998, DUFRESNE; FARNWORTH, 2000; JAYABALAN, 2014).

Nessa bebida, o chá é fermentado por uma colônia constituída de bactérias acéticas, bactérias lácticas e leveduras em simbiose que impedem o crescimento de outros microrganismos (VITAS et al., 2013). Nesse meio, tem-se um biofilme flutuante ou camada celulósica na interface líquido-ar, muitas vezes chamado de cogumelo ou mãe da Kombucha ou SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) (CZAJA et al., 2006; JAYABALAN et al., 2014).

Sua funcionalidade tem sido atribuída em especial à presença dos fenóis dos chás e ao ácido glucurônico que demonstra potencial significativo nos processos metabólicos de detoxificação, além desse fazer parte da síntese de glucosamina, uma molécula que pode contribuir para a melhora de doenças articulares e ainda como um precursor na síntese de vitamina C (NGUYEN et al., 2015).

### 1.9.2 Microrganismos da Kombucha

A placa celulósica utilizada para a fermentação da bebida apresenta uma diversa composição microbiológica, devido a fatores determinantes como localização geográfica, clima, condições do ambiente e fonte do inóculo que influenciarão diretamente na composição microbiológica presente no SCOBY (WATAWANA et al., 2016a).

A bactéria predominante na colônia microbiológica fermentadora para a elaboração da Kombucha é a *Gluconacetobacter/Komagataeibacter xylinus*, sendo esta a responsável pela produção da película de celulose que forma o SCOBY. Outras bactérias presentes são *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*, *Acetobacter* e *Lactobacillus*. As leveduras são as responsáveis pela produção de sabor e aroma em produtos fermentados. Na Kombucha tem-se a mistura de leveduras, das quais juntas são responsáveis pelo perfil aromático e pelo sabor agri-doce característico. As principais leveduras encontradas são *Zygosaccharomyces* (84%), *Candida* (formadora de biofilme), *Kloeckera/Hanseniaspora*, *Torulaspora*, *Pichia* (5%), *Brettanomyces/Dekkera* (6%), *Saccharomyces*, *Lachancea*, *Saccharomycoides*, *Schizosaccharomyces* e *Kluyveromyces* (MARSH et al., 2014; CHAKRABORTY et al., 2016; COTON et al., 2017).

A Kombucha é considerada uma bebida altamente ácida, com pH próximo a 3, sendo este pH um fator de conservação contra microrganismos deteriorantes que em sua maioria não conseguem crescer abaixo de um pH 4,0. Enquanto microrganismos deteriorantes tem suas limitações, os fungos micotoxigênicos podem ter a capacidade de crescer no chá fermentado, estes fungos produzem metabólitos secundários com efeitos tóxicos e carcinogênicos. No

entanto, a Kombucha fermentada é considerada segura em relação à maioria dos contaminantes patogênicos quando preparado em condições controladas de higiene e temperatura (NUMMER, 2013).

### 1.9.3 Composição Química

A presença e a quantidade dos compostos químicos na Kombucha são variáveis. Mudanças em seus componentes químicos e microbianos assim como na sua bioatividade durante a fermentação podem acontecer dependendo da origem da colônia, do tipo de chá e açúcar utilizados como substrato, temperatura e tempo de fermentação, além dos métodos analíticos usados para identificação e quantificação (JAYABALAN; MARIMUTHU; SWAMINATHAN, 2007; DE FILIPPIS et al., 2018).

Diversas reações bioquímicas significativas ocorrem durante a fermentação da bebida. As células de leveduras presentes no SCOBY atuam na hidrólise da sacarose por ação de enzimas invertases, levando a formação de moléculas de glicose e frutose, que são convertidos em etanol e gás carbônico através de fermentação alcoólica por ação das leveduras. A formação de ácido glucônico, ácido acético, ácido glucurônico e celulose deve-se a atividade das bactérias acéticas nos produtos oriundos da hidrólise da sacarose, como também, nos produtos da fermentação alcoólica, sendo a *Acetobacter xylinum* a principal produtora desses constituintes. Bactérias lácticas também podem estar metabolicamente ativas e produzir ácidos orgânicos como o ácido lático (REISS, 1994; TEOH et al., 2004; JAYABALAN et al., 2014).

O produto pós-fermentação é caracterizado pela presença de ácidos orgânicos, açúcares, gás carbônico, vitaminas do complexo B e a vitamina C, polifenóis, fibras, minerais, e íons como o ferro e o iodo (JAYABALAN et al., 2014; VILLARREAL-SOTO et al., 2018).

### 1.9.4 Processamento da Kombucha

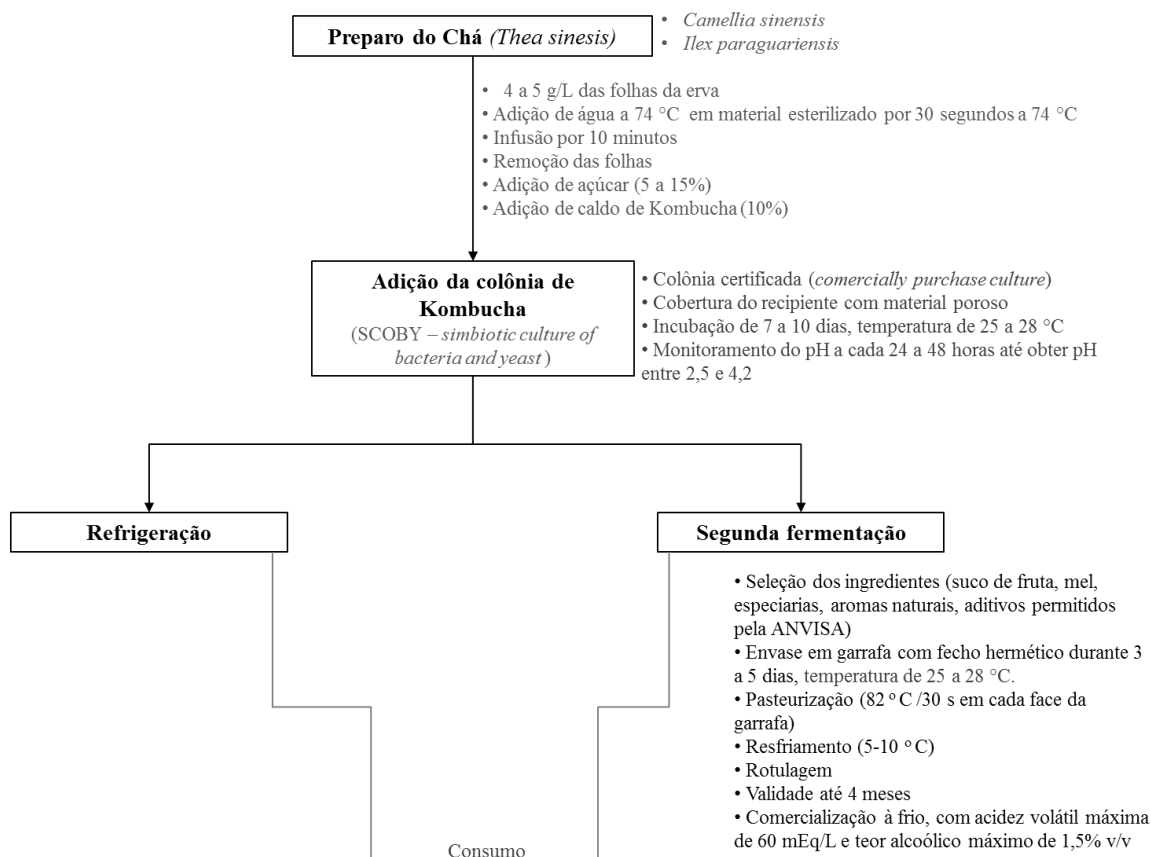
A Kombucha tradicional é preparada a partir da fermentação de chás verdes ou pretos com adição de açúcar, mas não é necessário se limitar apenas aos chás. Estudos vêm avaliando a atividade biológica em Kombucha a base de outros produtos, como sucos e chás de diferentes variedades (VILLARREAL-SOTO et al., 2018).

Com relação ao tempo de fermentação, normalmente varia de 7 a 60 dias, porém com 15 dias se obtém melhores resultados em relação ao sabor. A produção de ácidos orgânicos se torna mais intensa quanto maior o tempo de fermentação, o que acaba sendo prejudicial para consumo direto (CHU; CHEN, 2006).

A temperatura de fermentação da Kombucha fica em torno de 22 e 30° C. A acidez da Kombucha deve ficar entre 4 a 5 g/L para se obter uma bebida agridoce. O pH é um parâmetro de grande influência na produção da Kombucha, pois interfere na atividade biológica (HUR et al., 2014). Têm-se risco significativo de um potencial crescimento de patógenos resistentes aos ácidos formados durante a fermentação. Para que isso não ocorra, o pH deve ser continuamente monitorado e registrado para garantir que o pH reduza de forma adequada de 5 para 4,2 dentro dos sete dias. Se o pH não atingir 4,2 dentro deste prazo após a cultura, e depois ir a ponto final em torno de 2,5 é uma indicação de cultura contaminada ou temperatura de fermentação inferior ao ideal. *Clostridium perfringens* e *Bacillus cereus* não crescem bem a  $\text{pH} \leq 5$ . *Clostridium botulinum* pode crescer até pH 4,7. A adição de uma cultura de fermentação ativa poderá impedir o crescimento de esporos (NUMMER, 2013).

Segundo o Protocolo da FDA (NUMMER, 2013), algumas medidas preventivas devem ser tomadas para que se tenha uma maior segurança com relação ao preparo da Kombucha (Figura 3), como: (1) Utilizar água com temperaturas superiores a 75 °C, para que se tenha a eliminação de patógenos; (2) Utilizar utensílios sempre limpos e higienizados, e de preferência o vidro que é mais fácil de ser esterilizado; (3) Utilizar a cultura de Kombucha adquirida comercialmente no primeiro uso e só reutilizá-la na ausência de sinais de mofo ou contaminações incomuns; (4) Quando o pH estiver abaixo de 2,5 não consumir a bebida. Pode-se corrigi-la adicionando um chá fresco para que o pH aumente até no máximo 4,2; (5) Não reutilizar Kombucha que apresente mofo como novo inóculo. Descartá-la imediatamente; (6) Não consumir mais do que 128 mL ao dia; (7) Pessoas com comprometimento imunológico não devem fazer o uso; e (8) Quando a mesma for industrializada, não deve conter informações alegando o efeito benéfico à saúde. O Fluxograma 3 detalha o processamento completo da Kombucha.

Figura 3 - Fluxograma do processamento de Kombucha



Fonte: Adaptado de: NUMMER, B. A. Special report: Kombucha brewing under the food and drug administration model food code: risk analysis and processing guidance. **Journal of Environmental Health**, v. 76, n. 4, p. 8-11, nov. 2013; BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria n. 103, de 20 de setembro de 2018. ed. 188, seção 1, p. 18.

Segundo Marsh et al. (2014), a fermentação é influenciada por fatores intrínsecos, como pH, natureza e composição do meio, e fatores extrínsecos, como temperatura, sistema operacional, taxa de cisalhamento no fermentador, oxigênio e gás carbônico dissolvido. Qualquer alteração nestes fatores modifica a característica do produto, tanto no aspecto sensorial quanto nutricional.

#### 1.9.5 Benefícios e Riscos à Saúde Humana

O chá, principal ingrediente da kombucha, sendo ele preto ou verde, apresenta benefícios a saúde do consumidor, podendo ser relacionado a benefícios contra tumores de pulmão, mama, útero, fígado, pâncreas, bexiga, rins e tumores do trato urinário (YOKOZAWA et al., 1998). Além de redução de risco de tumores, essa bebida pode ter relação contra risco de doenças cardiovasculares, como menores riscos de morte por doença

coronariana e menor incidência de acidentes vasculares cerebrais quando as pessoas consomem chá (TIJBURG et al., 1997). Tais efeitos benéficos apresentados pelos chás são devido a sua rica composição fenólica, em especial, os flavonoides e ácidos fenólicos (ZIELINSKI et al., 2014), fazendo com que tenha potencial antioxidante e com isso combata as espécies reativas de oxigênio, conseguindo assim, reduzir a interação destas espécies reativas com as células humanas. É uma maneira natural de reduzir os riscos de doenças, por isso se torna uma bebida atraente ao público. Os benefícios apresentados dessa podem ser também encontrados na bebida fermentada, além de benefícios extras oriundos do processo de fermentação (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000).

Os benefícios observados pela Kombucha se devem ao processo de fermentação que leva a produção de diferentes ácidos orgânicos, além da grande gama de microrganismos benéficos presentes que não estão disponíveis nos chás.

A Kombucha ainda pode apresentar atividade antiglicêmica e esta é mais representativa com uma progressão do processo fermentativo, ou seja, o conteúdo microbiológico presente pode desempenhar um papel importante no aumento da propriedade antidiabética na bebida (CHAKRABORTY et al., 2016). Diabetes mellitus (DM) é um distúrbio metabólico crônico, caracterizado por hiperglicemia, que constitui um grande problema de saúde pública em todo o mundo. A prevalência de DM está aumentando a taxas alarmantes, estimativas atuais indicam que aproximadamente 4% da população mundial sofre de DM, percentual que deverá atingir 5,4% em 2025 (KIM; HYUN; CHOUNG, 2006).

Diversas estratégias terapêuticas estão atualmente disponíveis para o tratamento desta desordem metabólica, incluindo a estimulação da secreção endógena de insulina, aumento da ação da insulina nos tecidos-alvo, inibição do amido na dieta e degradação lipídica e tratamento com hipoglicemiantes orais (BIRARI; BHUTANI, 2007). As limitações associadas a essas estratégias terapêuticas levaram a uma busca determinada por alternativas mais eficientes e rentáveis. Esta tendência foi ainda mais intensificada pelo aumento das dúvidas em torno da dieta atual e outros comportamentos de estilo de vida, juntamente com o crescente interesse em alimentos funcionais e nutracêuticos (METCALFE et al., 2010). Pesquisas citadas no Quadro 4 sugerem que a kombucha pode ter efeito biológico.

Quadro 4 - Seleção de pesquisas relacionadas à atividade antiglicêmica e outros efeitos biológicos da Kombucha (continua)

| Autores da pesquisa               | Objetivos da pesquisa                                                                                           | Detalhes da pesquisa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Principais achados da pesquisa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Bhattacharya; Gachhui; Sil (2013) | Investigar os efeitos antidiabéticos e antioxidantes da kombucha, em comparação com o chá preto não fermentado. | Experimental. Tipo e indução do DM: exposição dos ratos a aloxana. Parâmetros avaliados: peso corporal, insulina plasmática, glicemia de jejum, hemoglobina glicada, formação de produtos finais de peroxidação lipídica e teor de proteína carbonilada. Fragmentação do DNA e ativação da caspase-3 no tecido pancreático também foram monitorados. Os ratos diabéticos induzidos por aloxana receberam 150 mg de extrato liofilizado de kombucha / kg de peso corporal por 14 dias.                     | 1) Exposição à aloxana aumentou a peroxidação lipídica e formação de malondialdeídos e o teor de glutathione diminuiu. As atividades de enzimas antioxidantes também foram alteradas nos tecidos pancreático, hepático, renal e cardíaco dos animais diabéticos.<br>2) Pode melhorar a fragmentação do DNA e a ativação da caspase-3 no tecido pancreático de ratos diabéticos.<br>3) Potencial antidiabético significativo da kombucha, pois efetivamente restaurou as alterações fisiopatológicas induzidas pela aloxana.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Aloulou et al. (2012)             | Investigar e comparar os efeitos hipoglicemiantes e antilipidêmicos da kombucha e do chá preto.                 | Experimental. Os ratos diabéticos induzidos por aloxana receberam por via oral kombucha e chá preto na dose de 5 mL / kg de peso corporal por dia durante 30 dias, submetidos a jejum durante a noite e sacrificados no 31º dia da experiência. Medidas bioquímicas plasmáticas incluíram glicemia, colesterol, triglicérides, uréia, creatinina, transaminases, transpeptidase, lipase e amilase. Isolamento pancreático para análise histológica e medida das atividades de lipase e $\alpha$ -amilase. | 1) Em comparação com o chá preto, o chá de kombucha se destacou como inibidor das atividades de $\alpha$ -amilase e lipase no plasma e no pâncreas e um melhor supressor do aumento dos níveis de glicose no sangue.<br>2) Kombucha pode induzir um atraso acentuado na absorção de colesterol LDL e triglicérides e um aumento significativo no colesterol HDL.<br>3) A administração de kombucha induziu efeitos curativos atrativos em ratos diabéticos, particularmente em termos de funções do fígado e rim. Análises histológicas demonstraram que ela exerceu uma ação benéfica nos pâncreas e protegeu eficientemente as funções hepato-renais de ratos diabéticos, evidenciada por reduções significativas nas atividades de aspartato transaminase, alanina transaminase e gama-glamil transpeptidase no plasma, bem como em os conteúdos de creatinina e ureia. |

Quadro 4 - Seleção de pesquisas relacionadas à atividade antiglicêmica e outros efeitos biológicos da Kombucha (continuação)

| Autores da pesquisa               | Objetivos da pesquisa                                                                                                                                                       | Detalhes da pesquisa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Principais achados da pesquisa                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Dashti; Morshedi (2000)           | Comparar o efeito do chá preto e do Kombucha no nível de glicose no sangue em ratos diabéticos.                                                                             | Experimental. DM foi induzido em todos os ratos por 60 mg/kg de PC de Streptozotocina. Os animais diabéticos (com nível de glicose no sangue igual ou acima de 300 mg/dl) foram divididos igualmente em três grupos. Os animais do grupo 1 consumiram chá preto, do grupo 2 kombucha e do grupo 3 água fresca. As amostras de sangue foram obtidas de cada animal em 3, 7 e 15 dias após a indução diabética e os níveis de glicose nesses estágios em relação ao início da indução do DM e foram comparados com entre si. | <p>1) O nível de açúcar no sangue de ambos os ratos diabéticos consumindo chá preto e Kombucha diminuíram significativamente.</p> <p>2) O nível de açúcar no sangue do grupo controle permaneceu com níveis normais.</p> <p>3) Não houve diferenças significativas entre os grupos experimentais.</p> |
| Hiremat; Vaidehi; Mushtari (2002) | Estudar os efeitos do consumo de chá fermentado em pacientes diabéticos não dependentes de insulina.                                                                        | Experimental. O chá foi preparado por fermentação de chá preto (0,5%), decocção contendo açúcar (10%) com cultura simbiótica de uma levedura ( <i>Candida</i> sp. T. cepa) e uma bactéria ( <i>Acetobacter</i> sp. T. cepa) por quatro a cinco dias. Este chá foi dado a 24 indivíduos (faixa etária de 45 a 55 anos) na quantidade limitada de 60 ml por dia durante 90 dias.                                                                                                                                             | <p>1) Redução significativa no nível de açúcar no sangue em jejum (de 128 mg/dL para 103 mg/dL) e pós-prandial (165 mg/dL para 133 mg/dL) em 90 dias.</p> <p>2) Após 30 dias do consumo de chá fermentado a estabilização destes níveis de açúcar dentro da faixa normal também foi notada.</p>       |
| Hosseini et al. (2016)            | Comparar o efeito da kombucha preparado a partir do chá verde e do kombucha a partir do chá preto sobre o nível de glicose no sangue e perfil lipídico em ratos diabéticos. | Experimental. Os animais foram divididos aleatoriamente em cinco grupos: recebendo água (grupo 1 ou controle), chá verde (2), kombucha de chá verde (3), chá preto (4) e kombucha de chá preto (5). Uma taxa diária de 5 ml / kg por quatro semanas foi dada aos animais dos grupos 2, 3, 4 e 5. O nível de glicose e os perfis lipídicos foram medidos.                                                                                                                                                                   | <p>1) O nível de glicose sérica no grupo 3 foi significativamente menor do que no grupo 4.</p> <p>2) O grupo 3 apresentou aumento do nível de HDL e redução significativa nas concentrações médias de VLDL, colesterol total e triglicérides em comparação com outros grupos.</p>                     |

Quadro 4 - Seleção de pesquisas relacionadas à atividade antiglicêmica e outros efeitos biológicos da Kombucha (continuação)

| Autores da pesquisa    | Objetivos da pesquisa                                                                                                                                                                                    | Detalhes da pesquisa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Principais achados da pesquisa                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Zubaidah et al. (2019) | Comparar a atividade antidiabética <i>in vitro</i> da kombucha de fruta da serpente, kombucha de chá preto e Metformina.                                                                                 | <p>Experimental. 25 ratos Wistar foram divididos aleatoriamente em 5 grupos. Grupo 1) ratos normais Grupo 2) ratos diabéticos.</p> <p>Grupo 3) ratos diabéticos tratados com kombucha de chá preto (5ml/kg/dia)</p> <p>Grupo 4) ratos diabéticos tratados com kombucha de fruta da serpente (5 ml/kg/dia); Grupo 5) ratos diabéticos tratados com metformina (45mg/kg/dia).</p> <p>Os ratos foram tratados com dieta padrão, os grupos 3, 4 e 5 foram respectivamente administrados com kombucha de chá preto, kombucha de fruta da serpente e metformina, durante 28 dias.</p>                | 1) A kombucha de fruta da serpente foi tão eficaz quanto a metformina, e mais efetivo do que o kombucha de chá preto.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Gamboa et al. (2017)   | Avaliar os efeitos anti-hiperglicemiantes e antioxidantes de infusões e bebidas fermentadas de folhas de carvalho ( <i>Quercus convallata</i> e <i>Q. arizonica</i> ) <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> . | <p>Experimental. Camundongos fêmeas com obesidade induzida por dieta rica em gordura saturada e frutose foram tratados com bebidas de folhas de carvalho (200 µL / dia equivalente a 15mg de amostra liofilizada / Kg de peso corpóreo para infusões e 31mg de amostra liofilizada / Kg de corpo peso para bebidas fermentadas) por 3 meses e um teste oral de tolerância à glicose (TOTG) foi realizado. Determinação plasmática de glicose, perfil lipídico e marcadores de estresse oxidativo. A resistência à insulina foi estimada usando o produto de triglicérides e glicose (TyG).</p> | <p>1) Verificado menores níveis de glicose nos grupos tratados com infusão ou bebida fermentada das folhas de carvalho se comparado ao grupo controle da obesidade (18%) e TOTG semelhante ao grupo controle saudável.</p> <p>2) Na avaliação a longo prazo, os grupos de intervenção mostraram redução significativa nas concentrações de glicose em jejum (41-50% para infusões de folhas de carvalho e 52-66% para bebidas fermentadas) e TyG (4,2-4,6% para infusões de folhas de carvalho e 5,9-7,5 % para bebidas fermentadas) em comparação com o grupo de controle obeso.</p> <p>3) Resultados obtidos sugerem efeitos anti-hiperglicemiantes e antioxidantes de bebidas preparadas com folhas de espécies de <i>Quercus in vitro</i> e <i>in vivo</i>.</p> |

Quadro 4 - Seleção de pesquisas relacionadas à atividade antiglicêmica e outros efeitos biológicos da Kombucha (conclusão)

| <b>Autores da pesquisa</b> | <b>Objetivos da pesquisa</b>                                                                                      | <b>Detalhes da pesquisa</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | <b>Principais achados da pesquisa</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Zubaidah et al. (2018)     | Estudar a avaliação in vivo da kombucha de serpente como agente terapêutico da hiperglicemia                      | Experimental. 25 ratos Wistar machos saudáveis, com 3 meses de idade, divididos aleatoriamente em 5 grupos recebendo acesso a dieta padrão e água. A kombucha da fruta da serpente foi administrada por via oral em diferentes níveis por 28 dias. Medidas plasmáticas de exames padrão para DM e coloração imuno-histoquímica do tecido pancreático foram monitoradas pré e pós tratamento. | 1) O tratamento mostrou uma redução significativa da glicose plasmática em jejum em um intervalo de 31-59%, consistente com a melhora da atividade da superóxido dismutase sérica e do nível de malondialdeído.<br>2) A coloração imuno-histoquímica do tecido pancreático provou uma regeneração das células beta pancreáticas nos grupos de tratamento com Kombucha de frutos de serpente em comparação com o grupo controle.<br>3) A bebida pode ser um agente terapêutico de hiperglicemia em ratos diabéticos. |
| Sriharia et al. (2013)     | Delinear o efeito anti-hiperglicêmico do extrato liofilizado de kombucha.                                         | Experimental. Utilizaram-se no estudo ratos induzidos por estreptozotocina (STZ). O período experimental foi de 45 dias, utilizando a suplementação de kombucha com 6 mg/kg de peso corporal. Monitoramento plasmático de hemoglobina glicosilada (HbA1c) insulina basal, hemoglobina e glicogênio tecidual.                                                                                 | 1) Houve diminuição significativa da HbA1c e o aumento dos níveis plasmáticos de insulina, hemoglobina e glicogênio tecidual que haviam diminuído o tratamento com STZ.<br>2) A kombucha demonstrou exercer efeito hipoglicêmico em ratos diabéticos induzidos por STZ.                                                                                                                                                                                                                                             |
| Flora; Chandrakala (2016)  | Avaliar o efeito protetor da kombucha na nefropatia diabética em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina. | Experimental. Os ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina, foram divididos em quatro grupos com seis ratos em cada grupo, por um período de 14 dias. Grupo 1) ratos normais; grupo 2) controle: ratos diabéticos; grupo 3) ratos diabéticos tratados com kombucha; grupo 4) ratos tratados com kombucha (1,71ml/kg) e glibenclamida (5mg/kg).                                         | 1) A kombucha agiu eficazmente contra o diabetes. Estes resultados suportam a sua implicação de controlar os níveis de glicose no sangue, retardar ou até mesmo reverter algumas das condições patológicas de nefropatia diabética em ratos.                                                                                                                                                                                                                                                                        |

Fonte: A autora

A kombucha parece ter vários efeitos benéficos, mas há poucas evidências científicas disponíveis na literatura em humanos. As moléculas antioxidantes e ácidos produzidos durante o período de fermentação podem ser a razão para as eficientes propriedades protetoras

e curativas hepáticas do kombucha, mesmo assim, o uso em grandes quantidades pode induzir a toxicidade, causando danos hepáticos (ZORAN et al., 2014).

É importante lembrar que diferentes quantidades de açúcar, tempo de fermentação, variedades de folhas de chá e até mesmo a composição do fungo utilizado na fermentação podem ser responsáveis pelas diferenças na composição e, conseqüentemente, nas atividades biológicas do kombucha dificultando a padronização do seu efeito. E apesar de todos os resultados positivos encontrados referentes aos seus benefícios até o momento não há evidências suficientes que possam comprovar e direcionar orientações para a aplicação dessa em patologias humanas (JAYABALAN et al., 2014).

Um estudo com seres humanos (HIREMAT; VAIDEHI; MUSHTARI, 2002) relatou que o consumo diário de 60 mL de chá fermentado durante 90 dias foi associado com valores de açúcar normalizados no sangue em 24 indivíduos diabéticos não dependentes de insulina com idade entre 45 e 55 anos. Houve uma redução significativa no nível de açúcar no sangue em jejum (de 128 mg/dL para 103 mg/dL) e pós-prandial (165 mg/dL para 133 mg/dL).

Os AGEs (AGEs [do inglês, Advanced Glycation End-products]) são considerados importantes mediadores patogênicos das complicações diabéticas e são capazes de modificar, irreversivelmente, as propriedades químicas e funcionais das mais diversas estruturas biológicas. Em 2016, Chakravorty e colaboradores mediram a propriedade anti-glicação da kombucha e observaram um aumento na propriedade com a progressão da fermentação do chá. Assim, os resultados indicaram que a comunidade bacteriana presente na kombucha pode desempenhar um importante papel na propriedade anti-diabética. Além disso, a presença de AGEs com complicações diabéticas é bem estabelecida (AHMED, 2005; JÚNIA et al., 2008). As propriedades anti-diabéticas do chá de kombucha (ALOULOU et al., 2012; BHATTACHARYA et al., 2013) talvez podem ser atribuídas à atividade anti-glicação da bebida.

Em relação à possíveis efeitos colaterais, na revisão de Greenwalt, Steinkraus e Ledford (2000), foi citado que podem haver efeitos prejudiciais em indivíduos suscetíveis. Tal efeito negativo pode variar individualmente. A possibilidade de efeitos tóxicos quando se tem o consumo em grandes quantidades tornou-se preocupante após ocorrer dois incidentes nos U.S.A. no ano de 1995, sendo um deles com morte devido a perfurações no trato intestinal e acidose metabólica grave. Tal fato ocorreu devido ao aumento do consumo da kombucha em três vezes de 12 oz (1152 mL) em um dia. A outra vítima de incidente com a bebida sobreviveu e relatou que aumentou a duração do tempo de fermentação de 7 para 14 dias. Entretanto, ao pesquisar os casos foi encontrado que as vítimas apresentavam condições

preexistentes que os tornaram suscetíveis à acidose. Concluiu-se que a kombucha não é prejudicial em cerca de 4 oz (128 mL) por dia após a primeira fermentação. No entanto, existem riscos potenciais associados ao consumo excessivo ou consumo por indivíduos com doenças preexistentes. Recomenda-se que indivíduos portadores de comprometimento imunológico como aqueles em uso de imunossupressores e/ou transplantados por exemplo, não façam o consumo da bebida (NUMMER, 2013).

Respeitados os aspectos de segurança no preparo e uso da bebida, a kombucha pode ser considerada um valioso ingrediente a ser incorporado no desenvolvimento de alimentos e bebidas com apelo funcional.

## REFERÊNCIAS

ADIAMO, O. Q.; et al. Thermosonication process for optimal functional properties in carrot juice containing orange peel and pulp extracts. **Food Chemistry**, v. 245, p. 79–88, 2018.

ALLEN, C. M. **Past research on Kombucha tea: the Kombucha FAQ - Part 6: research and tests results**. 1998. Disponível em: <[http://persweb.direct.ca/chaugen/kombucha\\_faq\\_part06.html](http://persweb.direct.ca/chaugen/kombucha_faq_part06.html)>. Acesso em: 10 mar. 2018.

ALTAY, F.; et al. Review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: microbiota, fermentation process and quality characteristics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 167, n. 1, p. 44-56, 2013.

ANDRÉS, V.; VILLANUEVA, M. J.; TENORIO, M. D. The effect of high-pressure processing on colour, bioactive compounds, and antioxidant activity in *smoothies* during refrigerated storage. **Food Chemistry**, v. 192, p. 328-35, 2016.

BAIANO, A.; MASTROMATTEO, M.; DEL NOBILE, M. A. Effects of cultivar and process variables on dynamic-mechanical and sensorial behavior of value-added grape-based *smoothies*. **Molecules**, v. 17, p. 11421-11434, 2012.

BEVILACQUA, A.; et al. Nonthermal technologies for fruit and vegetable juices and beverages: overview and advances. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, p. 2-62, 2018.

BOURDICHON, F.; et al. Food fermentations: microorganisms with technological beneficial use. **International Journal of Food Microbiology**, v. 154, p. 87-97, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Portaria n. 103, de 20 de setembro de 2018**. ed. 188, seção 1, p. 18.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigitel Brasil 2014:** vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília: MS, 2015.

BRASIL. **Portaria n. 5, de 30 de abril de 1999.** Diário Oficial da União, Brasília, 14 maio 1999a.

BRASIL. **Resolução ANVS/MS n. 16, de 30 de abril de 1999.** Regulamento técnico de procedimentos para o registro de alimentos e ou novos ingredientes. Diário Oficial da União, Brasília, 3 dez. 1999b.

BRASIL. **Resolução ANVS/MS n. 19, de 30 de abril de 1999.** Regulamento técnico para procedimento de registro de alimento com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. Diário Oficial da União, Brasília, 10 dez. 1999c.

BRITISH Soft Drinks Association. **Changing tastes de UK Soft Drinks:** the Annual Report 2015. Disponível em: <[http://www.britishsoftdrinks.com/write/MediaUploads/Publications/BSDA\\_Annual\\_Report\\_2015.pdf](http://www.britishsoftdrinks.com/write/MediaUploads/Publications/BSDA_Annual_Report_2015.pdf)>. Acesso em: 22 jun. 2016.

CHAKRABORTY, S.; et al. High-pressure inactivation of enzymes: a review on its recent applications on fruit purees and juices. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, p. 578-596, 2014.

CHAKRAVORTY, S.; et al. Kombucha tea fermentation: microbial and biochemical dynamics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 220, p. 63-72, mar. 2016.

CHU, S. C.; CHEN, C. Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of Kombucha. **Food Chemistry**, v. 98, n. 3, p. 502-507, 2006.

CONEGERO, J.; et al. Stability of ‘mangaba’ pulp powder obtained by freeze drying. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 21, n. 9, p. 645-650, 2017.

COSTA, C.; et al. Current evidence on the effect of dietary polyphenols intake on chronic diseases. **Food and Chemical Toxicology**, v. 110, p. 286-299, dec. 2017.

COTON, M.; et al. Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, n. 5, p. 1-16, may 2017.

COUNCIL of the European Union, THE. **Regulamento (CE) n. 112/2001 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 20 de dezembro de 2001, relativo aos sucos de frutas e produtos similares para o consumo humano.** 2001. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2001/112>>. Acesso em: 3 dez. 2016.

COUNCIL of the European Union, THE. **Regulamento (CE) n. 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 28 de janeiro de 2002, relativo aos princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e estabelece procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios.** 2002.

Disponível em: <[http://eur-](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2002R0178:20080325:PT:PDF)

[lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2002R0178:20080325:PT:PDF](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2002R0178:20080325:PT:PDF)>.

Acesso em: 3 dez. 2016.

COUNCIL of the European Union, THE. **Regulamento (CE) n. 258/1997 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 27 de janeiro de 1997, relativo a novos alimentos e ingredientes alimentares.** 1997. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/ALL/?uri=CELEX:31997R0258>>. Acesso em: 3 dez. 2016.

CZAJA, W.; et al. Microbial cellulose: the natural power to heal wounds. **Biomaterials**, v. 27, n. 2, p. 145-151, jan. 2006.

DE FILIPPIS, F.; 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, aug. 2018.

DE ROOS, J.; DE VUYST, L. Acetic acid bacteria in fermented foods and beverages. **Current Opinion in Microbiology**, v. 49, p. 115-119, feb. 2018.

DI CAGNO, R.; et al. Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and sensory properties of red and green *smoothies*. **Food Microbiology**, v. 28, n. 5, p. 1062-1071, aug. 2011.

DI CAGNO, R.; et al. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. **Food Microbiology**, v. 33, n. 1, p. 1-10, feb. 2013.

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

FDA (Food and Drug Administration). **Guidance for industry:** implementation of the fee provisions of section 107 of the FDA Food Safety Modernization Act. 2011. Disponível em: <<http://www.fdagov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/FoodSafety/ucm274176.htm>>. Acesso em: 3 dez. 2016.

FERNANDEZ, M. V.; et al. Optimization of high pressure processing parameters to preserve quality attributes of a mixed fruit and vegetable *smoothie*. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 47, p. 170-179, 2018.

FIESP (Federação das Indústrias do Estado de São Paulo); ITAL (Instituto de Tecnologia de Alimentos). As tendências da alimentação. In: **Brasil Food Trends 2020**. São Paulo, 2010. Cap. 2, p. 23-38.

GLOBAL Industry Analysts. **Global smoothies market to reach \$11.0 billion by 2018, according to new report by Global Industry Analysts, Inc.** 2019. Disponível em: <[http://www.prweb.com/releases/smoothies\\_market/frozen\\_mix\\_smoothie/prweb3808804.htm](http://www.prweb.com/releases/smoothies_market/frozen_mix_smoothie/prweb3808804.htm)>. Acesso em: 04 jun. 2019.

GLOBAL Industry Analysts. **Smoothies:** a global strategic business report. 2015. Disponível em: <[http://www.strategyr.com/smoothies\\_Market\\_Report.asp](http://www.strategyr.com/smoothies_Market_Report.asp)>. Acesso em: 12 fev. 2016.

GRAM, L.; et al. Food spoilage interactions between food spoilage bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 78, p. 79-97, 2002.

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.

HIREMATH, U. S., VAIDEHI, M. P.; MUSHTARI, B. J. Effect of fermented tea on the blood sugar levels of NIDDM subjects. **The Indian Practitioner**, v. 55, p. 423-425, 2002.

HUR, S. J.; et al. Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. **Food Chemistry**, v. 160, p. 346-356, 2014.

IARC (International Agency for Research on Cancer). **Fruit and vegetables**. Lyon: IARC, 2003. (IARC handbooks of cancer prevention; v. 8).

JASA (Juice and Smoothie Association). **Smoothie history**. Disponível em: <<http://www.smoothiecentral.com/Flashsite/index.html>>. Acesso em: 3 fev. 2016.

JAYABALAN, R.; et al. A review on Kombucha tea: microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 4, p. 538-50, jul. 2014.

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.

KEENAN, D. F.; et al. Nonthermal processing of fruit smoothies. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, p. 827-836, 2011.

KHANDPUR, P.; GOGATE, P. R. Understanding the effect of novel approaches based on ultrasound on sensory profile of orange juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 27, p. 87-95, 2015.

MARSH, A. J.; et al. Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple Kombucha (*tea fungus*) samples. **Food Microbiology**, v. 38, p. 171-178, apr. 2014.

MINTEL GROUP. **Fruit juice, juice drinks and smoothies**. 2016. Disponível em: <<http://store.mintel.com/fruit-juice-juice-drinks-and-smoothies-uk-november-2016>>. Acesso em: 22 abr. 2017.

MÜLLER, L.; et al. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 6, p. 992-999, 2010.

NGUYEN, N. K.; et al. Screening the optimal ratio of symbiosis between isolated yeast and acetic acid bacteria strain from traditional Kombucha for high-level production of glucuronic acid. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 1149-1155, dec. 2015.

NGWANG, N. The usage of banana (*Musa Acuminata*) for novel beverage production. **International Journal of Bioscience Biochemistry and Bioinformatic**, v. 5, n. 1, p. 62-69, jan., 2015.

NUMMER, B. A. Special report: Kombucha brewing under the food and drug administration model food code: risk analysis and processing guidance. **Journal of Environmental Health**, v. 76, n. 4, p. 8-11, nov. 2013.

NUNES, M. A.; et al. How functional foods endure throughout the shelf storage? Effects of packing materials and formulation on the quality parameters and bioactivity of *smoothies*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 70-78, 2016.

OMS (Organização Mundial da Saúde). **Fruit and vegetable promotion initiative-report of the meeting**. Geneva: WHO (World Health Organization), 2003.

PALGAN, I.; et al. Effectiveness of combined Pulsed Electric Field (PEF) and Manothermosonication (MTS) for the control of *Listeria innocua* in a *smoothie* type beverage. **Food Control**, v. 25, p. 621-625, 2012.

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

RODRÍGUEZ-VERÁSTEGUI, L. L.; et al. Bioactive compounds and enzymatic activity of red vegetable *smoothies* during storage. **Food Bioprocess Technology**, v. 9, n. 1, p. 137-146, 2016.

SMITH, V.; et al. What's (in) a real *smoothie*: a division of linguistic labour in consumers' acceptance of name-product combinations? **Appetite**, v. 63, p. 129-140, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.appet.2012.10.020>>. Acesso em: 6 abr. 2017.

SUN-WATHERHOUSE, D.; et al. Rheological and chemical characterization of *smoothie* beverages containing high concentrations of fibre and polyphenols from apple. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, n. 2, p. 409-423, 2014.

TELESZKO, M.; WOJDYLO, A. Bioactive compounds vs. organoleptic assessment of 'smoothies': type products prepared from selected fruit species. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 49, p.98-106, 2014.

TEOH, A. L.; HEARD, G.; COX, J. Yeast ecology of Kombucha fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 119-126, 2004.

TIJBURG, L. B. M.; et al. Tea flavonoids and cardiovascular diseases: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 37, n. 8, p. 771-785, dec. 1997.

TITUS, D. **Smoothie!** The original *smoothie* book. California: Juice Gallery Multimedia, 2000. v. 1, p. i2-i4.

TIWARI, U. Production of fruit based *smoothies*. In: RAJAURIA, G.; TIWARI, B. K. **Fruit juices**: extraction, composition, quality and analysis. London: Elsevier, 2018. Chap. 1, p. 261-278.

VALERO-CASES, E.; FRUTOS, M. J. Development of prebiotic nectars and juices as potential substrates for *Lactobacillus acidophilus*: special reference to physicochemical characterization and consumer acceptability during storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 81, p. 136-143, aug. 2017.

VIJAYA, K. B.; VIJAYENDRA, S. V.; REDDY, O. V. Trends in dairy and nondairy probiotic products: a review. **Journal of Food Science and Technology**, n. 52, v. 10, p.6112-6124, 2015.

VILLARREAL-SOTO, S. A.; et al. Understanding Kombucha tea fermentation: a review. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 3, p. 580-588, mar. 2018.

VITAS, J. S.; et al. The antioxidant activity of Kombucha fermented milk products with stinging nettle and winter savory. **Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly**, v. 19, n. 1, p. 129-139, 2013.

WALKLING-RIBEIRO, M.; et al. Shelf life and sensory attributes of a fruit *smoothie*-type beverage processed with moderate heat and pulsed electric fields. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 7, p. 1067–1073, 2010.

WALTZL, B. *Smoothies* wellness au der Flasche? **Ernährungsumschau**, v. 6, p. 352-353, 2008.

WATAWANA, M. I.; et al. Application of the Kombucha '*tea fungus*' for the enhancement of antioxidant and starch hydrolase inhibitory properties of ten herbal teas. **Food Chemistry**, v. 194, p. 304-311, mar. 2016.

YOKOZAWA, T.; et al. In vitro and in vivo studies on the radical-scavenging activity of tea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 46, n. 6, p. 2143-215, may 1998.

ZARDO, D. M.; et al. Phenolic profile and antioxidant capacity of the principal apples produced in Brazil. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v. 64, n. 5, p. 611-620, aug. 2013.

ZIELINSKI, A. A. F.; et al. A comparative study of the phenolic compounds and the in vitro antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. **Food Research International**, v. 60, 2014. Disponível em:  
<<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.09.010>>. Acesso em: 3 mar. 2017.

## CAPÍTULO 2 – *SMOOTHIES* BRASILEIROS: PERFIL DO CONSUMIDOR, COMPOSIÇÃO QUÍMICA, COMPOSTOS BIOATIVOS E DESCRIÇÃO SENSORIAL

### RESUMO

Os *smoothies* são bebidas apreciadas devido à conveniência, portabilidade, sabor agradável e benefícios para a saúde. O objetivo desta pesquisa foi descrever o cenário de *smoothies* no Brasil detalhando [I] o perfil de consumo através de um questionário virtual; [II] a composição físico química (pH, sólidos solúveis, acidez total, açúcares, cor, viscosidade aparente, carotenóides, fenólicos e atividade antioxidante) e [III] descrição sensorial de *smoothies* comerciais. Foram coletadas 500 respostas e, dessas, 30% referiram que não sabiam o que é *smoothies*. Consumidores regulares dessa bebida são mulheres jovens, solteiras, residentes na região Sul, com renda familiar entre 4 a 10 salários mínimos e que consomem *smoothies* motivadas pelos fatores de saúde e sabor. Morango foi o sabor citado como preferido. Os valores de pH, brix, acidez, glucose, frutose e sacarose apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ). A viscosidade variou de 22 a 328 mPa.s. *Smoothies* compostos por frutas amarelas apresentaram intensidade de cor, carotenóides e alta atividade antioxidante em relação aos de outras cores. Ácido clorogênico e floridzina foram os fenólicos em maior quantidade em todas as amostras. O sabor, sabor residual, odor, intensidade de cor, presença de partículas, homogeneidade, turbidez e viscosidade foram os principais termos gerados na descrição sensorial. Esses dados podem contribuir para o desenvolvimento de novos *smoothies* fabricados de acordo com as expectativas dos consumidores.

**Palavras-chave:** Bebidas não alcoólicas. Mistura de frutas. Potencial antioxidante. Perfil sensorial.

### 2.1 INTRODUÇÃO

*Smoothies* são bebidas que possuem composição física, química e sensorial variável devido à formulação que contém uma mistura de sucos e / ou polpas de frutas adicionadas ou não de cereais, verduras, mel, chá e leite. Fibra, frutooligossacarídeos (FOS), vitaminas, minerais e ácidos orgânicos podem estar naturalmente presentes, adicionados ou produzidos por fermentação, conferindo propósitos de saúde e melhor funcionalidade (KEENAN et al., 2012; CANO-LAMADRID et al., 2018; DI CAGNO et al., 2019).

Os *smoothies* são originados nos anos 60 nos Estados Unidos da América e retornaram ao prestígio nos anos 2000 quando, em pouco tempo, o produto em suas diferentes formulações e finalidades, conquistou consumidores ao redor do mundo (TITUS, 2000). Estimativas indicam que os *smoothies* no setor global de bebidas podem chegar a \$ 15,8 bilhões até o ano de 2022, sendo 45,7% desse montante gerado pelos Estados Unidos; 9,1%

para a Ásia e o resto deste montante dividido entre outras regiões do mundo (GLOBAL, 2015; CANO-LAMADRID et al., 2018).

Frutas estão sendo exploradas para o desenvolvimento de bebidas inovadoras com propriedades promotoras da saúde. As indústrias que desenvolvem esses produtos estão preocupadas com novos designs, produtos atraentes e compatíveis com as tendências de saúde (NOWICKA; WOJDYLO, 2016). No entanto, bilhões de dólares são gastos anualmente pela indústria de alimentos e bebidas em projetos de produtos com falha. O desafio de desenvolver novas bebidas saudáveis é compartilhar simultaneamente o atendimento às necessidades do consumidor, aceitação sensorial e diferenciação para alcançar a fidelidade desse. Um a cada 200 novos produtos é bem-sucedido, por isso é necessário investir tempo, disciplina e análise do processo para entender os fatores que influenciam as decisões de compra e, com base nisso, direcionar estratégias de promoção de produtos (NIELSEN, 2018).

O sucesso de novos produtos e tecnologias em alimentos e bebidas são dependentes da resposta dos consumidores à esses para que sejam moldados a expectativa do exigente mercado consumidor de superalimentos, no qual os *smoothies* são considerados um produto típico dessa categoria (MEDINA, 2011).

Portanto, o objetivo desta pesquisa foi descrever o cenário dos *smoothies* no Brasil, avaliando o (i) perfil de consumo, (ii) sua composição física e química e (iii) suas características sensoriais.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1 Material

Amostras de *smoothies* ( $n = 17$ ) produzidas no Brasil (Apêndice A) foram avaliadas. As especificações e características do rótulo (sabor, cor predominante, ingredientes, peso / volume, material da embalagem e preço por kg ou L expresso em US) foram avaliadas. O perfil de consumo e análise sensorial foram aprovados pelo comitê de ética (CAAE nº 56282916.0.0000.0105 e nº de parecer 1.649.931). As amostras foram congeladas ( $-18^{\circ}\text{C}$ ) até o momento das análises.

### 2.2.2 Químicos

Reagente de Folin-Ciocalteu, TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazine); DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil); ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazolil - 6- ácido sulfônico) sal diammonico); Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico); ácido gálico (3,4,5-triidroxibenzóico), ácido *p*-cumarico, ácido cafeico, (+)-catequina, (-)-epicatequina, floridzina, sacarose, D-glucose e D-sorbitol foram obtidos da Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). D-frutose, acetonitrila e ácido acético foram obtidos da Merck (Darmstadt, Germany) e J.T. Baker (Phillips-burg, NJ, USA). Os outros reagentes eram de grau analítico. Todas as soluções aquosas foram preparadas usando água ultrapura (Millipore, São Paulo, Brazil).

### 2.2.3 Métodos

#### 2.2.3.1 Perfil de consumo dos *smoothies*

Esta pesquisa foi realizada por meio de um questionário virtual elaborado na plataforma Google® Forms. As perguntas foram feitas com referência nos questionários de pesquisa de mercado (SAFEFOOD, 2009; GLOBAL, 2015; MINTEL GROUP, 2015). Na primeira fase as questões de resposta única foram relacionadas ao perfil do consumidor (idade, sexo, estado civil, escolaridade, renda mensal, região de residência, religião, estilo de vida e prática de exercícios físicos) e a última questão foi sobre o conceito de *smoothies*. A segunda fase do questionário foi composta por questões de múltipla escolha relacionadas ao padrão de consumo (motivação para consumo, frequência, localização, tempo, quantidade e estação de consumo, sabores e ingredientes preferenciais). A pesquisa foi divulgada via e-mail e link para acesso nas redes sociais. Para avaliar as respostas corretas sobre "o que é um *smoothie*" frases semelhantes com a seguinte definição foram consideradas corretas: "*Smoothies* são bebidas obtidas pela mistura de frutas, sucos de frutas e iogurte ou leite; podem ser preparadas de forma caseira com frutas frescas ou usando barras de polpa de frutas congeladas ou podem ser comercialmente disponíveis, prontas para consumo." (KEENAN et al., 2012).

A análise de triangulação foi aplicada para verificar a convergência entre as palavras citadas nas respostas à pergunta aberta sobre o conceito de *smoothies* com o conceito

previamente mencionado (MODELL, 2005.) Os dados foram tabulados utilizando o programa Excel® e são expressos em média e porcentagens.

#### 2.2.3.2 Análises físico químicas

O Brix foi mensurado utilizando um refratômetro (ABBE AR 1000 S, Megabrix, São Paulo, Brasil). O pH foi medido após a calibração em pH 4,0 e 7,0 (Tec-3 MP, Tecnal, São Paulo, Brasil).

A acidez total foi feita em 10 g de *smoothies* foram homogeneizados com 90 mL de água destilada e titulados com NaOH até pH de 8,3 e foi expressa em ácido cítrico (g / 100 mL). (AOAC, 2019).

O preparo das amostras para as análises de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante foi feito após a liofilização de 10 g de cada amostra, à -80° C (Liofilizador Terroni, São Paulo, Brazil). Foi acrescentado à amostra liofilizada 10 ml de metanol, em seguida as mesmas foram centrifugadas (Centrífuga Excelsa II, Fanem, Brasil) por 10 minutos a 10.000 xg. O sobrenadante foi coletado e armazenado congelado em ependorf até o momento das análises. O descongelamento foi feito em refrigerador.

Os fenóis totais (TPC) foram determinados em quadruplicata por análise colorimétrica utilizando o reagente de Folin-Cicalteu, conforme descrito por Singleton e Rossi (1965) e a quantificação simultânea do ácido ascórbico (AA), conforme sugerido por Isabelle et al. (2010).

#### 2.2.3.3 Análise cromatográfica de açúcares

Para a quantificação de açúcares, o método descrito por Zielinski et al. (2014a) foi empregado. As amostras de *smoothies* foram diluídas 1: 3 (g / mL) com água ultrapura. A suspensão foi mantida a 40 ° C por uma hora sob agitação (150 rpm) (Incubadora MA 1415/300, Marconi, São Paulo, Brasil) e centrifugada a 10.000 xg por 10 min (Centrífuga Excelsa II, Fanem, Brasil). O sobrenadante foi filtrado através de uma membrana (0,22 µm) antes da análise. O sistema de HPLC usado foi o Waters 2695 Alliance (Milford, MA, EUA), composto por uma bomba quaternária, um desgaseificador, um auto injetor e um detector de índice de refração Waters RI 2414 (Milford MA, EUA). O volume de injeção foi de 10 µL e o fluxo foi de 0,5 mL / min em condição isocrática com água ultrapura (Milli-Q). A coluna

utilizada foi a Waters Sugar Pak 1 (300 mm X 6,5 mm) e a detecção das amostras foi estabelecida comparando os tempos de retenção dos padrões de referência. A quantificação foi calculada para as curvas de calibração de sacarose, D-glicose, D-frutose e D-sorbitol.

#### 2.2.3.4 Parâmetros de cor

Os parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) foram determinados usando colorímetro (Minolta CM-5, Minolta Co. Ltda., Osaka, Japão). O equipamento foi previamente calibrado com água. As amostras foram colocadas em uma cubeta de vidro (MC A98, 10 mm) e os valores de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  foram obtidos em sextuplicata (*software* SpectraMagic NX CM-S100w Osaka, Japão) com um ângulo de observação de 10°. O parâmetro Chroma ( $C^*$ ) foi calculado de acordo com a Equação (2). O ângulo de matiz ( $h^*$  ou Hue) foi calculado de acordo com a Equação (3 e 4).

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \dots\dots\dots(2)$$

$$h^* = \tan^{-1}(b^*/a^*) + 180^\circ \text{ quando } a < 0 \dots\dots\dots(3)$$

$$h^* = \tan^{-1}(b^*/a^*) \text{ quando } a > 0 \dots\dots\dots(4)$$

#### 2.2.3.5 Análise de viscosidade

A viscosidade aparente (mPa.s) foi medida nos *smoothies* usando o viscosímetro rotativo Brookfield® RV DV-II + Pro (Brookfield Engineering Labs, Middleboro, MA, EUA) com eixo spindle SC4-21 equipado com um adaptador de pequena amostra SC4-13RPY e um spindle Flag Impeller MVS1Y acoplado a um banho Brookfield TC-112P (Middleboro, MA, EUA). Dez gramas de cada amostra foram adicionados à câmara de metal do equipamento, permanecendo em repouso até que a temperatura se equilibrasse antes do início da medição aplicando 423 x g por 2 minutos a  $10 \pm 0,5^\circ \text{C}$  para simular a temperatura normalmente consumida pela bebida. Os resultados de viscosidade aparente foram registrados a cada trinta segundos por dois minutos e os valores médios obtidos foram calculados com o software Rheocalc®. A viscosidade aparente foi expressa como a porcentagem máxima de torque do viscosímetro.

### 2.2.3.6 Perfil de compostos fenólicos

As análises dos compostos fenólicos individuais foram realizadas em HPLC, como previamente descrito por Alberti et al. (2014). O equipamento de HPLC Alliance 2695 (Waters, Milford, EUA) com arranjo de detecção de diodos - detector PDA 2998 (Waters, Milford, EUA) equipado com bomba quaternária e injetor automático tinha uma coluna Symmetry C18 (4,6 x 150 mm, 3,5 mm) (Waters, Milford, EUA). Amostras (10 g) foram liofilizadas (LD 1500, Terroni, São Paulo, Brasil) e solubilizadas em solução de ácido acético (2,5%) e metanol (99,9%) (1: 3 mL / mL). Foram posteriormente homogeneizados, centrifugados (8160 g, 20 min a 4° C) (HIMAC CR-GII, Hitachi, Japão) e filtrados através de um filtro de seringa de nylon de 0,22 µm (Waters, Milford, MA, EUA) e armazenados em alíquotas para análise. Os experimentos foram monitorizados a 280 nm (flavan-3-ol e di-hidrochalconas), 320 nm (ácidos hidroxicinâmicos) e 350 nm (flavonóis). A identificação e quantificação dos compostos fenólicos foram realizadas comparando o tempo de retenção com os padrões e usando curvas de calibração.

### 2.2.4 Análise de Carotenoides

O β-caroteno e o licopeno foram extraídos e quantificados de acordo com o método proposto por Rodriguez-Amaya (2001) com adaptações (ZIELINSKI et al., 2014b). Para a extração, 15 g de *smoothie* foram homogeneizados com 30 mL de acetona por 1 hora a 4 g (MA832, Incubadora Marconi, Piracicaba, Brasil). Em seguida, cada amostra foi lavada com acetona 3 vezes por filtração a vácuo (Biomec Brazil Pump, Eco 740, São Paulo, Brasil). Um volume de 25 mL de éter de petróleo foi vertido através de um funil de separação, e os pigmentos foram então transferidos para o funil em pequenas frações seguidos por água destilada. A fase inferior foi descartada, e as amostras foram lavadas mais 4 vezes para remover completamente a acetona. A solução de pigmentos em éter de petróleo foi transferida para um balão volumétrico e levada até um volume final de 50 mL com éter de petróleo. As amostras foram analisadas em espectrofotômetro (modelo Mini UV 1240, Shimadzu) nos comprimentos de onda de 450 e 470 nm para β-caroteno e licopeno, respectivamente.

### 2.2.5 Atividade Antioxidante *in vitro*

A atividade sequestradora de DPPH foi realizada conforme descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) e adaptada em microplaca (ALBERTI et al., 2014). O Trolox foi utilizado como padrão para a preparação da curva de calibração [DPPH =  $2,77 \times$  absorbância;  $R^2 = 0,9934$ ] ( $50-500 \mu\text{mol} / \text{L}$ ) e os resultados foram expressos em equivalentes de Trolox. O método ABTS foi realizado de acordo com Re et al. (1999). Uma curva padrão usando diferentes concentrações de trolox ( $50-400 \mu\text{mol} / \text{L}$ ) foi preparada [ABTS =  $4,30 \times$  absorbância;  $R^2 = 0,9974$ ]. A atividade antioxidante usando o método FRAP foi realizada de acordo com Benzie e Strain (1996) com pequenas modificações. Uma curva de calibração [FRAP =  $1000 \times$  absorbância;  $R^2 = 0,99936$ ] foi obtida usando diferentes concentrações de trolox ( $100-1000 \mu\text{mol} / \text{L}$ ). Todas os experimentos foram realizados em quadruplicatas utilizando um leitor de microplacas (espectrofotometro de microplacas Epoch, Synergy-BioTek, Winooski, VT, EUA).

### 2.2.6 Análise do Perfil Sensorial por *Flash profile*

Todas as amostras foram sensorialmente descritas pela análise *Flash Profile* (DAIROU; SIFFERMANN, 2002). Os avaliadores foram selecionados por meio de um questionário individual. Nove pessoas foram selecionadas de acordo com sua experiência em análise sensorial descritiva (Apêndice B). Os testes foram realizados em cabines individuais com luz branca. Para cada avaliador foi servido 50 mL foram servidos a  $11 \pm 1^\circ \text{C}$  em copos plásticos transparentes (Copobras, Carmópolis, Brasil) em triplicata, codificados com três dígitos aleatórios (ASTM, 1986). O Perfil Flash foi aplicado em quatro seções: na primeira seção, após uma breve descrição do método e dos produtos a serem testados, solicitou-se aos avaliadores que gerassem individualmente uma lista de atributos (Apêndice C) para aparência, odor, sabor e sabor residual, que era completo o suficiente para discriminar todas as amostras, evitando termos hedônicos. Na segunda sessão, os termos gerados foram coletados e apresentados aos avaliadores, que puderam escolher a lista definitiva de atributos (Apêndice D) e, em seguida, realizaram a avaliação por ordenação, onde para cada atributo ordenaram as amostras, classificando-as da maior intensidade para o atributo de intensidade mais baixa. A terceira e quarta sessões foram réplicas da sessão de ordenação (MONTANUCI; MARQUES; MONTEIRO, 2015). Os dados coletados foram submetidos à análise de Procruste e ANOVA,

a fim de verificar o potencial de discriminação, repetibilidade e gerar mapas descritivos das amostras no programa Idiogrid<sup>®</sup> versão 2.4 (DAIROU; SIFFERMANN, 2002).

### 2.2.7 Análise Estatística

Os dados físico químicos foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão (DP). As diferenças entre as amostras foram avaliadas por ANOVA unidirecional, seguido pelo teste de médias de LSD (*Fisher Least Significance Difference*) de Fisher. Análise de Componentes Principais (PCA) foi aplicada com o objetivo de preservar a máxima informação possível (variância) e definir as amostras em classes baseadas na similaridade dos participantes da mesma classe. As análises foram realizadas no *software* Statistica v.13.3 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, Califórnia, EUA).

## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.3.1 Perfil de Consumo dos *Smoothies*

Dos 500 (quinhentos) voluntários que participaram de pesquisa online, foram 74,8% habitantes da Região Sul e 25,2% distribuídos entre as demais regiões. Dos voluntários, 84,2% eram do sexo feminino. A idade variou de 13 a 65 anos e 74,2% tinham entre 19 e 35 anos. 52% dos participantes são solteiros, 45,2% casados ou em união estável e 2,8% divorciados. A renda familiar mensal para 48% desses era de 4 a 10 salários mínimos (o salário mínimo corresponde a US \$ 253,92) e 36,8% até 2 salários mínimos mensais, 12,2% entre 11 e 20 salários mínimos e 3% acima de 20 salários mínimos.

No presente estudo, 93% dos voluntários não eram adeptos ao estilo de vida que pudessem influenciar o consumo de alimentos saudáveis, como o veganismo por exemplo. Quando os participantes da pesquisa foram questionados sobre o conceito de *smoothies*, 32,2% responderam que *smoothie* é “igual a uma vitamina”, 25,2% disseram que é “igual a um *shake*”, 12,4% “é um suco”, 27,5% responderam que não reconheceu nenhuma das alternativas para conceituar um *smoothie*. Apenas 3% dos voluntários escreveram uma resposta sobre o conceito de *smoothie* e, destes, 0,4% escreveram um conceito semelhante ao conceito padrão de *smoothies* usados para avaliar as respostas.

No Brasil, os *smoothies* não possuem um padrão de identidade e qualidade definido pela legislação. Portanto, conceitos pré-definidos são geralmente baseados na correlação de que os consumidores são guiados por experiências que já têm com outras bebidas. No caso da presente pesquisa, o conceito foi associado a uma vitamina de frutas.

As pessoas que tiveram mais acesso ao consumo de *smoothies* são as mulheres que vivem na região sul do Brasil, que têm renda entre 4 e 10 salários mínimos. Este resultado foi semelhante ao observado na Irlanda, onde foi encontrado que a bebida é mais popular entre as mulheres, jovens e de classe social alta (SAFEFOOD, 2009). A agência de pesquisa Mintel, informa que 74% das pessoas que frequentam o *smoothies* bar nos EUA têm entre 18 e 24 anos de idade (MINTEL GROUP, 2015).

Na avaliação sobre a motivação para o consumo de *smoothies*, havia a possibilidade de marcar mais de uma opção. Na opção saúde, 62,4% marcaram como a principal razão que levaria o voluntário a consumir um *smoothie*, seguido por 60% que apontaram o sabor. A aparência da bebida foi um motivo apontado por 19,6% dos participantes e 15,2% indicaram o motivo de "emagrecimento". Esses resultados são similares ao estudo de SafeFood (2009) no qual foi observado que as pessoas que consomem *smoothies* afirmam usá-los porque gostam do paladar, seguidas de um desejo de ser saudável e de consumir frutas quando as frutas frescas não estão disponíveis. Portanto, esses fatores, em especial o fator motivacional relacionado à saúde, podem ser melhores explorados para que os *smoothies* se tornem mais conhecidos e consumidos pela população brasileira.

Quando questionados sobre o porquê de não consumirem *smoothies*, 83,1% dos voluntários relataram que nunca tiveram a chance de experimentar um *smoothie*, seguidos por 12% que disseram que o motivo era o preço. Nos países onde esses produtos são mais populares, as pessoas justificam que não consomem *smoothies* porque [1] preferem frutas frescas, [2] falta de hábito, [3] não gostam da consistência ou [4] porque acham que são muito doces ou [5] muito caro (SAFEFOOD, 2009; SIJTSEMA et al., 2012). Como indicado em uma pesquisa da *British Beverage Association* (2011) e por Teleszko e Wojdylo (2014) o fator chave que influencia a popularização dos *smoothies* é seu preço, o que pode ser confirmado pelos dados da presente pesquisa que trouxeram, entre outros fatores, preço como fator limitante ao consumo deste produto pelo brasileiro.

Em relação aos ingredientes preferidos, que poderiam selecionar mais de um, as seis frutas mais citadas foram morango (54,20%), banana (40,50%), abacaxi (32,11%), uva (29,22%) e mirtilo e maracujá, ambos com 25,57%.

Portanto, a ausência de uma definição oficial, a falta de conhecimento sobre a bebida, o preço e a má exploração das características esperadas pelos consumidores dessa bebida podem ser fatores limitantes ao consumo, tornando o acesso restrito a uma pequena parcela da população: mulheres jovens e solteiras que vivem no sul do Brasil, motivadas pela saúde e sabor.

### 2.3.2 Características dos *Smoothies* Brasileiros

Os *smoothies* brasileiros avaliados continham nos rótulos seguintes propósitos: (a) bebida opcional para refeições infantis; (b) valorização das frutas "acredite na fruta"; (c) bebida para pessoas que apreciam viver "*vivi la dolce vita*"; e (d) a finalidade de fornecer as porções de frutas e vegetais necessários para a manutenção da saúde (equivalente a 2 porções do programa "*Five a day*" do *National Cancer Institute* (NCI)).

Os *smoothies* foram divididos por cor amarela (30%), vermelha (52,9%), verde (11%) e branca (5,9%) devido aos principais ingredientes da formulação (Tabela 1).

Tabela 1 - Lista de *smoothies* codificados de acordo com especificações e características presentes nos rótulos

(continua)

| Amostra | Sabor                         | Cor predominante | Ingrediente principal                                        | Outros                                                                                                             | Peso ou volume | Material da embalagem              | US\$/kg ou L |
|---------|-------------------------------|------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|------------------------------------|--------------|
| S1      | Manga com Laranja <i>rosa</i> | Amarelo          | Polpa integral de manga                                      | Suco de laranja rosa, água.                                                                                        | 300 g          | Vidro                              | 7.15         |
| S2      | Frutas tropicais              | Amarelo          | Polpa de maçã                                                | Polpa de banana, polpa de manga, polpa de abacaxi, polpa de maracujá, chia, ácido ascorbico.                       | 90 g           | <i>Cheer Pack</i> com bico dosador | 24.29        |
| S3      | Acerola com papaya            | Amarelo          | Suco de laranja                                              | Polpa de papaya, polpa de maçã, polpa de acerola, banana e suco de limão.                                          | 250 mL         | Vidro                              | 10.29        |
| S4      | Manga com maracujá            | Amarelo          | Suco de laranja                                              | Polpa de manga, polpa de maçã, polpa de maracujá e banana.                                                         | 250 mL         | Vidro                              | 10.29        |
| S5      | Frutas amarelas               | Amarelo          | Frutas amarelas (pêssego, manga, acerola, maracujá, cupuaçu) | Suco concentrado (maçã, romã), FOS, vitaminas (A, C e D), selênio, zinco, estabilizante pectina de fruta.          | 250 g          | Vidro                              | 10.29        |
| S6      | Kiwi com abacaxi e limão      | Verde            | Kiwi                                                         | Abacaxi, Suco concentrado (maçã, limão), extrato de chá verde, hortelã, clorofila, estabilizante pectina de fruta. | 250 g          | Vidro                              | 10.29        |
| S7      | Kiwi com abacaxi              | Verde            | Polpa de kiwi                                                | Suco de laranja, polpa de abacaxi, polpa de maçã, suco de uva verde, banana e espinafre.                           | 250 mL         | Vidro                              | 10.29        |
| S8      | Maçã com framboesa e uva      | Vermelho         | Polpa de maçã                                                | Polpa de raspberry, polpa de uva, ácido ascorbico.                                                                 | 90 g           | <i>Cheer Pack</i> com bico dosador | 24.29        |
| S9      | Frutas vermelhas              | Vermelho         | Frutas vermelhas (morango, cereja, framboesa)                | Suco concentrado (maçã, ameixa, cranberry, romã), FOS, vitaminas (A e D), selênio, zinco, pectina.                 | 250 g          | Vidro                              | 10.29        |
| S10     | Frutas silvestres             | Vermelho         | Frutas silvestres (blackberry, blueberry, cassis)            | Suco concentrado (maçã, ameixa, cranberry), FOS, vitaminas (A e D), selênio, zinco, pectina.                       | 250 g          | Vidro                              | 10.29        |

Tabela 1 - Lista de *smoothies* codificados de acordo com especificações e características presentes nos rótulos

|         |                                    |                  |                       |                                                                     |                |                             | (conclusão) |
|---------|------------------------------------|------------------|-----------------------|---------------------------------------------------------------------|----------------|-----------------------------|-------------|
| Amostra | Sabor                              | Cor predominante | Ingrediente principal | Outros                                                              | Peso ou volume | Material da embalagem       | U\$/kg ou L |
| S11     | Amora com framboesa                | Vermelho         | Polpa de maçã         | Amora, polpa de amora, framboesa, suco de laranja e limão.          | 250 mL         | Vidro                       | 10.29       |
| S12     | Maçã com banana                    | Vermelho         | Polpa de maçã         | Polpa de banana e ácido ascórbico.                                  | 90 g           | Cheer Pack com bico dosador | 24.29       |
| S13     | Açaí com banana                    | Vermelho         | Polpa de açaí         | Suco de laranja, polpa de maçã, banana e suco de limão.             | 250 mL         | Vidro                       | 10.29       |
| S14     | Banana com morango                 | Vermelho         | Suco de laranja       | Morango, banana, maçã e suco de limão.                              | 250 mL         | Vidro                       | 10.29       |
| S15     | Frutas vermelhas com banana        | Vermelho         | Polpa de banana       | Suco de morango, suco de uva, água, suco de maçã e suco de laranja. | 300 mL         | Vidro                       | 7.15        |
| S16     | Banana com morango e leite de coco | Vermelho         | Polpa de banana       | Água, leite de coco <i>light</i> e suco de morango.                 | 300 mL         | Vidro                       | 7.15        |
| S17     | Banana com aveia e leite de coco   | Branco           | Polpa de banana       | Leite de coco <i>light</i> , aveia e água.                          | 300 mL         | Vidro                       | 7.15        |

Fonte: A autora

Os principais ingredientes foram polpa de maçã (29%); polpa de banana (17%); suco de laranja (17%) e polpa de kiwi ou kiwi (12%) e outros, como manga, frutas amarelas, frutas vermelhas, frutas nativas e polpa de açaí. O peso ou volume dos produtos variaram de 90 a 300 mL e foi inversamente correlacionado com sua viscosidade ( $> \text{viscosidade} < \text{volume} / \text{peso}$ ). 82% das amostras são comercializadas em recipientes de vidro (250 a 300 mL). A validade dos *smoothies* variou de 30 a 360 dias. Três amostras eram apresentadas em embalagens *cheer pack* que permitem a pasteurização do produto dentro da embalagem e prolonga a vida útil em até 360 dias. O litro (L) ou quilo (kg) de *smoothie* variou de US \$ 7,15 a 24,29. Essa diferença pode estar relacionada ao valor das frutas e outros ingredientes contidos na formulação e na tecnologia de processamento utilizada (TIWARI, 2018; BEVILACQUA et al., 2018).

### 2.3.3 Composição Química de *Smoothies*

O teor de sólidos solúveis variou entre 10 a 18 Brix (S13 e S8, respectivamente). Todas as amostras apresentaram frutose, sacarose e glicose com alta variabilidade entre o menor e o maior valor (Tabela 2). Nenhuma das 17 amostras continha açúcares adicionados, mas tinha 2 a 7 tipos diferentes de frutas na composição em diferentes proporções.

O pH variou de 3,21 a 4,33 e acidez de 0,34 a 1,02 g/100 mL. O *smoothie* com maior acidez (S11) continha polpa de maçã, amora e framboesa em sua composição. A adição de berries aos sucos de maçã pode aumentar a acidez em 3 ou mais vezes (ZIELINSKI et al., 2012).

Os parâmetros de cor contribuem para a identidade visual do produto, sendo um dos primeiros aspectos avaliados pelo consumidor e pode afetar diretamente a decisão de compra (MENA et al., 2011; MEDINA-MEZA et al., 2015). Diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os maiores valores de Croma ( $C^*$ ) apareceram no grupo de *smoothies* com coloração amarela dominante, sendo que, neste grupo, a cor foi mais intensa em relação aos demais grupos.

O ângulo Hue ( $h^\circ$ ) foi maior no grupo de *smoothies* predominantemente de cor verde. A amostra S13, pertencente ao grupo das bebidas de coloração vermelha, foi a que apresentou menor  $C^*$  e um dos menores valores de  $h^\circ$ , possivelmente devido às características cromáticas do açaí que podem variar de violeta a marrom dependendo do tratamento térmico aplicado (JESUS; LEITE; CRISTIANINI, 2018).

O Croma ( $C^*$ ) variou de  $1,51 \pm 0,02$  na amostra S13 e  $69,87 \pm 0,04$  na amostra S4, e o ângulo Hue ( $h^\circ$ ) de  $15,44 \pm 0,30$  na amostra S11 (amora preta com framboesa) e  $84,52 \pm 0,08$  na amostra S6 (kiwi, abacaxi e limão).

Tabela 2 - Características físicas, químicas e instrumentais dos *smoothies* brasileiros

| Código da amostra | °Brix                     | Glucose g/100mL            | Frutose g/100mL          | Sacarose g/100mL         | pH                             | Acidez g/100mL             | Viscosidade mPa.s          | C*                        | Hue                       |
|-------------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| S1                | 13.5 <sup>e</sup> ± 0.5   | 2.36 <sup>h,i</sup> ± 0.01 | 3.95 <sup>m</sup> ± 0.01 | 5.23 <sup>a</sup> ± 0.02 | 3.87 <sup>c</sup> ± 0.01       | 0.63 <sup>e,f</sup> ± 0.02 | 27.7 <sup>n</sup> ± 0.6    | 62.95 <sup>c</sup> ± 0.06 | 67.29 <sup>d</sup> ± 0.02 |
| S2                | 17.3 <sup>b</sup> ± 0.5   | 4.01 <sup>c</sup> ± 0.03   | 5.89 <sup>i</sup> ± 0.01 | 3.48 <sup>e</sup> ± 0.02 | 3.6 <sup>d,e</sup> ± 0.2       | 0.63 <sup>e,f</sup> ± 0.02 | 210.7 <sup>b</sup> ± 0.6   | 29.22 <sup>l</sup> ± 0.02 | 45.22 <sup>h</sup> ± 0.07 |
| S3                | 11.6 <sup>fg</sup> ± 0.3  | 3.10 <sup>e,f</sup> ± 0.01 | 6.29 <sup>h</sup> ± 0.02 | 1.87 <sup>j</sup> ± 0.01 | 3.88 <sup>c</sup> ± 0.02       | 0.6 <sup>f,g</sup> ± 0.1   | 93 <sup>d</sup> ± 1        | 46.47 <sup>g</sup> ± 0.02 | 39.34 <sup>i</sup> ± 0.03 |
| S4                | 12.00 <sup>f</sup> ± 0.06 | 1.6 <sup>j</sup> ± 0.2     | 3.01 <sup>o</sup> ± 0.02 | 5.2 <sup>a</sup> ± 0.1   | 3.81 <sup>c,d</sup> ± 0.06     | 0.49 <sup>i,j</sup> ± 0.02 | 22.7 <sup>p</sup> ± 0.6    | 69.87 <sup>a</sup> ± 0.04 | 76.04 <sup>b</sup> ± 0.01 |
| S5                | 14.5 <sup>d</sup> ± 0.3   | 3.12 <sup>e</sup> ± 0.01   | 7.45 <sup>d</sup> ± 0.03 | 2.6 <sup>g</sup> ± 0.2   | 3.42 <sup>f,g,h,i</sup> ± 0.05 | 0.70 <sup>d</sup> ± 0.02   | 42.7 <sup>l</sup> ± 1.1    | 65.99 <sup>b</sup> ± 0.04 | 70.43 <sup>c</sup> ± 0.02 |
| S6                | 11.5 <sup>g</sup> ± 0.3   | 3.41 <sup>d</sup> ± 0.01   | 7.28 <sup>e</sup> ± 0.02 | 2.30 <sup>h</sup> ± 0.01 | 3.5 <sup>e,f,g</sup> ± 0.1     | 0.60 <sup>f,g</sup> ± 0.02 | 60.3 <sup>g</sup> ± 0.6    | 46.1 <sup>f</sup> ± 0.4   | 84.52 <sup>a</sup> ± 0.08 |
| S7                | 11.6 <sup>fg</sup> ± 0.3  | 3.00 <sup>f</sup> ± 0.01   | 6.39 <sup>g</sup> ± 0.02 | 1.97 <sup>i</sup> ± 0.01 | 3.74 <sup>e,f,g</sup> ± 0.09   | 0.57 <sup>g,h</sup> ± 0.05 | 61.7 <sup>f</sup> ± 1.1    | 48.01 <sup>e</sup> ± 0.06 | 84.3 <sup>a</sup> ± 4.2   |
| S8                | 18.0 <sup>a</sup> ± 0.1   | 4.80 <sup>a</sup> ± 0.01   | 8.78 <sup>b</sup> ± 0.01 | 1.71 <sup>k</sup> ± 0.01 | 3.39 <sup>g,h,i</sup> ± 0.01   | 0.70 <sup>d</sup> ± 0.01   | 180.7 <sup>c</sup> ± 0.6   | 18.98 <sup>m</sup> ± 0.05 | 18.96 <sup>n</sup> ± 0.08 |
| S9                | 15.2 <sup>c</sup> ± 0.2   | 3.01 <sup>e,f</sup> ± 0.01 | 6.96 <sup>f</sup> ± 0.01 | 2.30 <sup>h</sup> ± 0.01 | 3.44 <sup>e,f,g,h</sup> ± 0.01 | 0.95 <sup>b</sup> ± 0.02   | 25.00 <sup>o</sup> ± 0.01  | 50.77 <sup>d</sup> ± 0.08 | 46.79 <sup>g</sup> ± 0.07 |
| S10               | 14.3 <sup>d</sup> ± 0.5   | 4 <sup>b</sup> ± 1         | 9.12 <sup>a</sup> ± 0.01 | 1.69 <sup>k</sup> ± 0.01 | 3.26 <sup>h,i</sup> ± 0.05     | 0.68 <sup>d,e</sup> ± 0.09 | 51 <sup>j</sup> ± 1        | 30.82 <sup>k</sup> ± 0.06 | 22.03 <sup>l</sup> ± 0.08 |
| S11               | 10.2 <sup>h</sup> ± 0.3   | 2.44 <sup>gh</sup> ± 0.01  | 3.73 <sup>n</sup> ± 0.01 | 2.6 <sup>l</sup> ± 0.2   | 3.21 <sup>i</sup> ± 0.02       | 1.02 <sup>a</sup> ± 0.02   | 38.00 <sup>m</sup> ± 0.01  | 8.87 <sup>p</sup> ± 0.05  | 15.4 <sup>p</sup> ± 0.3   |
| S12               | 17.1 <sup>b</sup> ± 0.2   | 4.37 <sup>b</sup> ± 0.01   | 8.16 <sup>c</sup> ± 0.01 | 3.46 ± 0.01 <sup>e</sup> | 3.6 <sup>d,e,f</sup> ± 0.3     | 0.47 <sup>j</sup> ± 0.00   | 328.00 <sup>a</sup> ± 0.01 | 39.32 <sup>h</sup> ± 0.02 | 54.98 <sup>f</sup> ± 0.04 |
| S13               | 10.1 <sup>h</sup> ± 0.2   | 1.40 <sup>k</sup> ± 0.01   | 2.40 <sup>q</sup> ± 0.01 | 3.95 ± 0.01 <sup>d</sup> | 3.90 <sup>c</sup> ± 0.04       | 0.53 <sup>h,i</sup> ± 0.00 | 86.00 <sup>e</sup> ± 0.01  | 1.51 <sup>q</sup> ± 0.02  | 16.6 <sup>o</sup> ± 1.5   |
| S14               | 11.3 <sup>g</sup> ± 0.3   | 2.30 <sup>i</sup> ± 0.01   | 2.94 <sup>p</sup> ± 0.01 | 3.02 ± 0.02 <sup>f</sup> | 3.5 <sup>e,f,g</sup> ± 0.3     | 0.76 <sup>c</sup> ± 0.02   | 47.00 <sup>k</sup> ± 0.01  | 35.83 <sup>i</sup> ± 0.01 | 32.97 <sup>j</sup> ± 0.08 |
| S15               | 14.4 <sup>d</sup> ± 0.4   | 3.44 <sup>d</sup> ± 0.01   | 4.56 <sup>j</sup> ± 0.01 | 4.20 ± 0.01 <sup>c</sup> | 3.94 <sup>b,c</sup> ± 0.04     | 0.47 <sup>j</sup> ± 0.00   | 53.00 <sup>i</sup> ± 0.01  | 16.31 <sup>n</sup> ± 0.03 | 21.2 <sup>m</sup> ± 0.1   |
| S16               | 13.1 <sup>e</sup> ± 0.2   | 2.54 <sup>g</sup> ± 0.01   | 4.41 <sup>k</sup> ± 0.01 | 4.61 ± 0.01 <sup>h</sup> | 4.15 <sup>ab</sup> ± 0.05      | 0.34 <sup>k</sup> ± 0.02   | 53.7 <sup>i</sup> ± 0.6    | 13.5 <sup>o</sup> ± 0.1   | 25.1 <sup>k</sup> ± 0.2   |
| S17               | 15.1 <sup>c</sup> ± 0.1   | 2.4 <sup>h</sup> ± 0.1     | 4.28 <sup>l</sup> ± 0.01 | 4.60 <sup>b</sup> ± 0.06 | 4.3 <sup>a</sup> ± 0.1         | 0.35 <sup>k</sup> ± 0.04   | 55.3 <sup>h</sup> ± 0.6    | 33.0 <sup>j</sup> ± 0.2   | 57.71 <sup>e</sup> ± 0.08 |

Fonte: A autora

Nota: C: croma; h°: ângulo hue. Valores e médias ± DP. Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas.

A viscosidade das amostras variou de 22,67 (S4, manga e maracujá) a 328,00 mPa.s (S12, maçã e banana). Essa diferença é relacionada ao tipo e proporção de frutas das misturas. A presença de banana também aumenta a viscosidade das bebidas, devido a polissacarídeos como pectina e amido presentes nessas frutas. A viscosidade se destaca como um indicador de qualidade, pois contribui consideravelmente para a percepção sensorial e apreciação das bebidas (CAMACHO et al., 2015).

A diferença entre o menor e maior valor de compostos fenólicos totais (TPC) foi de 2,4 vezes, devido a diferentes misturas de ingredientes. As amostras contendo cereja, maçã e berries como framboesa, uva e açaí (S3, S8, S12 e S13, Tabela 1) apresentaram valores significativamente maiores de TPC (Tabela 3).

Os carotenóides foram mais concentrados nas bebidas S1 a S4, que são à base de frutas amarelas (Tabela 1). A amostra S1, à base de manga e laranja rosa apresentou 1,7 a 2,7 vezes mais betacaroteno que as demais amostras do mesmo grupo (Tabela 3). A amostra S3 (acerola com mamão) apresentou os maiores teores de ácido ascórbico, DPPH, FRAP e ABTS (Tabela 3). A polpa de acerola pode conter uma média de 1600 mg de Vitaminas C em 100 gramas e compostos fenólicos, especialmente cianidina 3-ramnosídeo e quercetina 3-ramídeo. Desta forma, a atividade antioxidante do purê de acerola pode aumentar em 8 vezes mais a atividade antioxidante quando comparado a outros purês (MÜLLER et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2011; USDA, 2016). Os carotenóides presentes no mamão também podem interferir na atividade antioxidante, pois essa fruta contém um conteúdo significativo de beta-caroteno, beta-criptoxantina e licopeno, conhecidos como potentes antioxidantes (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

Tabela 3 - Fenóis totais, ácido ascórbico, carotenóides, DPPH, FRAP, ABTS e CUPRAC analisados em *smoothies* comerciais brasileiros

| Código da amostra | Fenóis totais<br>mg CAT/L | Acido Ascórbico<br>mg CQAE/L | Carotenóides*                |                                  | DPPH<br>μmol TE/L        | FRAP<br>μmol TE/L       | ABTS<br>μmol TE/L       | CUPRAC<br>μmol TE/L       |
|-------------------|---------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|
|                   |                           |                              | β –caroteno<br>mg/L          | Licopeno<br>mg/L                 |                          |                         |                         |                           |
| S1                | 793 <sup>l</sup> ± 27     | 11.54 <sup>g</sup> ± 0.77    | 9.50 <sup>a</sup> ± 0.01     | 4.90 <sup>a</sup> ± 0.01         | 2429 <sup>g</sup> ± 82   | 1073 <sup>l</sup> ± 11  | 3315 <sup>g</sup> ± 229 | 9253 <sup>i</sup> ± 57    |
| S2                | 797 <sup>k</sup> ± 13     | 12.61 <sup>f</sup> ± 1.09    | 3.0 <sup>b,c,d</sup> ± 0.4   | 0.50 <sup>f</sup> ± 0.01         | 1955 <sup>j</sup> ± 80   | 3382 <sup>h</sup> ± 106 | 3049 <sup>g</sup> ± 97  | 1240 <sup>g</sup> ± 565   |
| S3                | 1498 <sup>a</sup> ± 1     | 24.65 <sup>a</sup> ± 0.35    | 4.50 <sup>b,c</sup> ± 0.01   | 2.90 <sup>b</sup> ± 0.01         | 7333 <sup>a</sup> ± 347  | 9548 <sup>a</sup> ± 47  | 9801 <sup>a</sup> ± 609 | 25266 <sup>c</sup> ± 1040 |
| S4                | 747 <sup>n</sup> ± 16     | 11.53 <sup>g</sup> ± 0.77    | 5.60 <sup>b</sup> ± 0.01     | 4.50 <sup>a</sup> ± 0.07         | 1951 <sup>j</sup> ± 50   | 3128 <sup>i</sup> ± 5   | 1819 <sup>h</sup> ± 83  | 4093 <sup>k</sup> ± 332   |
| S5                | 652 <sup>p</sup> ± 19     | 8.87 <sup>n</sup> ± 0.43     | 1.50 <sup>c,d</sup> ± 0.01   | 2.40 <sup>b,c</sup> ± 0.01       | 4164 <sup>c</sup> ± 50   | 6898 <sup>d</sup> ± 122 | 6990 <sup>b</sup> ± 72  | 31306 <sup>a</sup> ± 503  |
| S6                | 825 <sup>h</sup> ± 5      | 13.85 <sup>b</sup> ± 0.75    | 0.20 <sup>d</sup> ± 0.01     | 0.20 <sup>f</sup> ± 0.01         | 2198 <sup>h,i</sup> ± 42 | 2988 <sup>i</sup> ± 267 | 3790 <sup>f</sup> ± 203 | 17053 <sup>f</sup> ± 152  |
| S7                | 764 <sup>m</sup> ± 42     | 11.09 <sup>k</sup> ± 0.79    | 0.20 <sup>d</sup> ± 0.01     | 0.20 <sup>f</sup> ± 0.01         | 2342 <sup>g,h</sup> ± 26 | 7963 <sup>b</sup> ± 181 | 5378 <sup>d</sup> ± 317 | 19820 <sup>e</sup> ± 141  |
| S8                | 1256 <sup>b</sup> ± 17    | 11.27 <sup>h</sup> ± 0.69    | 1.10 <sup>d</sup> ± 0.01     | 0.60 <sup>f,g</sup> ± 0.01       | 4176 <sup>c</sup> ± 140  | 5598 <sup>e</sup> ± 74  | 5904 <sup>c</sup> ± 39  | 25906 <sup>c</sup> ± 1222 |
| S9                | 971 <sup>f</sup> ± 22     | 11.19 <sup>j</sup> ± 0.72    | 0.90 <sup>d</sup> ± 0.02     | 0.90 <sup>d,e,f,g</sup><br>±0.01 | 2833 <sup>f</sup> ± 78   | 7374 <sup>c</sup> ± 101 | 5371 <sup>d</sup> ± 86  | 12920 <sup>g</sup> ± 173  |
| S10               | 1000 <sup>e</sup> ± 28    | 11.13 <sup>j</sup> ± 0.70    | 0.90 <sup>d</sup> ± 0.02     | 3,00 <sup>b</sup> ± 0.02         | 2111 <sup>i,j</sup> ± 36 | 1779 <sup>k</sup> ± 85  | 6078 <sup>c</sup> ± 112 | 9970 <sup>i</sup> ± 212   |
| S11               | 612 <sup>q</sup> ± 43     | 10.21 <sup>m</sup> ± 0.42    | 1.70 <sup>c,d</sup> ± 0.01   | 1.10 <sup>d,e,f,g</sup><br>±0.01 | 5009 <sup>b</sup> ± 35   | 706 <sup>m</sup> ± 25   | 2105 <sup>h</sup> ± 103 | 11040 <sup>h</sup> ± 282  |
| S12               | 1027 <sup>d</sup> ± 26    | 12.96 <sup>c</sup> ± 0.71    | 1.90 <sup>c,d</sup> ± 0.01   | 1.40 <sup>d,e,f</sup> ± 0.01     | 3582 <sup>d</sup> ± 70   | 2994 <sup>i</sup> ± 32  | 5475 <sup>d</sup> ± 146 | 22570 <sup>d</sup> ± 1626 |
| S13               | 1238 <sup>c</sup> ± 26    | 12.69 <sup>d</sup> ± 0.59    | 2.80 <sup>b,c,d</sup> ± 0.01 | 1.70 <sup>c,d</sup> ± 0.01       | 3260 <sup>e</sup> ± 86   | 2527 <sup>j</sup> ± 50  | 4582 <sup>e</sup> ± 194 | 27520 <sup>b</sup> ± 529  |
| S14               | 961 <sup>g</sup> ± 22     | 12.69 <sup>j</sup> ± 0.28    | 0.27 <sup>b,c,d</sup> ± 0.03 | 2.70 <sup>b</sup> ± 0.03         | 3347 <sup>e</sup> ± 44   | 4763 <sup>f</sup> ± 19  | 3975 <sup>f</sup> ± 63  | 5520 <sup>j</sup> ± 360   |
| S15               | 813 <sup>i</sup> ± 9      | 11.19 <sup>i</sup> ± 0.73    | 0.12 <sup>d</sup> ± 0.01     | 0.90 <sup>d,e,f,g</sup><br>±0.01 | 2431 <sup>g</sup> ± 40   | 4076 <sup>g</sup> ± 8   | 6041 <sup>c</sup> ± 146 | 19953 <sup>e</sup> ± 1242 |
| S16               | 668 <sup>o</sup> ± 4      | 10.29 <sup>l</sup> ± 0.27    | 0.27 <sup>b,c,d</sup> ± 0.05 | 2.0 <sup>c,d,e</sup> ± 0.1       | 1686 <sup>k</sup> ± 34   | 1721 <sup>k</sup> ± 63  | 3808 <sup>f</sup> ± 176 | 16686 <sup>f</sup> ± 115  |
| S17               | 798 <sup>j</sup> ± 13     | 12.69 <sup>e</sup> ± 0.45    | 0.07 <sup>d</sup> ± 0.01     | 0.70 <sup>e,f,g</sup> ± 0.02     | 1487 <sup>l</sup> ± 68   | 2639 <sup>j</sup> ± 144 | 4571 <sup>e</sup> ± 269 | 9020 <sup>i</sup> ± 173   |

Fonte: A autora

Nota: Valores são médias ± SD (n = 3). Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (p &lt;0,05).

Floridzina estava presente em 15 das 17 amostras e o ácido clorogênico estava presente em todas as amostras (Tabela 4). Floridzina é um marcador da presença de frutas como a maçã (ALVAREZ; et al., 2017) e/ou morango nos *smoothies*. Isso pode ser confirmado com as informações do rótulo das bebidas apresentados na Tabela 1. A amostra S12 apresentou valores elevados de epicatequina, floridzina, ácido clorogênico e ácido cafeico, entretanto não tinha a maior atividade antioxidante. A amostra S3, se destaca pela alta atividade antioxidante apresentou epicatequina em maior proporção em relação às demais amostras, mas não estatisticamente diferente das amostras S11, S12 e S13. Assim, a alta atividade antioxidante não está relacionada somente a concentração de compostos fenólicos, mas também pela presença de ácido ascórbico, beta-caroteno, licopeno (Tabela 3), bem como outros compostos desta mistura de frutas.

Tabela 4 - Perfil de compostos fenólicos (mg / L) analisados em *smoothies* comerciais brasileiros

| Código da amostra | Ácid galico              | Catequina                 | Epicatequina              | Floridzina                | Ácido clorogênico         | Ácido cafeico            | Ácido cumarico           |
|-------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| S1                | 25.1 <sup>a</sup> ± 0.7  | nd                        | nd                        | Nd                        | 6.95 <sup>n</sup> ± 0.02  | 0.19 <sup>f</sup> ± 0.0  | 0.18 <sup>h</sup> ± 0.01 |
| S2                | 23.8 <sup>b</sup> ± 0.5  | nd                        | nd                        | 4.89 <sup>i</sup> ± 0.04  | 24.16 <sup>f</sup> ± 0.09 | 0.15 <sup>g</sup> ± 0.01 | 0.18 <sup>h</sup> ± 0.01 |
| S3                | Nd                       | nd                        | 10.30 <sup>a</sup> ± 0.06 | 5.10 <sup>h</sup> ± 0.01  | 23.39 <sup>g</sup> ± 0.05 | nd                       | nd                       |
| S4                | 5.4 <sup>e</sup> ± 0.3   | 8.6 <sup>c</sup> ± 0.1    | 4.9 <sup>c</sup> ± 0.5    | 3.87 <sup>k</sup> ± 0.01  | 17.1 <sup>k</sup> ± 0.2   | nd                       | nd                       |
| S5                | nd                       | nd                        | nd                        | 5.08 <sup>h</sup> ± 0.01  | 35.75 <sup>c</sup> ± 0.08 | 0.21 <sup>d</sup> ± 0.01 | 0.17 <sup>h</sup> ± 0.01 |
| S6                | 9.06 <sup>c</sup> ± 0.05 | nd                        | 3.76 <sup>d</sup> ± 0.04  | 5.73 <sup>f</sup> ± 0.01  | 23.47 <sup>g</sup> ± 0.04 | 0.25 <sup>b</sup> ± 0.01 | 0.19 <sup>f</sup> ± 0.01 |
| S7                | nd                       | nd                        | nd                        | 5.91 <sup>d</sup> ± 0.00  | 24.32 <sup>f</sup> ± 0.05 | 0.25 <sup>b</sup> ± 0.01 | 0.19 <sup>f</sup> ± 0.01 |
| S8                | nd                       | nd                        | nd                        | 2.08 <sup>n</sup> ± 0.02  | 6.00 <sup>n</sup> ± 0.09  | nd                       | nd                       |
| S9                | 7.32 <sup>d</sup> ± 0.03 | 10.38 <sup>a</sup> ± 0.04 | nd                        | 7.17 <sup>c</sup> ± 0.02  | 33.5 <sup>d</sup> ± 0.1   | 0.25 <sup>b</sup> ± 0.01 | 0.37 <sup>a</sup> ± 0.01 |
| S10               | nd                       | nd                        | nd                        | 5.23 <sup>g</sup> ± 0.09  | 36.28 <sup>b</sup> ± 0.05 | 0.21 <sup>d</sup> ± 0.01 | 0.23 <sup>d</sup> ± 0.01 |
| S11               | nd                       | nd                        | 9.9 <sup>a</sup> ± 1.5    | 5.82 <sup>e</sup> ± 0.03  | 22.1 <sup>i</sup> ± 0.5   | nd                       | 0.24 <sup>c</sup> ± 0.01 |
| S12               | 3.9 <sup>f</sup> ± 0.3   | nd                        | 9.7 <sup>a</sup> ± 0.2    | 20.03 <sup>a</sup> ± 0.04 | 54.8 <sup>a</sup> ± 0.1   | 0.26 <sup>a</sup> ± 0.01 | 0.28 <sup>b</sup> ± 0.01 |
| S13               | 1.7 <sup>g</sup> ± 0.03  | nd                        | 6.7 <sup>a</sup> ± 0.2    | 4.18 <sup>j</sup> ± 0.04  | 19.87 <sup>j</sup> ± 0.06 | nd                       | nd                       |
| S14               | nd                       | nd                        | nd                        | 2.60 <sup>m</sup> ± 0.01  | 24.7 <sup>e</sup> ± 0.4   | nd                       | 0.18 <sup>h</sup> ± 0.01 |
| S15               | nd                       | 9.73 <sup>b</sup> ± 0.06  | nd                        | 8.2 <sup>b</sup> ± 0.1    | 22.12 <sup>b</sup> ± 0.06 | 0.20 <sup>e</sup> ± 0.01 | 0.20 <sup>e</sup> ± 0.01 |
| S16               | nd                       | nd                        | 4.5 <sup>c</sup> ± 0.2    | 5.82 <sup>e</sup> ± 0.00  | 15.68 <sup>l</sup> ± 0.01 | 0.19 <sup>f</sup> ± 0.01 | 0.18 <sup>g</sup> ± 0.01 |
| S17               | nd                       | nd                        | 6.85 <sup>b</sup> ± 0.04  | Nd                        | 22.57 <sup>h</sup> ± 0.08 | 0.25 <sup>c</sup> ± 0.01 | 0.19 <sup>f</sup> ± 0.01 |

Fonte: A autora

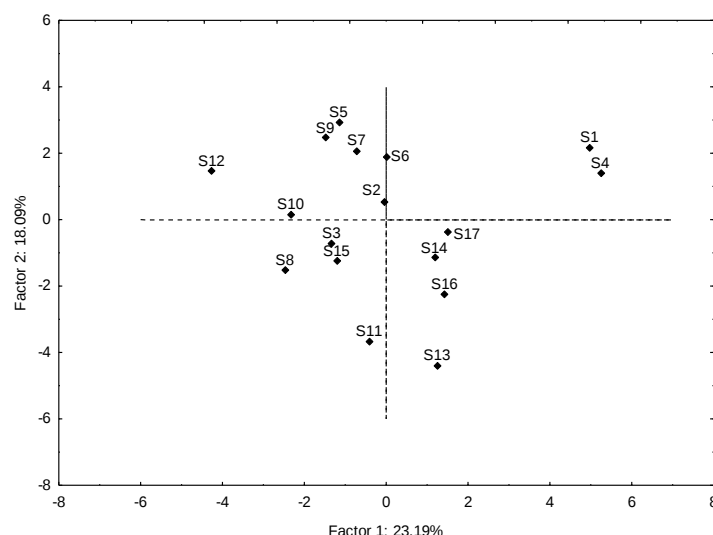
Nota: Valores são médias ± DP (n = 3). Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (p < 0,05).

Todos os dados de composição química obtidos para os *smoothies* passaram por análise multivariada. A análise de componentes principais (PCA) foi realizada. O fator 1 explicou até 23,19% da variância total, o fator 2 explicou 18,09%, totalizando 41,28% da variância total (Figura 4). Sete amostras (S2, S5, S6, S7, S9, S10 e S12) apresentaram similaridade, apesar de conterem ingredientes diferentes, pois duas eram a base de frutas amarelas duas a base de frutas verdes e três a base de frutas vermelhas.

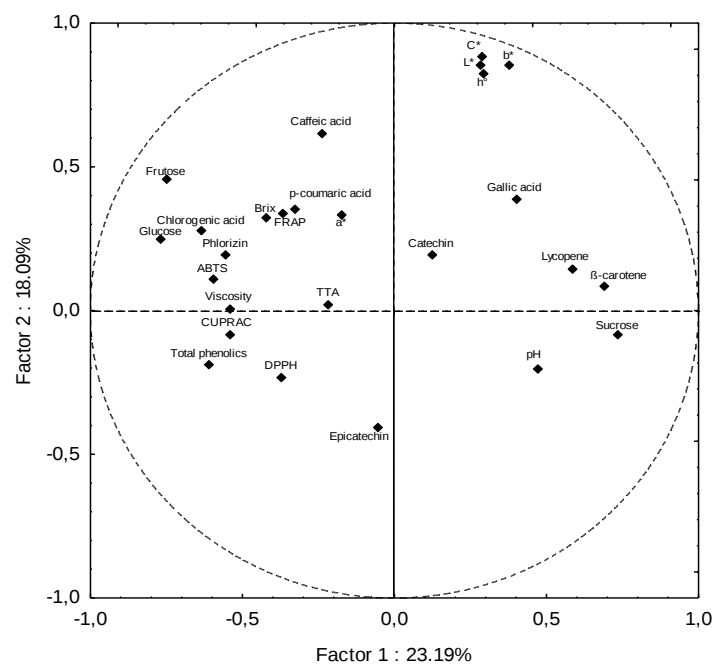
O conjunto de características que se correlacionaram nessas amostras foram o teor de glicose e frutose, brix, viscosidade,  $a^*$ , FRAP, ABTS e a similaridade na presença de ácido cafeico, ácido p-cumárico, ácido clorogênico e floridzina nas amostras. O único ingrediente comum entre essas sete amostras foi a maçã, na forma de suco concentrado ou de purê. Isso pode justificar algumas das características similares entre elas. Devido ao seu teor de frutose e baixo custo, a maçã pode ser usada em bebidas com o objetivo de corrigir a acidez e proporcionar sabor adocicado. Na forma de purê também pode contribuir para a viscosidade. Sua composição de ácido clorogênico, catequinas, epicatequinas, cianidinas, quercitinas, rutinas e floridzinas podem conferir à bebida um aumento e sua atividade antioxidante (ZARDO et al., 2013).

As amostras S13, S14, S16 e S17 foram as que menos se assemelham às demais. Em comum, eles tiveram a presença de banana e frutas vermelhas na composição, o que pode justificar a presença de sacarose e baixos valores de pH. A similaridade entre as amostras S1 e S4 foi influenciada pelos carotenóides, catequina, conteúdo de ácido gálico e parâmetros de cor (Figura 1 - A e B). O TPC, epicatequina e atividade antioxidante por CUPRAC e DPPH se correlacionaram no grupo com as amostras S3, S8, S11 e S15.

Figura 4 - Gráfico de dispersão 2-D dos *smoothies* comerciais brasileiros (A) e suas respectivas variáveis correlacionadas (B)



(A)

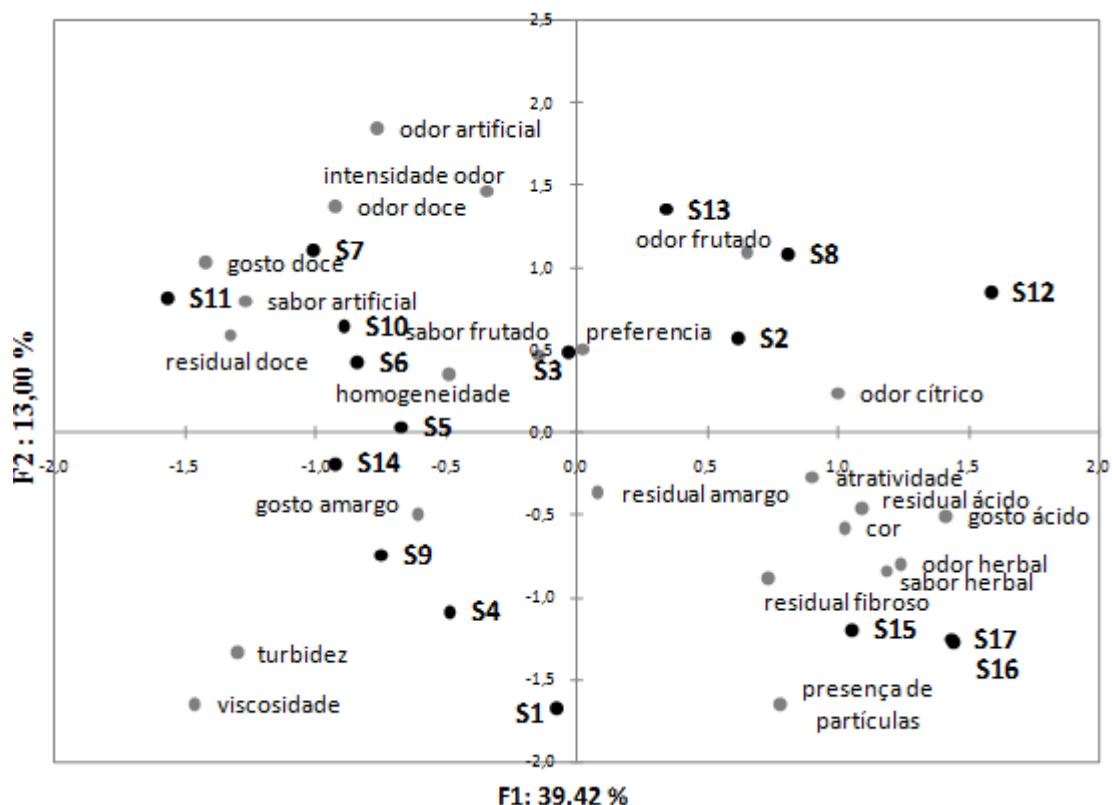


(B)

#### 2.3.4 Descrição Sensorial dos *Smoothies* Comerciais Brasileiros

A Análise Generalizada de Procrustes, que aproxima os resultados gerando a posição média dos atributos pesquisados, permitiu obter os resultados apresentados na Figura 2. A variância acumulada entre F1 e F2 foi de 52,42%. As amostras localizadas no mesmo quadrante são consideradas semelhantes e as amostras nos quadrantes opostos têm características opostas.

Figura 5 - Resultados da análise sensorial aplicada aos *smoothies* comerciais brasileiros por Análise Procrustes Generalizada (GPA)



Fonte: A autora

Foi possível descrever que as amostras do quadrante superior e inferior direito da figura, que são S2, S8, S12, S13, S15, S16 e S17 tinham em comum características residual e sabor ácido, vivacidade e intensidade da cor, odor frutado, cítrico e herbal e sabor herbal, resíduo fibroso e amargo (Figura 5). Essas características foram correlacionadas com preferência e atratividade pelos avaliadores. Todas essas amostras continham banana (exceto S8) e 6 (seis) delas tinham alguma composição de frutas vermelhas, como açaí, framboesa, morango ou uva (Tabela 1). As amostras S1, S4, S9 e S14 foram descritas como viscosas, turvas e amargas, e 2 (duas) delas tinham manga como ingrediente comum. S3, S5, S6, S7, S10 e S11 foram descritos como homogêneos, sabor artificial e frutado, residual doce, sabor adocicado, odor artificial e intenso. A maioria dessas amostras contém frutas classificadas como ácidas e / ou adstringentes como acerola, kiwi, limão e amora.

*Smoothies* elaborados com diferentes misturas de frutas são excelentes alternativas aos produtos tradicionais e já conhecidos, como sucos e néctares. O mix de variedades de frutas permite não apenas obter um produto sensorialmente mais atraente, mas, na maioria deles, com mais benefícios de promoção da saúde (ZIELINSKI et al., 2012; TELESZKO; WOJDYO, 2014).

Em relação ao objetivo da bebida, nenhum dos fabricantes utilizou especificamente as palavras saúde e / ou perda de peso como apelo ao consumo do produto, que foram citados na pesquisa online como motivação para o consumo.

A amostra S12 pode ser destacada por ter alta atividade antioxidante. No entanto, esta amostra pode refletir negativamente no consumidor devido ao alto teor de glicose. A categoria de sucos sofre forte pressão sobre a necessidade de reduzir o teor de açúcar. A amostra S3 que apesar do menor teor de açúcar, alto teor de betacaroteno, catequina, fenóis totais e alta atividade antioxidante, não apresentou sabor preferido (acerola e mamão) citado na pesquisa online. Nowicka e Wojdylo (2016) ao estudarem diferentes formulações com a adição de ingredientes que tornaram os *smoothies* mais interessantes do ponto de vista nutricional apresentaram maior taxa de rejeição pelos avaliadores na análise sensorial. Diante desses resultados, o desafio de desenvolver um produto com as características sensoriais, nutricionais e funcionais desejadas pelos consumidores é notável.

## 2.4 CONCLUSÃO

O padrão de consumo de *smoothies* da população brasileira pode ser descrito como um produto apreciado por mulheres jovens, estudantes, solteiras, de classe social alta e que vivem na região sul do Brasil. A motivação para o consumo é a saúde em conjunto com o sabor do produto. O morango é a fruta preferida entre os consumidores e o volume de consumo é de até 250 mL por vez.

Um fator limitante importante para o consumo de *smoothies* pode ser a falta de conhecimento sobre o conceito e propósito dessa bebida. Por ser um produto de baixa circulação no Brasil, os *smoothies* podem ser considerados um produto não popular e de acesso restrito a uma pequena parcela da população brasileira.

As características físico-químicas dos *smoothies* brasileiros são bastante distintas devido à variedade de formulações existentes.

Foi possível gerar termos descritivos em comum quando as amostras foram agrupadas por semelhança e esses poderão ser utilizados em pesquisas futuras que investiguem a sensorialidade de bebidas tipo *smoothie*. Os termos se relacionaram com o sabor (artificial, frutado e herbal), residual (ácido, amargo, doce e fibroso), gosto (ácido e doce), odor (artificial, cítrico, doce, frutado e herbal), intensidade do odor, intensidade da cor, presença de partículas, homogeneidade, turbidez e viscosidade.

Essa pesquisa nos permitiu concluir que os produtos existentes no mercado brasileiro não são moldados pelas expectativas do consumidor, possivelmente porque não são projetados com base em informações coletadas pela população. Projetar um produto moldado com as informações apresentadas nesta pesquisa pode aumentar a chance de incrementar o consumo dessa bebida pelo público consumidor e conquistar novos consumidores.

## REFERÊNCIAS

- ALBERTI, A.; et al. Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 149, p. 151-158, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.086> Acesso em: 22 fev. 2018.
- ALVAREZ, L. V. H.; et al. Monitoring of the phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of apple beverages according to geographical origin and their type: a chemometric study. **LWT - Food Science and Technology**, v. 84, p. 385-393, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.078>. Acesso em: 22 fev. 2018.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official methods of analysis of AOAC International**. 21. ed. Gaithersburg: Maryland, 2019.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>. Acesso em: 22 fev. 2018.
- BEVILACQUA, A.; et al. Nonthermal technologies for fruit and vegetable juices and beverages: overview and advances. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, p. 2-62, 2018.
- BRAND-WILLIAMS, W.; COUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/s0023-6438(95)80008-5) Acesso em: 22 fev. 2018.
- CAMACHO, S.; et al. Just noticeable differences and weber fraction of oral thickness perception of model beverages. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 7, p. S1583-S1588, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12922>. Acesso em: 22 fev. 2018.
- CANO-LAMADRID, M.; et al. Formulation and storage effects on pomegranate *smoothie* phenolic composition, antioxidant capacity and color. **LWT - Food Science and Technology**, v. 96, p. 322-328, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.05.047>. Acesso em: 22 fev. 2018.
- DAIROU, V.; SIEFFERMANN, J. M. A Comparison of 14 jams characterized by conventional profile and a quick original method, the Flash Profile. **Journal of Food Science**,

v. 67, p. 826-834, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10685.x>  
Acesso em: 22 fev. 2018.

DI CAGNO, R.; et al. Fermented *Portulaca oleracea* L. juice: anovel functional beverage with potential ameliorating effects on the intestinal inflammation and epithelial injury. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p. 248, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu11020248>.  
Acesso em: 22 fev. 2018.

GLOBAL Industry Analysts. **Smoothies**: a global strategic business report. 2015. Disponível em: <[http://www.strategyr.com/smoothies\\_Market\\_Report.asp](http://www.strategyr.com/smoothies_Market_Report.asp)>. Acesso em: 12 fev. 2016.

ISABELLE, M.; et al. Antioxidant activity and profiles of common vegetables in Singapore. **Food Chemistry**, v. 120, p. 993-1003, 2010. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.038>. Acesso em: 22 fev. 2018.

JESUS, A. L. T.; LEITE, T. S.; CRISTIANINI, M. High isostatic pressure and thermal processing of açai fruit (*Euterpe oleracea* Martius): effect on pulp color and inactivation of peroxidase and polyphenol oxidase. **Food Research International**, v. 105, p. 853-862, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.013>. Acesso em: 22 fev. 2018.

KEENAN, D. F.; et al. Effect of sonication on the bioactive, quality and rheological characteristics of fruit *smoothies*. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, p. 827-836, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02915.x>.  
Acesso em: 22 fev. 2018.

MEDINA, M. B. Determination of the total phenolics in juices and superfruits by a novel chemical method. **Journal of Functional Foods**, v. 3, n. 2. p. 79-87, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2011.02.007> Acesso em: 22 fev. 2018.

MEDINA-MEZA, I. G.; et al. Effects of thermal and high pressure treatments in color and chemical attributes of an oil-based spinach sauce. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, p. 86-94, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.033>. Acesso em: 22 fev. 2018.

MINTEL GROUP. **Made to order: smoothies**. 2015. Disponível em:  
<http://store.mintel.com/made-to-order-smoothies-us-march-2015> Acesso em: 22 fev. 2016.

MODELL, S. Triangulation between case study and survey methods in management accounting research: an assessment. **Management Accounting Research**, v. 16, p. 231-254, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mar.2005.03.001>. Acesso em: 22 fev. 2018.

MONTANUCI, F. D.; MARQUES, D. R.; MONTEIRO, A. R. G. Flash Profile for rapid descriptive analysis in sensory characterization of passion fruit juice. **Acta Scientiarum Technology**, v. 37, p. 337-344, 2015. Disponível em:  
<https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v37i3.26238> Acesso em: 12 fev. 2018.

MÜLLER, L.; et al. Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 6, p. 992-999, 2010.

NIELSEN INSTITUTE. **Inovation**. Disponível em:  
<http://www.nielsen.com/br/pt/solutions.html> Acesso em: 8 may 2018.

NOWICKA, P.; WOJDYLO, A. Stability of phenolic compounds, antioxidant activity and colour through natural sweeteners addition during storage of sour cherry puree. **Food Chemistry**, v. 196, p. 925-934, 2016. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.019>. Acesso em: 22 fev. 2018.

RE, R.; et al. Antioxidant activity applying an improved ABST radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999. Disponível em:  
[https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3) Acesso em: 22 fev. 2018.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: ILSI Press, 2001.

SAFEFOOD. **Smoothies**: consumer knowledge, attitudes and beliefs around the nutritional content of *smoothies*. 2009. Disponível em:  
[http://www.safefood.eu/SafeFood/media/SafeFoodLibrary/Documents/Publications/Research%20Reports/9354-smoothies-AW\\_web-FINAL-030309.pdf](http://www.safefood.eu/SafeFood/media/SafeFoodLibrary/Documents/Publications/Research%20Reports/9354-smoothies-AW_web-FINAL-030309.pdf) Acesso em: 15 fev. 2015.

SIJTSEMA, S. J.; et al. Consumption and perception of processed fruits in the Western Balkan region. **LWT - Food Science and Technology**, v. 49, p. 293-297, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.025>. Acesso em: 22 fev. 2018.

TELESZKO, M.; WOJDYLO, A. Bioactive compounds vs. organoleptic assessment of 'smoothies': type products prepared from selected fruit species. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 49, p.98-106, 2014.

TITUS, D. **Smoothie!** The original *smoothie* book. California: Juice Gallery Multimedia, 2000. v. 1, p. i2-i4.

TIWARI, U. Production of fruit based *smoothies*. In: RAJAURIA, G.; TIWARI, B. K. **Fruit juices**: extraction, composition, quality and analysis. London: Elsevier, 2018. Chap. 1, p. 261-278.

ZARDO, D. M.; et al. Phenolic profile and antioxidant capacity of the principal apples produced in Brazil. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v. 64, n. 5, p. 611-620, aug. 2013.

ZIELINSKI, A. A. F.; et al. Development and optimization of a HPLC-RI method for the determination of major sugars in apple juice and evaluation of the effect of the ripening stage. **Food Science and Technology**, v. 34, p. 38-43, 2014a. Disponível em:  
<https://doi.org/10.1590/s0101-20612014005000003>. Acesso em: 22 fev. 2018.

ZIELINSKI, A. A. F.; et al. The association between chromaticity, phenolics, carotenoids, and in vitro antioxidant activity of frozen fruit pulp in Brazil: an application of chemometrics. **Journal of Food ScienceChicago**, v. 79, p. C510-C516, 2014b. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12389> Acesso em: 22 fev. 2018.

ZIELINSKI, A. A. F.; et al. Blueberry extract to enhance the antioxidant potential of apple juice. **Fruit Processing**, v. 3, p. 94-99, 2012.

ZIELINSKI, A. A. F., et al. Effect of cryoconcentration process on phenolic compounds and antioxidant activity in apple juice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 6, p. 2786-2792, 2019

## CAPÍTULO 3 - DESENVOLVIMENTO DE UM SMOOTHIE FERMENTADO PELOS MICRORGANISMOS DA KOMBUCHA

### RESUMO

*Smoothie* e kombucha se enquadram na categoria de bebidas com características apreciadas pelo consumidor contemporâneo ao agregarem sabor, praticidade e propósito de saúde simultaneamente. O objetivo foi desenvolver um *smoothie* fermentado por microrganismos da Kombucha, apresentando sua composição físico-química, funcional e descrição sensorial. Dez (10) misturas foram definidas segundo um delineamento de mistura simplex centroid e analisadas sensorialmente. As duas melhor aceitas pelos provadores foram fermentadas por 10, 15 e 20 horas por microrganismos da kombucha e submetidas a nova análise sensorial. A bebida fermentada que se destacou sensorialmente foi submetida a análises físico-químicas a fim de verificar se tinha resultado expressivo quanto ao perfil nutricional e funcional em comparação às bebidas não fermentadas selecionadas. A fermentação do *smoothie* resultou em redução de 13,3% de glucose (1,80 para 1,56 g/100 mL) e 16,11% na frutose (2,98 para 2,50 g/100 mL), 27% a mais de acidez (0,65 para 0,83 g/100 mL), 2,7 vezes mais ácido ascórbico (5,4 para 14,60 mg/L), 7,6 % mais fenóis totais (10758 para 11641 mg CAT/L), duas vezes mais Epicatequina (14,24 para 29,80 mg/L), 1,5 vezes mais floridzina (2,92 para 4,17 mg/L), 7% mais ácido clorogênico (40,92 para 43,96 mg/L), além de aumento na intensidade da cor da bebida e ter 14,6% maior potencial de inibição da enzima alfa glucosidase em relação às bebidas não fermentadas (IC<sub>50</sub> = 68,90 mg/mL *versus* 80,61 mg/mL). A atividade antioxidante foi maior nas bebidas não fermentadas. Dessa forma, foi possível desenvolver e apresentar um *smoothie* fermentado e dois não fermentados que se destacaram entre as bebidas formuladas por agregarem qualidade sensorial e funcional.

**Palavras-chave:** Bebidas. *Flash profile*. *Camellia sinensis*. Fermentação acética.

### 3.1 INTRODUÇÃO

Os produtos alimentícios funcionais aguçaram o interesse de partes interessadas no potencial econômico e uso desses como estratégias de prevenção em saúde pública. As bebidas são, de longe, a categoria de alimentos funcionais mais ativa, devido à conveniência e possibilidade de atender às demandas dos consumidores quanto ao conteúdo, tamanho, forma e aparência das embalagens, além da facilidade de distribuição e armazenamento de produtos refrigerados e relativamente estáveis nas prateleiras de pontos de venda (CORBO et al., 2014).

Em contrapartida, a sociedade ocidental nunca anseou tanto por sucos, chás, *smoothies* entre outras bebidas que possam fornecer além de nutrientes, ingredientes que tenham função preventiva e/ou façam parte de tratamentos de saúde e, em especial, que confirmem a sensação de bem estar ao consumidor (KING et al., 2015).

Os *smoothies* são exemplo de bebidas que se enquadram nessa demanda e suas propriedades tecnológicas e funcionais poderão se tornar um diferencial competitivo. Um dos fatores que influenciaram e continuarão influenciando o crescimento do mercado de *smoothies* nos anos de 2016 até 2021 trata-se do marketing desse produto focado em saúde e ao interesse do consumidor em ter lanches saudáveis (KANDYLIS et al, 2016; MINTEL GROUP, 2016; PICOUET et al., 2016).

O desafio do desenvolvimento de novas bebidas saudáveis, está em compartilhar, simultaneamente, atendimento a necessidade dos consumidores, aceitação sensorial e diferenciação para alcançar a fidelização. 1 a cada 200 novos produtos é bem sucedido, necessitando investimento de tempo, disciplina e análise para entender os fatores que influenciam nas decisões de compra, e com base nisso, direcionar estratégias de promoção do produto (NIELSEN, 2018).

Além de produtos nutritivos e funcionais uma tendência crescente é o consumismo verde onde o uso de aditivos sintéticos é limitado e o interesse do consumidor tem foco em produtos naturais e orgânicos (CORBO et al., 2014; AZZURRA, MASSIMILIANO e ANGELA, 2019). A fermentação por bactérias acéticas e ácido lácticas tem sido recentemente considerada como uma natural e válida biotecnologia para manter e/ou melhorar a segurança, as propriedades nutricionais, sensoriais e a vida útil de frutas e vegetais (TIWARI, 2018).

Pesquisas trazem resultados favoráveis a partir da fermentação autóctona de *smoothies* e, em especial, utilizando bactérias lácticas (DI CAGNO et al., 2011; DI CAGNO, 2013; VALERO-CASES; FRUTOS, 2017), entretanto a viabilidade dessas bactérias em um ambiente desfavorável por conta da acidez dessa matriz é um ponto crítico. Bactérias acéticas são ácido tolerantes e até o presente momento, são escassas as pesquisas que aplicam a fermentação acética para bebidas do tipo *smoothie*.

A Kombucha é uma bebida obtida da fermentação acética e láctica, em um meio açucarado contendo chá (*Camellia sinensis*) a partir de um aglomerado de bactérias e leveduras conhecido como SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) (VILLARREAL-SOTO et al., 2018). Durante a fermentação, metabólitos do processo fermentativo são produzidos no meio. Entre esses estão o ácido acético, ácido glucurônico, ácido láctico, fenóis, vitaminas e minerais que podem ter atividade biológica apreciadas, em especial em relação à atividade anti glicêmica, profilaxia de doenças do fígado, melhora da digestão e possível efeito na melhora do sistema imunológico (CHAKRABORTY et al., 2016; JAYABALAN; MALBASA; SATHISHKUMAR, 2016; LEAL et al., 2018) o que a torna um ingrediente promissor para o uso em bebidas saudáveis.

Portanto, o objetivo dessa pesquisa foi desenvolver um *smoothie* fermentado por microrganismos da Kombucha, apresentando sua composição físico-química, funcional e descrição sensorial.

## 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.2.1 Material

Os ingredientes foram adquiridos no comércio local da cidade de Ponta Grossa - PR.

As polpas utilizadas nos sabores acerola (*Malpighia emarginata*, Verde Brasil, Pirai do Sul-PR, Brasil), amora (*Rubus* spp, Verde Brasil, Pirai do Sul-PR, Brasil) e morango (*Fragaria* spp., Verde Brasil, Pirai do Sul-Pr, Brasil) eram de origem orgânica e se mantiveram congeladas (-15 a -18 °C) até o momento de preparo dos *smoothies*.

O suco crioconcentrado de maçã (*Malus domestica* Bork) Gala foi obtido conforme metodologia descrita por Zielinski et al. (2019) e padronizado a 38° Brix.

O preparo do chá (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze), (Leão Alimentos e Bebidas Ltda, Fazenda Rio Grande-PR, Brasil) seguiu o protocolo de Zielinski et al. (2014 a) no qual dois gramas das folhas do chá foram extraídos com 100 mL de água destilada a 80° C em um Erlenmeyer, coberto com uma tampa. O procedimento de extração foi em período de 7,5 minutos com agitação magnética. A mistura foi então filtrada com um papel qualitativo Whatman #1 e, em seguida, utilizado para o preparo das misturas.

A fermentação do chá branco para obter a Kombucha foi feita durante 7 dias em temperatura de 25 °C em condições aeróbias conforme protocolo de segurança sugerido pela *FDA Model Food Code* (Nummer, 2013) que se refere a Boas Práticas de Fabricação da Kombucha e destaca o monitoramento do pH como um ponto crucial para a segurança microbiológica da bebida. A colônia mãe ou SCOBY era de origem certificada, com 8 cm de diâmetro comercializada em saco selado a vácuo com *starter* de 200 ml para produção inicial de 1,5 L (Fermentare Produção e Comércio de Produtos Naturais LTDA, São Paulo-SP, Brasil) e o açúcar utilizado foi do tipo demerara orgânico (Native, São Paulo-SP, Brasil).

### 3.2.2 Químicos

Os padrões de compostos fenólicos utilizados na CLAE ácido gálico (3,4,5-triidroxibenzóico), ácido 5-clorogênico, (+)-catequina, epigalo catequina, epigalo catequina galato, (-)-epicatequina galato, procianidina B1, floridzina e cafeína foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Para a análise de carotenoides foram utilizados acetona (Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA), éter de petróleo (Anidrol, Diadema, São Paulo, Brasil) e água ultrapura (Milli-Q, Millipore, São Paulo, SP, Brasil).

### 3.2.3 Métodos

#### 3.2.3.1 Planejamento de misturas para o *smoothie*

As proporções dos ingredientes foram definidas segundo um delineamento de mistura simplex centroid pelo programa Statistica® (BRUNS; SCARMINIO; BARROS NETO, 2003). Para utilização do programa, a soma de proporções dos ingredientes deveria corresponder a 100% e as restrições de mínimo e máximo foram definidas com base em experimentos prévios. A combinação de ingredientes passou por um planejamento experimental que resultou em 10 tipos de misturas (E1 ao E10). Os modelos propostos foram analisados estatisticamente. Foi estabelecida que a base da bebida deveria compor 70% e dessa 60% era composta por polpa de morango e 40% de suco crioconcentrado de maçã Gala.

O planejamento de misturas foi praticado de acordo com a Tabela 5 na qual A = polpa de amora B = polpa de acerola e C = chá branco.

Tabela 5 - Delineamento de mistura simplex centroid dos *smoothies* planejados

| Experimento | Polpa de Amora | Polpa de Acerola | Chá Branco |
|-------------|----------------|------------------|------------|
| E1          | 1              | 0                | 0          |
| E2          | 0              | 1                | 0          |
| E3          | 0              | 0                | 1          |
| E4          | 0,5            | 0,5              | 0          |
| E5          | 0,5            | 0                | 0,5        |
| E6          | 0              | 0,5              | 0,5        |
| E7          | 0,33           | 0,33             | 0,33       |
| E8          | 0,66           | 0,17             | 0,17       |
| E9          | 0,17           | 0,66             | 0,17       |
| E10         | 0,17           | 0,17             | 0,66       |

Fonte: Statistica®

Nota: 1 = 30%, 0,5 = 15 %, 0,66 = 20 %, 0,33 = 10 % e 0,17 = 5 %, representando a porcentagem do total da bebida.

Para obter os *smoothies* todos os ingredientes foram homogeneizados em um *mixer* (BLACK & DECKER M100). As misturas foram armazenadas em garrafas de vidro esterilizadas com água a 120° C durante 15 minutos. As misturas elaboradas mantiveram-se em refrigeração (6-10° C) para análise sensorial ocorrida no mesmo dia que foram elaboradas e alíquotas foram congeladas para as demais análises.

### 3.2.3.2 Análise sensorial das misturas planejadas

As bebidas foram descritas sensorialmente por meio de análise de Perfil Livre ou *Flash Profile* (DAIROU; SIEFFERMANN, 2002). Os testes foram realizados em cabines individuais, sob luz branca, no laboratório de Análise Sensorial da Universidade Estadual de Ponta Grossa. As análises ocorreram em conformidade com o Comitê de Ética e Pesquisa sob o número: CAAE: 56282916.0.0000.0105 e número de parecer: 1.649.931. As amostras de *smoothies* (50 mL) foram servidas entre 10 a 12° C em copos plásticos transparentes de 50 mL (Copobras, Carmópolis, Brasil) em triplicata, codificados com três dígitos aleatórios (ASTM, 1986). Cada avaliador testou as amostras em seu tempo, e os dados foram coletados em fichas de avaliação. Os 9 avaliadores, professores e estudantes do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa, foram selecionados por meio de questionário individual, de acordo com a experiência com análise sensorial e métodos descritivos. Os dados coletados na análise sensorial foram submetidos ao Teste de Friedmann, a fim de verificar a ordenação da preferência dentre as amostras seguidos de Análise de Procrustes Generalizada, para obter a configuração de consenso da equipe sensorial, verificar o potencial de discriminação e repetibilidade, além de gerar mapas descritivos das amostras no programa Idiogrid® versão 2.4.

### 3.2.3.3 Fermentação do *smoothie*

A partir da definição sensorial das melhores misturas as mesmas foram adicionadas de chá branco fermentado (kombucha) na proporção definida para o chá branco no delineamento experimental, ou seja, 15% de kombucha foi adicionada à amostra E5 e 20% à amostra E10. As misturas foram mantidas em estufa (Incubadora MA 1415/300, Marconi, São Paulo, Brasil) a temperatura constante de 25° C durante 10, 15 e 20 horas seguidas originando

respectivamente as amostras E5F10, E10F10, E5F15, E10F15, E5F20 e E10F20. Para possibilitar a comparação entre as amostras pré e pós fermentação as mesmas foram submetidos a nova avaliação sensorial em conjunto com as amostras não fermentadas que se destacaram na primeira análise sensorial. Apenas os melhores resultados obtidos na segunda análise sensorial foram submetidos às análises físico-químicas. Para isso, as 3 amostras que se destacaram sensorialmente foram mantidas congeladas (-15 a -18 °C) até o momento de cada análise.

#### 3.2.3.4 Análises físico-químicas

Sólidos solúveis foram mensurados usando refratômetro (ABBE AR 1000 S, Megabrix, São Paulo, Brasil). O pH foi medido após calibração em pH 4,0 e 7,0 (Tec -3 MP, Tecnal, São Paulo, Brasil). Acidez total foi expressa em ácido cítrico (g/100 mL). 10 g de *smoothie* foram homogenizados com 90 mL de água destilada e titulado com NaOH até atingir pH de 8,3 (AOAC, 2019).

#### 3.2.3.5 Perfil de açúcares

Os teores de glucose, frutose e sacarose foram determinados por Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC Shimadzu RID 10-A, Shimadzu Co. Kyoto, Japão) segundo a metodologia proposta por (ZIELINSKI et al., 2014b). Foi realizada uma injeção de 10 µL de amostra previamente filtrada. A eluição ocorreu a 30° C, com uma taxa de fluxo de 0,5 mL/min, com ácido sulfúrico 5 mM na fase móvel. A coluna usada foi a Aminex HPX-87 H (300 x 7,8 mm). A detecção dos picos foi realizada em comparação ao tempo de retenção dos padrões sacarose, D-glucose e D-frutose da Sigma Aldrich (St Louis, MO, USA). Os resultados foram calculados segundo a equação da curva de cada açúcar, sendo: sacarose:  $y = 8E + 06 x - 372733$ ,  $R^2 = 0,9913$ , D-glucose:  $y = 9E + 06 x - 373844$ ,  $R^2 = 0,9925$  e D-frutose:  $y = 1E + 07 x - 445216$ ,  $R^2 = 0,9926$  e expressos em g/100 g de amostra.

### 3.2.3.6 Análise de fibras

Para análise de fibra alimentar utilizou-se um kit enzimático (Megazyme International Ireland Limited, Bray, Co. Wicklow, Ireland), que permite separar e quantificar gravimetricamente o conteúdo total de fibra alimentar (IAL, 2008). O resultado foi expresso em g/100g.

### 3.2.3.7 Parâmetros de cor

Os parâmetros de cor das amostras (Croma e ângulo Hue), foram obtidos através dos parâmetros  $a^*$  e  $b^*$  que foram determinados usando colorímetro (Minolta CM-5, Minolta Co. Ltda., Osaka, Japão). O equipamento foi previamente calibrado com água. As amostras foram colocadas em uma cubeta de vidro (CM A98, 10 mm) e os valores de  $L^*$ ,  $a^*$ , e  $b^*$  foram obtidos seis vezes pelo software SpectraMagic NX CM-S100w com um ângulo de observação de  $10^\circ$ . O parâmetro Croma ( $C^*$ ) foi calculado por  $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ . E o ângulo hue ( $h^*$ ) foi calculado por  $h^* = \tan^{-1} (b^*/a^*) + 180^\circ$  quando  $a^* < 0$  e  $h^* = \tan^{-1} (b^*/a^*) + 180^\circ$ .

### 3.2.3.8 Análise de viscosidade aparente

A viscosidade aparente em mili Pascal segundo (mPa.s) foi medida nos *smoothies* usando viscosímetro rotatório Brookfield® RVDV-II + Pro (Brookfield Engineering Labs, Middleboro, MA, USA) com eixo spindle SC4-21 equipado com um adaptador para pequenas amostras SC4-13RPY e um *spindle* Flag Impeller MVS1Y acoplado a um banho de Brookfield TC-112P (Middleboro, MA, USA). Dez gramas de cada amostra foram adicionados à câmara metálica do equipamento, permanecendo em repouso até o equilíbrio da temperatura antes do início da medida aplicando  $423 \times g$  durante 2 minutos a  $10 \pm 0,5^\circ\text{C}$  para simular a temperatura que normalmente esses produtos são consumidos. Os resultados de viscosidade aparente foram registrados a cada trinta segundos por dois minutos e as médias dos valores obtidos foram calculadas com o software Rheocalc® (ZORTÉA et al., 2011). A viscosidade aparente foi expressa em mPa.s.

### 3.2.3.9 Perfil de compostos fenólicos

As análises dos compostos fenólicos individuais foram realizadas em CLAE, como descrito por Alberti et al. (2014). Primeiramente, 10 gramas da amostra foram liofilizadas (LD 1500, Terroni, São Paulo, SP, Brasil) e reconstituídas com 10 mL de metanol a 70%, homogeneizadas, centrifugadas e filtradas em filtro seringa (nylon) 0,22  $\mu$ m (Waters, Milford, MA, USA) e dispostas em vials para posterior análise.

As análises foram conduzidas em um cromatógrafo Alliance 2695 (Waters, Milford, MA, USA), com detector de arranjo de diodos - detector PDA 2998 (Waters, Milford, MA, USA), equipado com bomba quaternária e injetor automático. A separação dos compostos fenólicos foi realizada empregando uma coluna Symmetry® C18 (4,6 x 150 mm, 3,5  $\mu$ m, Waters, Milford, MA, USA) mantida a uma temperatura de 20 °C. A identificação dos compostos fenólicos foi realizada comparando o tempo de retenção e espectros com os padrões usados. As corridas foram monitoradas a 280 nm (flavan-3-óis e dihidrochalconas), 320 nm (ácidos hidroxicinâmicos) e 350 nm (flavonóis). Os resultados foram expressos em mg/L de amostra.

### 3.2.3.10 Análise de carotenoides

Os carotenoides ( $\beta$  caroteno e licopeno) foram determinados de acordo com Rodriguez-Amaya (2001) modificado por Zielinski et al. (2014c). Para a extração, 30 mL de acetona foram adicionadas em 15 g de amostra, e a mistura foi agitada por 1 hora a 200 rpm (Incubadora refrigerada Marconi, São Paulo, Brasil). Cada amostra foi lavada com acetona 3 vezes por filtração a vácuo (Bomba Biomec Brasil, Eco 740, São Paulo, Brasil) em filtro de papel qualitativo número 1 (Whatman, Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA) para retenção das fibras da amostra. Um volume de 25 mL de éter petróleo foi adicionado em um funil de decantação. A fase inferior foi descartada, e as amostras foram lavadas mais 4 vezes até completa remoção da acetona. A solução de pigmentos em éter petróleo foi transferida a um balão volumétrico e completadas a um volume final de 50 mL de éter petróleo. As análises foram feitas em triplicata no espectrofotômetro (modelo Mini UV 1240, Shimadzu, São Paulo, Brasil) em comprimento de onda de 450 a 470 nm para o  $\beta$ -caroteno e licopeno, respectivamente. Os resultados foram expressos em mg  $\beta$ -caroteno/100 g e mg licopeno/100 g.

### 3.2.3.11 Compostos fenólicos totais, ácido ascórbico e atividade antioxidante

Fenóis totais (TPC) foi determinado através da análise colorimétrica do reagente de Folin-Cicalteu, conforme descrito por Singleton e Rossi (1965) e quantificação simultânea de ácido ascórbico (AA) como sugerido por Isabelle et al. (2010). Os valores da absorbância (765 nm) obtidos do ácido ascórbico foram comparadas a uma curva de calibração do ácido ascórbico [ $AA = 2500 \times \text{absorbância}$ ]. Os resultados foram expressos como miligrama de equivalente do ácido ascórbico (AAE) por litro de amostra (mg AAE/L). Os valores de absorbância (765 nm) foram comparados a uma curva de calibração do ácido clorogênico [ $TPC = 500 \times \text{absorbância}$ ] e os resultados foram expressos em miligramas de ácido clorogênico equivalentes (CQAE) por litro (mg CQAE/L). Finalmente, o valor corrigido de TPC foi obtido a partir da seguinte reação:

$$\text{TPC corrigido (mg CQAE/L)} = (\text{TPC}) - (\text{AA})$$

A avaliação de eliminação de radicais livres DPPH foi efetuada segundo descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) e adaptado em microplaca como sugerido por Fukumoto e Mazza (2000). Trolox foi utilizado como padrão para preparação da curva de calibração [ $DPPH = 2,77 \times \text{absorbância}$ ;  $R^2 = 0,9934$ ] (50-500  $\mu\text{mol/L}$ ). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de equivalentes trolox por litro de *smoothie* ( $\mu\text{mol TE/L}$ ).

O ensaio de ABTS foi utilizado segundo o método descrito por Re et al. (1999). Uma curva padrão usando diferentes concentrações de trolox (50-400  $\mu\text{mol/L}$ ) foi preparada [ $ABTS = 4,30 \times \text{absorbância}$ ;  $R^2 = 0,9974$ ] e os resultados foram expressos como  $\mu\text{mol}$  de equivalentes de trolox por litro de *smoothie* ( $\mu\text{mol TE/L}$ ).

O potencial antioxidante total das diferentes amostras foi determinado usando método descrito por Benzie e Strain (1996) através do poder antioxidante de redução do íon férrico (FRAP). Uma curva de calibração [ $FRAP = 1000 \times \text{absorbância}$ ;  $R^2 = 0,9936$ ] foi obtida utilizando diferentes concentrações de trolox (100-1000  $\mu\text{mol/L}$ ). Os resultados foram expressos como  $\mu\text{mol}$  de equivalentes de trolox por litro de *smoothie* ( $\mu\text{mol TE/L}$ ), utilizando leitor de microplaca (Epoch espectrofotômetro de microplaca, Synergy-BioTek, Winooski, VT, USA).

A capacidade de redução do cobre (CUPRAC) seguiu a metodologia proposta por Apak et al. (2008). A absorbância foi medida a 450 nm usando um espectrofotômetro. Os resultados foram comparados com uma curva padrão (CUPRAC = 3333,33 x absorbância;  $R^2 = 0,9959$ ,  $p < 0,01$ ) de Trolox (100 a 1000  $\mu\text{mol/L}$ ). Todos os experimentos foram realizados em quadruplicata.

### 3.2.3.12 Análises microbiológicas

Fungos e leveduras, coliformes totais e termotolerantes foram quantificados conforme o *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (VANDERZANT; SPLITTSTOESSER, 1992). 25 mL dos *smoothies* foram adicionados de 225 mL de solução salina peptonada 0,1% e homogeneizados por 60 segundos. A partir desta diluição inicial ( $10^{-1}$ ), foram feitas as demais diluições. As placas foram inoculadas em duplicata. Para a contagem de bolores e leveduras, foi utilizado o ágar batata glicose acidificado, até pH 3,5, com ácido tartárico 10%. As placas foram incubadas, sem inverter, a 25° C por 5 dias. O resultado foi expresso em UFC/mL do produto. Na contagem de coliformes termotolerantes pelo número mais provável (NMP) o preparo das amostras e diluições seriadas foram feitas com água peptonada 0,1%. Alíquotas de 25 gramas de amostra foram diluídas em 225 mL de água peptonada, homogeneizadas e diluídas ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ). O teste presuntivo foi feito com Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) a 35 ° C durante 48 horas. O teste confirmativo de coliformes termotolerantes foi feito em caldo *E. coli* (EC) a 45° C durante 24 horas. Coliformes totais foram confirmados em Caldo verde brilhante bile (VB) 2% a 35 ° C durante 48 horas. O resultado foi expresso em NMP/mL do produto.

### 3.2.3.13 Análise de inibição da $\alpha$ -glucosidase

A atividade inibitória da  $\alpha$ -glucosidase foi calculada de acordo com o método cromatogênico de McCue, Kwon e Shetty (2005).

A solução enzimática contendo 20  $\mu$ L de  $\alpha$ -glucosidase (0,5 unidades/ml) e 120  $\mu$ L de tampão fosfato 0,1 M (pH 6.9) foi utilizada como a solução substrato. 10  $\mu$ L das amostras, diluídas em dimetilsulfóxido (DMSO) em concentrações de 300 a 12,5 mg/mL, foram misturadas com a solução enzimática nos pocinhos da microplaca e incubadas por 15 minutos a 37°C. 20  $\mu$ L da solução substrato foi adicionada e incubada por 15 minutos adicionais. A reação foi parada pela adição de 80  $\mu$ L de solução de carbonato de sódio 0,2 M. A placa foi lida em leitor de microplaca (Epoch espectrofotômetro de microplaca, Synergy-BioTek, Winooski, VT, USA) em absorbância a 405 nm. O sistema de reação sem a  $\alpha$ -glucosidase era o branco, e a acarbose foi usada como o controle positivo. O experimento foi conduzido em triplicata. A atividade enzimática inibitória da  $\alpha$ -glucosidase foi calculada conforme segue % inibição = [(Abs controle – Abs amostra) / Abs controle] x 100. O valor de IC<sub>50</sub> das amostras foram calculadas e apresentadas em média  $\pm$  desvio padrão (DP) dos três experimentos.

### 3.2.3.14 Análise estatística

Os dados foram tratados por Análise de Variância (ANOVA) (SAS INSTITUTE, 1985), a comparação pareada de médias feitas por teste de Fisher e os dados apresentados como médias  $\pm$  desvios padrões (DP). O Teste de Friedman foi aplicado para verificar diferença entre as amostras. Todos os procedimentos estatísticos foram avaliados no software Statistica® 7.1 (Stat-Soft Inc., Tulsa, OK, USA).

## 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da avaliação sensorial dos 10 experimentos, o teste de Friedman constatou que as amostras diferem entre si ( $p < 0,05$ ) (RODRIGUE et al., 2000). As amostras preferidas não fermentadas selecionadas são as amostras E5 e E10, respectivamente conforme consta na Tabela 6.

Tabela 6 - Preferência das amostras de *smoothies* pré fermentação

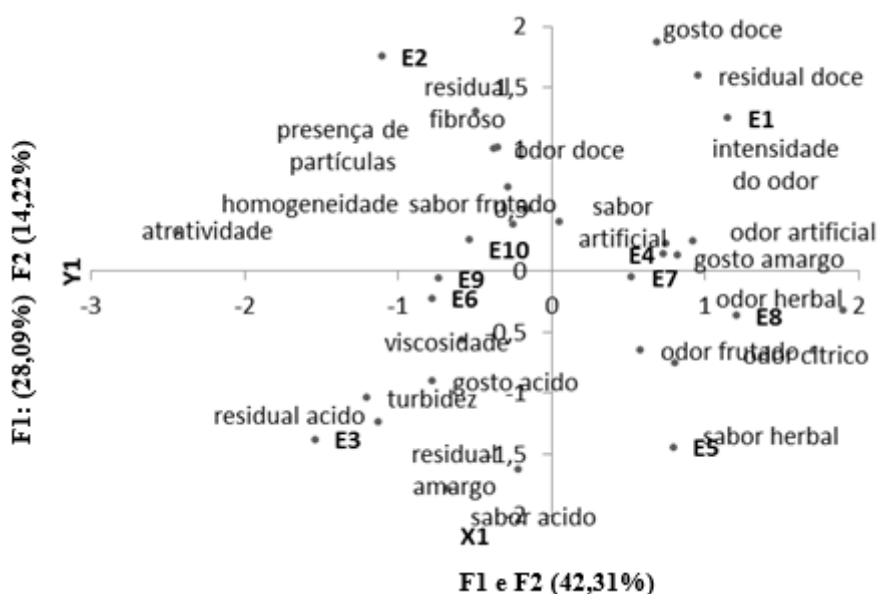
| Amostra | Soma das preferências |
|---------|-----------------------|
| E1      | 152 <sup>bc</sup>     |
| E2      | 207 <sup>e</sup>      |
| E3      | 190 <sup>d</sup>      |
| E4      | 135 <sup>b</sup>      |
| E5      | 110 <sup>a</sup>      |
| E6      | 146 <sup>bc</sup>     |
| E7      | 147 <sup>bc</sup>     |
| E8      | 138 <sup>b</sup>      |
| E9      | 146 <sup>bc</sup>     |
| E10     | 114 <sup>a</sup>      |

Fonte: A autora

Nota: <sup>abc</sup>Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras com  $p < 0,05$ . As menores notas indicam as amostras ordenadas como preferidas.

Os atributos que mais se correlacionam com as amostras segundo a avaliação de *Flash profile* estão apresentados na Figura 6.

Figura 6 - Resultado da análise sensorial aplicada para as misturas testadas, feita por Análise Procrustes Generalizada (GPA)

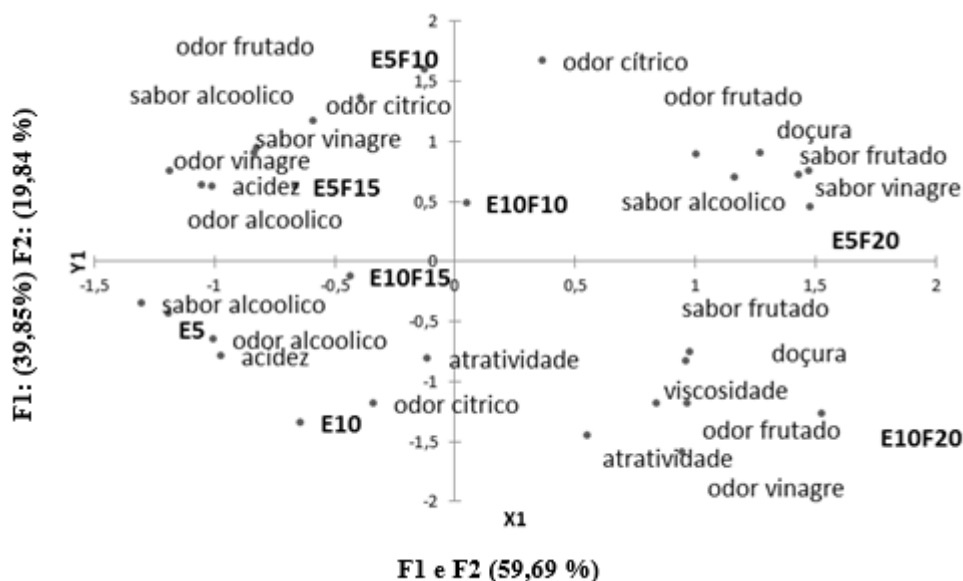


Fonte: Idiogrid® versão 2.4

A amostra E5 contendo 70% de base, 15% de polpa de amora, 0% de polpa de acerola e 15% de chá branco foi caracterizada pelos avaliadores contendo sabor herbal, odor frutado, cítrico e herbal. A segunda amostra ordenada como preferida pelos provadores foi a amostra E10 (70% de base, 5% polpa de amora, 5% de polpa de acerola e 20% de chá branco) que foi descrita como contendo sabor frutado, odor doce, presença de partículas, homogeneidade, residual fibroso e atrativa. Apesar das amostras E2, E7 e E8 conterem características semelhantes às amostras preferidas E5 e E10 (encontram-se no mesmo quadrante do gráfico) essas tiveram baixa nota na ordenação de preferência, provavelmente devido a proporções de ingredientes que pronunciou características indesejáveis sensorialmente e/ou não deixou as características desejadas sobressaírem sobre as demais.

Como o objetivo dessa pesquisa era, além de produtos com características funcionais pronunciadas, obter *smoothie* com descrição sensorial adequada, somente as duas amostras ordenadas como as preferidas pelos avaliadores e estatisticamente diferente das demais ( $p < 0,05$ ) foram selecionadas para a fermentação durante 10, 15 e 20 horas a 25° C e submetidas a nova análise sensorial. Devido as amostras pós fermentação apresentarem características diferentes do produto não fermentado, os provadores julgaram pertinente a exclusão e inserção de termos do formulário de ordenação que podem ser visualizados na Figura 7.

Figura 7 - Resultado da análise sensorial aplicada para as misturas preferidas antes e pós fermentação de 10, 15 e 20 horas a 25° C, feita por Análise Procrustes Generalizada (GPA)



Fonte: Idiogrid® versão 2.4

Em relação à preferência, o pós-teste detalhado na Tabela 7 esclareceu que as amostras ordenadas como preferidas são E10, E5F15 e E5. Havendo uma distância evidente de na ordenação de preferência entre as amostras fica claro que a fermentação afetou a palatabilidade dos produtos. Isso pode ter acontecido porque a fermentação parece ter descaracterizado as amostras, levando os avaliadores a relatar nos documentos da análise sensorial notas sobre um produto diferente do convencional *smoothie*, hora lembrando o aspecto, odor e sabor de um licor e/ou de bebidas alcoólicas. Essas características foram acentuadas proporcionalmente ao tempo de fermentação. Essas notas podem ser explicadas pelos dados encontrados nas análises físico-químicas detalhadas nas Tabelas 8 e 9. As expectativas do consumidor são levantadas pelo conhecimento prévio do produto e informações sobre ele e, assim, tendo a definição base de um produto é uma maneira de obter expectativas sobre um produto desconhecido. As expectativas, por sua vez, são capazes de modificar respostas a um produto (CARDELLO, 1994; TUORILA et al., 1998). Portanto, a reação dos provadores ao produto fermentado pode ter sido influenciada pelo conceito sensorial prévio que eles tinham sobre *smoothies*.

Tabela 7 - Preferência das amostras de *smoothies* pré e pós fermentação de 10, 15 e 20 horas

| Amostras | Soma das ordens   |
|----------|-------------------|
| E5       | 109 <sup>a</sup>  |
| E10      | 86 <sup>a</sup>   |
| E5F10    | 111 <sup>b</sup>  |
| E10F10   | 122 <sup>b</sup>  |
| E5F15    | 105 <sup>a</sup>  |
| E10F15   | 127 <sup>bc</sup> |
| E5F20    | 148 <sup>cd</sup> |
| E10F20   | 164 <sup>d</sup>  |

Fonte: A autora

Nota: E5= experimento 5, E10= experimento 10, E5F10= experimento 5 fermentado durante 10 horas, E5F15= experimento 5 fermentado durante 15 horas, E5F20 = experimento 5 fermentado durante 20 horas, E10F10= experimento 10 fermentado durante 10 horas, E10F15= experimento 10 fermentado durante 15 horas, E10F20 = experimento 10 fermentado durante 20 horas. <sup>abcd</sup>: Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras a nível de significância de 5%. As menores notas correspondem às amostras preferidas devido a metodologia de ordenação na qual o preferido recebe o número 1.

O menor valor de pH foi encontrado no *smoothie* fermentado. Esse fato, deve-se a adição da kombucha, produto caracterizado pela presença de ácidos orgânicos em sua composição, destacando-se entre eles, o ácido glucurônico, ácido acético, ácido lático, entre outros que podem ter sido produzidos na fermentação do produto, resultando na diminuição do valor do pH (NGUYEN et al., 2015).

Em relação ao produto preferido fermentado (E5F15) foi possível observar que apresenta brix menor e 27,7% de acidez a mais em relação ao seu padrão não fermentado (E5). A fermentação reduziu a glucose em 13,33% e a frutose em 16,11%.

A kombucha apresentou concentração de açúcares 12,9 vezes maior em relação às formulações sendo  $3,88 \pm 0,04$  g/100g de sacarose,  $1,84 \pm 0,14$  g/100g de glucose e  $2,06 \pm 0,01$  g/100g de frutose. Isso acontece devido à adição de sacarose ao chá como substrato para a fermentação e as reações metabólicas dos microrganismos do meio que acontecem durante a fermentação que utilizam a sacarose como a principal fonte de carbono para o desenvolvimento das bactérias do meio. É conhecido que no processo de fermentação da kombucha o primeiro substrato consumido pelas bactérias acéticas e leveduras é a sacarose e nos primeiros 3 dias de fermentação os açúcares na bebida estão na sua concentração máxima. A partir do terceiro dia de fermentação os açúcares começam a reduzir e a concentração de ácidos produzidos a partir desses atinge seu ponto máximo no qual o pH deve ser monitorada para ficar entre 4 e 5 dependendo da origem do meio de cultura e condições de fermentação (MALBAŠA, et al., 2011; VILLARREAL-SOTO et al., 2018).

As frutas que compunham as amostras apresentam teores de açúcares consideravelmente baixos. As formulações eram a base de frutas e a kombucha compunha entre 15 e 20% da formulação, fazendo com que os açúcares dos ingredientes fossem provenientes em maior parte das frutas. Morango, a fruta em maior proporção apresenta aproximadamente 9 g de açúcares totais em 100 g de polpa, a acerola pode apresentar até 6 g por 100 g de polpa e a amora até 7 g por 100 g, o suco crioconcentrado de maçã utilizado nessas é o ingrediente que mais contribuiu com a composição de açúcares por apresentar 38 g de açúcares por 100 g.

A viscosidade foi 3,3 vezes menor no produto fermentado. A viscosidade destaca-se como um indicador de qualidade, porque contribui consideravelmente para a percepção sensorial e apreciação das bebidas, e, em *smoothies* elas caracterizam o produto apesar de não existir um padrão a ser seguido para esse parâmetro (CAMACHO et al., 2015). A atividade enzimática durante a fermentação pode ter hidrolisado as fibras do produto fazendo com que a viscosidade aparente reduzisse (VITAS et al., 2013)

Um aspecto positivo da fermentação que também pode impactar na percepção do produto pelos consumidores foi identificado em relação a cor. Observando o parâmetro Croma (C\*) a fermentação foi capaz de tornar a coloração mais intensa em relação ao produto não fermentado, porém menos intensa que a amostra E10 não fermentada, visto que essa tinha a adição da acerola que confere uma tonalidade diferente devido a presença de pigmentos vermelho e amarelos em conjunto. O ângulo Hue, indica a tonalidade média da amostra. Quando assume valor zero, apresenta tonalidade vermelha, 90° amarela, 180° verde e 270° azul (SHEWFELT; THAI; DAVIS, 1988; MCGUIRE, 1992).

Devido a fruta majoritária nos experimentos avaliados ser o morango, é provável que a cor foi afetada pela presença de antocianinas, o composto fenólico de maior concentração em morangos e responsável pela sua cor. Esse composto é altamente sensível e pode ser afetado pelas técnicas de processamento como a fermentação que altera ambas as características químicas e sensoriais (HORNEDO-ORTEGA et al., 2017). Outro ingrediente que colaborou para a cor vermelha foi a amora. A amora-preta pode ser considerada uma fonte natural rica em antioxidantes e pigmentos devido a presença, em especial, de Cianidina 3-glucosideo (FERREIRA; DE ROSSO; MERCANTE, 2010). A amostra E10 apresentou tonalidade entre vermelho e amarelo (ângulo Hue = 44°), devido a presença de acerola, ausente nas outras amostras.

Tabela 8 - Características físico-químicas dos *smoothies* desenvolvidos.

| Análises          | E5                           | E5F15                      | E10                       |
|-------------------|------------------------------|----------------------------|---------------------------|
| °Brix             | 5,2 <sup>b</sup> ± 0,1       | 4,9 <sup>c</sup> ± 0,1     | 7,1 <sup>a</sup> ± 0,1    |
| Glucose g/100mL   | 1,80 <sup>b</sup> ± 0,06     | 1,56 <sup>c</sup> ± 0,00   | 2,75 <sup>a</sup> ± 0,04  |
| Frutose g/100mL   | 2,98 ± 0,06 <sup>b</sup>     | 2,50 <sup>c</sup> ± 0,00   | 4,31 <sup>a</sup> ± 0,00  |
| Sacarose g/100mL  | 0,30 <sup>a</sup> ± 0,00     | 0,31 <sup>a</sup> ± 0,05   | 0,15 <sup>b</sup> ± 0,04  |
| Fibras            | 0,50 <sup>a</sup> ± 0,01     | 0,42 <sup>c</sup> ± 0,01   | 0,46 <sup>b</sup> ± 0,02  |
| pH                | 3,560 <sup>b</sup> ± 0,005   | 3,520 <sup>c</sup> ± 0,005 | 3,59 <sup>a</sup> ± 0,01  |
| Acidez g/100mL    | 0,6500 <sup>b</sup> ± 0,0007 | 0,83 <sup>a</sup> ± 0,01   | 0,68 <sup>b</sup> ± 0,03  |
| Viscosidade mPa.s | 39,68 <sup>b</sup> ± 0,01    | 12,33 <sup>c</sup> ± 0,01  | 59,83 <sup>a</sup> ± 0,01 |
| C                 | 41,35 <sup>c</sup> ± 0,06    | 49,3 <sup>b</sup> ± 0,1    | 74,60 <sup>a</sup> ± 0,03 |
| h°                | 21,4 <sup>c</sup> ± 0,2      | 27,07 <sup>b</sup> ± 0,04  | 44,02 <sup>a</sup> ± 0,02 |

Fonte: A autora

Nota: E5: experimento 5, E10: experimento 10, E5F15: experimento 5 após 15 horas de fermentação. mPa.s: mili Pascal por segundo, C: cor; h°: ângulo Hue. <sup>abc</sup>: Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras a nível de significância de 5%.

A fermentação nas condições experimentais da amostra E5F15 foi capaz de aumentar o conteúdo de fenóis totais da amostra em 8,28 % em relação à amostra não fermentada. A atividade metabólica dos microrganismos da Kombucha pode causar a degradação de complexos de compostos fenólicos que levará a um aumento no conteúdo total desses nas bebidas (JAYABALAN; MALBASA; SATHISHKUMAR, 2016; VITAS et al. 2018). De acordo com dados já encontrados por outros pesquisadores (JAYABALAN; MALBASA; SATHISHKUMAR, 2016; VILLARREAL-SOTO et al., 2018) o conteúdo de ácido ascórbico na Kombucha e seus produtos também pode ser maior após a fermentação do chá devido a produção desse a partir da glucose pelas bactérias do meio, que é variável de acordo com o tipo de chá fermentado e tempo de fermentação e pode chegar a até 28,98 mg/L (MALBASA et al., 2011). Na presente pesquisa, foi encontrado que a fermentação foi capaz de aumentar o teor de ácido ascórbico 2,7 vezes em comparação a amostra não fermentada, mas ainda estava em menor concentração em relação a amostra E10 não fermentada, possivelmente devido a presença de acerola, ausente na amostra E5 e E5F15 (Tabela 9).

Tabela 9 - Fenóis totais, carotenoides, ácido ascórbico, ABTS, CUPRAC, DPPH e FRAP e analisados nos *smoothies* desenvolvidos, no chá branco e na Kombucha

| Análises        | E5                         | E5F                       | E10                       | C                        | K                         |
|-----------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Fenóis Totais   | 10758 <sup>b</sup> ± 92    | 11641 <sup>a</sup> ± 152  | 10377 <sup>c</sup> ± 99   | 7474 <sup>d</sup> ± 172  | 6080 <sup>e</sup> ± 99    |
| mg CAT/L        |                            |                           |                           |                          |                           |
| β – caroteno    | 9,68 <sup>a</sup> ± 0,06   | 10,60 <sup>a</sup> ± 0,04 | 8,47 <sup>a</sup> ± 0,13  | nd                       | nd                        |
| mg/L            |                            |                           |                           |                          |                           |
| Licopeno        | 69,62 <sup>a</sup> ± 0,06  | 60,77 <sup>a</sup> ± 0,23 | 61,45 <sup>a</sup> ± 0,16 | nd                       | nd                        |
| mg/L            |                            |                           |                           |                          |                           |
| Ácido ascórbico | 5,40 <sup>c</sup> ± 0,02   | 14,60 <sup>b</sup> ± 0,09 | 17,02 <sup>a</sup> ± 0,02 | nd                       | 11,53 <sup>b</sup> ± 0,09 |
| mg/L            |                            |                           |                           |                          |                           |
| ABTS            | 10390 <sup>a,c</sup> ± 110 | 8568 <sup>b</sup> ± 135   | 11084 <sup>a</sup> ± 98   | 10992 <sup>a</sup> ± 57  | 9312 <sup>b,c</sup> ± 173 |
| μmol TE/L       |                            |                           |                           |                          |                           |
| CUPRAC          | 12462 <sup>b</sup> ± 151   | 10222 <sup>e</sup> ± 140  | 16396 <sup>a</sup> ± 80   | 12022 <sup>c</sup> ± 189 | 10689 <sup>d</sup> ± 61   |
| μmol TE/L       |                            |                           |                           |                          |                           |
| DPPH            | 39395 <sup>b</sup> ± 187   | 38008 <sup>c</sup> ± 61   | 44800 <sup>a</sup> ± 92   | 35217 <sup>d</sup> ± 252 | 32337 <sup>e</sup> ± 215  |
| μmol TE/L       |                            |                           |                           |                          |                           |
| FRAP            | 12462 <sup>b</sup> ± 151   | 10222 <sup>e</sup> ± 140  | 16316 <sup>a</sup> ± 211  | 12022 <sup>c</sup> ± 189 | 10689 <sup>d</sup> ± 61   |
| μmol TE/L       |                            |                           |                           |                          |                           |

Fonte: A autora

Nota: E5: experimento 5, E10: experimento 10, E5F: experimento 5 após 15 horas de fermentação, C: chá verde (*Camellia sinensis*), K: Kombucha. <sup>abc</sup> Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras a nível de significância de 5%.

A fermentação não foi capaz de melhorar a atividade antioxidante das amostras testadas. Nesse quesito, a amostra E10 destaca-se em relação às demais quando aplicadas as 4 metodologias (ABTS, CUPRAC, DPPH e FRAP). Esse fato pode ser explicado, em parte, pelo seu conteúdo de ácido ascórbico que é 14,21% maior em relação a amostra E5F15. Além disso, a composição fenólica dessa também parece ter contribuído com a atividade antioxidante encontrada nessa amostra pode ter influenciado. Foram detectados compostos como a catequina, floridzina, ácido clorogênico e procianidina (Tabela 10) possivelmente originada do *blend* de frutas que a compõem, sugerindo que os principais compostos da maçã que faz parte da base da bebida, em conjunto com a atividade antioxidante do ácido ascórbico originado especialmente da acerola pode ser o fator preponderante para essa amostra ter a atividade antioxidante mais elevada entre as formulações testadas.

Ao analisar os ingredientes separadamente foi identificado que o chá branco apresentou atividade antioxidante superior em relação à Kombucha nos 4 métodos aplicados. As classes de compostos fenólicos encontrados no chá branco utilizado nessa pesquisa continha majoritariamente epigallocatequina galato. É provável que o fato de utilizar o chá branco tenha afetado a atividade antioxidante da amostra fermentada, diferente do que é relatado para Kombuchas feitas com chá verde e chá preto. Essa diferença pode ter ocorrido devido ao seu perfil antioxidante e nutricional, pois o chá branco é aquele que menos passa

por processamentos quando comparado aos chás verde e preto (DAI et al., 2017) fazendo com que esse concentre compostos como o ácido gálico, o 1,2,6 trigaloilglicose e a cafeína (ZHAO et al., 2011). O que pode justificar a diferença da atividade antioxidante de kombuchas feitas com diferentes tipos de chá é a composição dos mesmos, pois no chá verde a classe mais representativa é a das catequinas, em especial a epigallocatequina galato (EGCG) que compreendem de 30 a 50% dos sólidos nesse chá e 90% do total de flavonoides. No chá preto, as catequinas são dimerizadas durante a fermentação e convertidas a teaflavinas e polímeros de thearubiginina (BALENTINE; WISEMAN; BOUWENS, 1997). Em relação ao chá branco não há evidências, até o momento, dos possíveis compostos formados pela biotransformação após a fermentação por kombucha. Na presente pesquisa encontramos que a kombucha à base de chá branco utilizada tinha epigallocatequina e epigallocatequina galato como seus principais compostos. Esses estavam presentes no chá branco antes de serem fermentados pelo consórcio de microrganismos da kombucha, entretanto tiveram redução de 71,66 % e 34,43% respectivamente após a fermentação. Além dos compostos ácido gálico e epicatequina galato que estavam presentes antes da fermentação do chá e não foram detectados na kombucha fermentada pelo mesmo chá, o que pode explicar a redução da atividade antioxidante do *smoothie* fermentado por kombucha. É possível que os compostos não detectados foram biotransformados pela fermentação em outros de atividade antixiodante menos pronunciada. Quando comparada à amostra não fermentada E5, a amostra fermentada E5F15 apresentou o dobro de epicatequina, 1,5 vezes mais floridizina e 7% mais ácido clorogênico.

Pesquisadores (WATAWANA et al., 2016; VÁZQUEZ-CABRAL et al., 2017) ao testar a fermentação com outros tipos de chás, conhecidos como análogos de Kombucha, também encontraram variações em relação ao perfil antioxidante das amostras, pois esse está diretamente relacionado ao perfil fenólico encontrados nas matrizes utilizadas para a fermentação, assim como o tempo e temperatura de fermentação. Na Kombucha feita a base de chá preto foi encontrado que o microbioma do meio foi capaz de biotransformar através de enzimas a epigallocatequina-3-galato em epigallocatequina, epicatequina-3-galato e epicatequina (JAYABALAN; MARIMUTHU; SWAMINATHAN, 2007). Há uma lacuna relacionada a esse conhecimento em relação ao chá branco e a maior parte das pesquisas nessa área relaciona-se ao chá preto e chá verde que pode apresentar aumento da atividade antioxidante a partir de 7 dias de fermentação (KAPP; SUMNER, 2019). Percebe-se ainda que o chá branco utilizado nessa pesquisa continha quantidade significativa de cafeína chegando a ser 3 vezes maior que a quantidade encontrada na Kombucha. A amostra fermentada apresentou 235,97 mg/L menos cafeína em relação à amostra não fermentada E5.

As metilxantinas podem ser utilizadas como substrato para a formação do SCOBY pois estimulam a produção de celulose pelas bactérias (GREENWALT; LEDFORD; STEINKRAUS, 1998; COTON et al., 2017).

Observa-se que o conteúdo de carotenoides não teve diferença entre as amostras e conforme esperado esses pigmentos não foram identificados nas amostras de chá e Kombucha.

Tabela 10 - Perfil de compostos fenólicos e cafeína (mg/L) analisados nos *smoothies* desenvolvidos, chá branco (*Camellia sinensis*) e Kombucha

| Análises                 | E5                         | E5F                        | E10                        | C                            | K                          |
|--------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| Ácido Gálico             | 21,20 <sup>b</sup> ± 0,31  | Nd                         | nd                         | 31,94 <sup>a</sup> ± 0,15    | nd                         |
| Catequina                | 98,97 <sup>a</sup> ± 3,23  | 26,96 <sup>c</sup> ± 0,20  | 78,18 <sup>b</sup> ± 0,35  | nd                           | nd                         |
| Epicatequina             | 14,24 <sup>b</sup> ± 0,51  | 29,80 <sup>a</sup> ± 0,94  | nd                         | nd                           | nd                         |
| Epigalo Catequina        | nd                         | Nd                         | nd                         | 108,98 <sup>a</sup> ± 3,06   | 78,09 <sup>b</sup> ± 0,38  |
| Epigalo catequina galato | nd                         | Nd                         | nd                         | 195,61 <sup>a</sup> ± 2,42   | 67,35 <sup>b</sup> ± 0,43  |
| Epicatequina galato      | nd                         | Nd                         | nd                         | 33,48 <sup>a</sup> ± 0,33    | nd                         |
| Floridzina               | 2,92 <sup>b</sup> ± 0,06   | 4,17 <sup>a</sup> ± 0,06   | 0,23 <sup>c</sup> ± 0,01   | nd                           | nd                         |
| Ácido Clorogênico        | 40,92 <sup>b</sup> ± 0,41  | 43,96 <sup>a</sup> ± 0,08  | 34,81 <sup>c</sup> ± 0,11  | nd                           | nd                         |
| Prociadina B1            | 64,76 <sup>a</sup> ± 1,59  | Nd                         | 31,94 <sup>b</sup> ± 0,82  | nd                           | nd                         |
| Cafeína                  | 337,53 <sup>d</sup> ± 1,70 | 101,56 <sup>e</sup> ± 1,35 | 407,46 <sup>c</sup> ± 1,19 | 2097,18 <sup>a</sup> ± 13,07 | 683,77 <sup>b</sup> ± 5,35 |

Fonte: A autora

Nota: E5: experimento 5, E10: experimento 10, E5F: experimento 5 após 15 horas de fermentação, C: *Camellia sinensis*, K: Kombucha. Nd: Não detectado. <sup>abc</sup>: Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras a nível de significância de 5%.

A Tabela 11 corresponde às análises microbiológicas dos *smoothies* desenvolvidos. Nota-se que a formulação E5F15 apresenta contagem padrão 6 vezes maior e bolores e leveduras 250.000 vezes maior em relação à amostra não fermentada, resultado compatível com o esperado em relação à kombucha. Nessa bebida, estão presentes bactérias acéticas *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus* e leveduras como *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomycodes ludwigii*, *Kloeckera apiculata*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Torulaspora delbrueckii*, *Brettanomyces bruxellensis*, *Brettanomyces lambicus*, *Brettanomyces custersii*, *Candida stellata* (BALENTINE; WISEMAN; BOUWENS, 1997; COTON et al., 2017). Dentre essas nenhuma é reconhecida pelos órgãos regulamentadores como cepas probióticas, mas pesquisas já estão explorando as potencialidades desses microrganismos, em especial a otimização de condições que estimulem a produção de substâncias que possam ter efeito funcional em alimentos e bebidas como é o caso do ácido glucurônico e ácido D-sacárico-1,4-lactona. Esses ácidos são apontados como um dos principais responsáveis pelos efeitos profiláticos da Kombucha (YANG et al., 2009; NGUYEN et al., 2015; DE FILIPPIS et al., 2018).

Tabela 11 - Análises microbiológicas dos *smoothies* desenvolvidos

| Código amostra | Coliformes totais a 45 °C (NMP/mL) | Contagem padrão (UFC/mL)           | Bolores e leveduras (UFC/mL)        |
|----------------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| E5             | < 3,0 <sup>a</sup>                 | 1,0 x 10 <sup>4</sup> <sup>b</sup> | 1,0 x 10 <sup>2</sup> <sup>c</sup>  |
| E5 F15         | < 3,0 <sup>a</sup>                 | 6,0 x 10 <sup>4</sup> <sup>a</sup> | 2,55 x 10 <sup>6</sup> <sup>a</sup> |
| E10            | < 3,0 <sup>a</sup>                 | 1,0 x 10 <sup>3</sup> <sup>c</sup> | 4,0 x 10 <sup>2</sup> <sup>b</sup>  |

Fonte: A autora.

Nota: E5: experimento 5, E10: experimento 10, E5F15: experimento 5 após 15 horas de fermentação. <sup>abc</sup>: Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras a nível de significância de 5%.

Até o momento a principal matriz alimentar carreadora de probióticos eram os leites e seus derivados. Impulsionadas especialmente pelas alergias e intolerâncias alimentares que limitam o uso desses produtos, postula-se que bebidas formuladas com frutas e sucos vegetais podem ser a próxima matriz promissora para oferecer probióticos à população. Motivos que podem impulsionar o consumo são que sucos tem natureza refrescante e de sabor apreciado. Um dos desafios em produtos não lácteos fermentados, assim como nos lácteos, será a manutenção da viabilidade desses microrganismos utilizados. As propriedades tecnológicas e funcionais dos novos produtos poderão se tornar um diferencial competitivo a ser explorado no marketing dessas bebidas (KANDYLIS et al., 2016).

Em relação à atividade inibitória enzimática testada, na Tabela 12 observa-se que a formulação não fermentada (E5) e a kombucha apresentaram atividade inibitória semelhantes. O *smoothie* fermentado (E5F15) teve atividade inibitória enzimática 14,6% maior em relação a formulação não fermentada (E5) e a Kombucha e 18,5% maior em relação à formulação E10. Sabendo que que o IC50 encontrado para a acarbose na presente pesquisa foi de 89,29 mg/mL pode-se dizer que todos as amostras testadas foram superiores a esse controle.

Tabela 12 - Atividade inibitória da  $\alpha$ -glucosidase dos *smoothies* desenvolvidos e do chá branco e Kombucha utilizados nas formulações.

| Amostra                  | IC50 (mg/mL)       |
|--------------------------|--------------------|
| E5                       | 80,61 <sup>c</sup> |
| E5F15                    | 68,90 <sup>a</sup> |
| E10                      | 84,46 <sup>d</sup> |
| <i>Camellia sinensis</i> | 69,56 <sup>b</sup> |
| Kombucha                 | 80,57 <sup>c</sup> |

Fonte: A autora

Nota: <sup>abcd</sup>: Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras a nível de significância de 5%.

Pesquisadores correlacionaram inibição da atividade enzimática de glicose e amido ao conteúdo de fenólicos totais pós fermentação em bebidas como a sidra (até 70% quando combinada com mirtilo) e a Kombucha (até 55% na kombucha fermentada por chá preto) (KALLEL et al. 2012; AGUSTINAH et al., 2016) e outros já encontraram atividade inibitória *in vitro* da  $\alpha$ -glucosidase de até 90% com extratos fenólicos de maçã (BORTOLOTTI; PIANGIOLINO, 2013). Os compostos fenólicos não são metabolizados no intestino delgado e ali podem interagir com sítios das enzimas digestivas, fazendo com que parte dos açúcares da dieta não sejam absorvidos. Catecol, catequinas, ácidos clorogênico, ferúlico e caféico extraídos de maçã podem inibir o transportador intestinal de glicose acoplado ao sódio (*sodium-coupled glucose transporter 1* - SGLT1) resultando em menores níveis de glicose pós prandial em ratos e em humanos (SCHULZE et al., 2014). A combinação da maçã com *berries* poderia oferecer benefícios de saúde sinérgicos através da interação de compostos fenólicos, especialmente quando aplicados no sistema de bebidas e, portanto, têm uma base racional para o gerenciamento da hiperglicemia e benefícios associados à saúde (AGUSTINAH et al., 2016).

### 3.4 CONCLUSÃO

O planejamento de misturas oportunizou o desenvolvimento de 10 bebidas. As duas que mais se destacaram na ordenação de preferência foram posteriormente fermentadas. A fermentação descaracterizou uma das bebidas fermentadas (E10), mas ressaltou características sensoriais da outra (E5), fazendo com que apenas uma bebida fermentada (E5F15) fosse selecionada para as análises físico-químicas em conjunto com as bebidas não fermentadas.

A atividade antioxidante dos *smoothies* não fermentados foi maior em relação ao fermentado.

A partir da comparação da formulação não fermentada (E5) com a fermentada (E5F15) foi possível identificar que a fermentação do *smoothie* por microrganismos da kombucha gerou redução dos sólidos solúveis e do conteúdo de cafeína. Houve aumento da glucose e frutose, da acidez, dos conteúdos de ácido ascórbico, fenóis totais, epicatequina, floridzina e ácido clorogênico. A coloração foi mais intensa no fermentado e a atividade inibitória da alfa-glucosidase foi maior.

Foi possível desenvolver um *smoothie* fermentado por microrganismos da Kombucha com características que podem ser exploradas em relação ao seu potencial nutricional e funcional.

### REFERÊNCIAS

AGUSTINAH, W.; et al. Apple and blueberry synergies for designing bioactive ingredients for the management of early stages of type 2 diabetes. **Journal of Food Quality**, v. 39, p. 370-382, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jfq.12206>. Acesso em: 12 fev. 2018.

ALBERTI, A.; et al. Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. **Food Chemistry**, 149, 151-158, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.086> Acesso em: 12 fev. 2018.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official methods of analysis of AOAC International**. 21. ed. Gaithersburg: Maryland, 2019.

APAK, R.; et al. Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) assay. **Microchimica Acta**, 160, 413-419, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00604-007-0777-0> Acesso em: 12 fev. 2018.

ASTM (American Society for Testing and Materials). **Physical requirement guidelines for sensory evaluation laboratories**. 1986. Pub. L. No. ASTM-STP 913.

AZZURRA, A.; MASSIMILIANO, A.; ANGELA, M. Measuring sustainable food consumption: A case study on organic food. **Sustainable Production and Consumption**, v. 17, p. 95-107, 2019.

BALENTINE, D. A.; WISEMAN, S. A.; BOUWENS, L. C. M. The chemistry of tea flavonoids. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 37, 693-704, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408399709527797>. Acesso em: 12 fev. 2018.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, 239(1), 70-76, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>. Acesso em: 12 fev. 2018.

BORTOLOTTI, V.; PIANGIOLINO, C. Apple biophenol synergistic complex and its potential benefits for cardiovascular health. **Nutrafoods**, 12, 71-79, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13749-013-0029-3>. Acesso em: 12 fev. 2018.

BRAND-WILLIAMS, W.; COUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, 28, 25-30, 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/s0023-6438(95)80008-5). Acesso em: 12 fev. 2018.

BRUNS, R. E.; SCARMINO, I. S.; BARROS NETO, B. **Statistical design: chemometrics**. Amsterdam: Elsevier, 2003.

CAMACHO, S.; et al. Just noticeable differences and weber fraction of oral thickness perception of model beverages. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 7, p. S1583-S1588, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12922>. Acesso em: 12 fev. 2018.

CARDELLO, A. V. Consumer expectations and their role in food acceptance. In: D. Thompson, & H. Macfie, **Measurement of Food Preferences** (p. 253-297). London: Blackie, 1994.

CARVALHO, J. R. F., et al. Elaboração de fermentado fricante de maçã com características semelhantes à sidra francesa. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 28, p. 97-114, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.5380/cep.v28i1.17901>. Acesso em: 12 fev. 2018.

CHAKRAVORTY, S.; et al. Kombucha tea fermentation: microbial and biochemical dynamics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 220, p. 63-72, mar. 2016.

CORBO, M.R.; BEVILACQUA, A.; PETRUZZI, L.; CASANOVA, F. P.; SINIGAGLIA, M. Functional beverages: The emerging side of functional foods commercial trends, research, and health implications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v. 13, p. 1192-1206, 2014.

COTON, M.; et al. Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, n. 5, p. 1-16, may 2017.

DAI, W.; et al. Characterization of white tea metabolome: comparison against green and black tea by a nontargeted metabolomics approach. **Food Research International**, v. 96, p. 40-45, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.028>. Acesso em: 12 fev. 2018.

DAIROU, V.; SIEFFERMANN, J. M. A Comparison of 14 jams characterized by conventional profile and a quick original method, the Flash Profile. **Journal of Food Science**, v. 67, p. 826-834, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10685.x>. Acesso em: 12 fev. 2018.

DE FILIPPIS, F.; 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, aug. 2018.

DI CAGNO, R.; et al. Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and sensory properties of red and green *smoothies*. **Food Microbiology**, 28, 1062-1071, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.02.011> Acesso em: 12 fev. 2018.

DI CAGNO, R.; et al. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. **Food Microbiology**, v. 33, p. 1-10, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.09.003> Acesso em: 12 fev. 2018.

FUKUMOTO, L. R.; MAZZA, G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, 3597-3604, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf000220w>. Acesso em: 12 fev. 2018.

GREENWALT, C. J.; LEDFORD, R. A.; STEINKRAUS, K. H. Determination and characterization of the antimicrobial activity of the fermented tea Kombucha. **Lebensm-Wiss. Technology**, v. 31, p. 291-296, 1998.

HORNEDO-ORTEGA, R., et al. Influence of fermentation process on the anthocyanin composition of wine and vinegar elaborated from strawberry. **Journal of Food Science**, v. 82, p. 364-372, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13624>. Acesso em: 12 fev. 2018.

IAL (Instituto Adolfo Lutz). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

ISABELLE, M.; et al. Antioxidant activity and profiles of common vegetables in Singapore. **Food Chemistry**, v. 120, p. 993-1003, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.038>. Acesso em: 12 fev. 2018.

JASA (Juice and Smoothie Association). **Smoothie history**. Disponível em: <<http://www.smoothiecentral.com/Flashsite/index.html>>. Acesso em: 3 fev. 2016.

JAYABALAN, R.; MALBASA, R. V.; SATHISHKUMAR, M. Kombucha tea: metabolites. In: MERILLON, J. M.; RAMAWAT, K. G. (Eds.). **Fungal metabolites: reference series in phytochemistry** (p. 1-14), 2016. Switzerland: Springer International Publishing.

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.

KALLEL, L.; et al. Insights into the fermentation biochemistry of Kombucha teas and potential impacts of Kombucha drinking on starch digestion. **Food Research International**, v. 49, p. 226-232, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.018>. Acesso em: 12 fev. 2018.

KANDYLIS, P.; et al. Dairy and non-dairy probiotic beverages. **Current Opinion in Food Science**, v. 7, p. 58-63, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.11.012>. Acesso em: 12 fev. 2018.

KAPP, J. M.; SUMNER, W. Kombucha: A systematic review of the empirical evidence of human health benefit. **Annals of Epidemiology**, v. 30, p. 66-70, 2019.

KING, S. C.; et al. Development of a questionnaire to measure consumer wellness associated with foods: The WellSense Profile™. *Food Quality and Preference*, v. 39, p. 82–94, 2015.

LAZAZZERA, R. **Infographic: the most popular smoothie in North America**. 2012. Disponível em: <https://www.vivonet.com/blog/bid/159764/infographic-the-most-popular-smoothie-in-north-america> Acesso em: 12 fev. 2018.

LEAL, J. M.; et al. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. **CyTA Journal of Food**, v. 16, p. 390-399, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>. Acesso em: 12 fev. 2018.

MALBAŠA, R. V.; et al. Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. **Food Chemistry**, v. 127, p. 1727–1731, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.048>. Acesso em: 12 fev. 2018.

MCCUE, P.; KWON, Y. I.; SHETTY, K. Anti-amylase, anti-glucosidase and anti angiotensin I converting enzyme potential of selected foods. **Journal of Food Biochemistry**, v. 29, p. 278-294, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2005.00020.x>. Acesso em: 12 fev. 2018.

MCGUIRE, R. G. Reporting of Objective Color Measurements. **HortScience**, v. 27, p. 1254-1255, 1992. Disponível em: <https://doi.org/10.21273/hortsci.27.12.1254>.

MINTEL GROUP. **Fruit juice, juice drinks and smoothies**. 2016. Disponível em: <http://store.mintel.com/fruit-juice-juice-drinks-and-smoothies-uk-november-2016> Acesso em: 22 abr. 2017.

MONTANUCI, F. D.; MARQUES, D. R.; MONTEIRO, A. R. G. Flash Profile for rapid descriptive analysis in sensory characterization of passion fruit juice. **Acta Scientiarum**

**Technology**, v. 37, p. 337-344, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v37i3.26238> Acesso em: 12 fev. 2018.

NGUYEN, N. K.; et al. Screening the optimal ratio of symbiosis between isolated yeast and acetic acid bacteria strain from traditional Kombucha for high-level production of glucuronic acid. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 1149-1155, dec. 2015.

NIELSEN Institute. **Inovation**. Disponível em: <http://www.nielsen.com/br/pt/solutions.html> Acesso em: 8 may 2018.

NUMMER, B. A. Special report: Kombucha brewing under the food and drug administration model food code: risk analysis and processing guidance. **Journal of Environmental Health**, v. 76, n. 4, p. 8-11, nov. 2013.

PICOUET, P. A.; et al. Effects of thermal and high-pressure treatments on the microbiological, nutritional and sensory quality of a multi-fruit *smoothie*. **Food Bioprocess Technology**, v. 9, p. 1219-1232, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1705-2> Acesso em: 12 fev. 2018.

RE, R.; et al. Antioxidant activity applying an improved ABST radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3) Acesso em: 12 fev. 2018.

RODRIGUE, N.; et al. Comparing information obtained from ranking and descriptive tests of four sweet corn products. **Food Quality and Preference**, v. 11, p. 47-54, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1705-2> Acesso em: 12 fev. 2018.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: ILSI Press, 2001.

RODRÍGUEZ-VERÁSTEGUI, L. L.; et al. Bioactive compounds and enzymatic activity of red vegetable *smoothies* during storage. **Food Bioprocess Technology**, v. 9, n. 1, p. 137-146, 2016.

SAFEFOOD. **Smoothies**: consumer knowledge, attitudes and beliefs around the nutritional content of *smoothies*. 2009. Disponível em: [http://www.safefood.eu/SafeFood/media/SafeFoodLibrary/Documents/Publications/Research%20Reports/9354-smoothies-AW\\_web-FINAL-030309.pdf](http://www.safefood.eu/SafeFood/media/SafeFoodLibrary/Documents/Publications/Research%20Reports/9354-smoothies-AW_web-FINAL-030309.pdf) Acesso em: 15 fev. 2015.

SAS INSTITUTE. **SAS user guide**: statistics. Cary: SAS Institute, 1985.

SCHULZE, C. A., et al. Inhibition of the intestinal sodium-coupled glucose transporter 1 (SGLT1) by extracts and polyphenols from apple reduces postprandial blood glucose levels in mice and humans. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 58, p. 1795-1808, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400016> Acesso em: 12 fev. 2018.

SHEWFELT, R. L.; THAI, C. M.; DAVIS, J. W. Prediction of changes in color of tomatoes during ripening at different constant temperatures. **Journal of Food Science**, v. 53, p. 1433-

1437, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1988.tb09293.x> Acesso em: 12 fev. 2018.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolic with phosphomolibdic acid reagent. **American Journal of Enology and Viticulture**, n.16, p.144-158, 1965.

SMITH, V.; et al. What's (in) a real *smoothie*: a division of linguistic labour in consumers' acceptance of name-product combinations? **Appetite**, v. 63, p. 129-140, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.appet.2012.10.020>>. Acesso em: 6 abr. 2017.

TECHNOMIC. **The beverage trend consumer report**. 2012. Disponível em: <http://blogs.technomic.com/lean-on-beverages> Acesso em: 12 fev. 2018.

TIWARI, U. Production of fruit based *smoothies*. In: RAJAURIA, G.; TIWARI, B. K. **Fruit juices**: extraction, composition, quality and analysis. London: Elsevier, 2018. Chap. 1, p. 261-278.

TUORILA, H. L.; et al. Effect of expectations and the definition of products category on the acceptance of unfamiliar foods. **Food Quality and Preference**, v. 9, p. 421-430, 1998. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0950-3293\(98\)00012-3](https://doi.org/10.1016/s0950-3293(98)00012-3). Acesso em: 12 fev. 2018.

VALERO-CASES, E.; FRUTOS, M. J. Development of prebiotic nectars and juices as potential substrates for *Lactobacillus acidophilus*: special reference to physicochemical characterization and consumer acceptability during storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 81, p. 136-143, aug. 2017.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington: American Public Health Association, 1992.

VÁZQUEZ-CABRAL, B. D., et al. Oak kombucha protects against oxidative stress and inflammatory processes. **Chemico-Biological Interactions**, v. 272, p. 1-9, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.05.001> Acesso em: 12 fev. 2018.

VILLARREAL-SOTO, S. A.; et al. Understanding Kombucha tea fermentation: a review. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 3, p. 580-588, mar. 2018.

VITAS, J. S.; et al. Chemical composition and biological activity of novel types of Kombucha beverages with yarrow. **Journal of Functional Foods**, v. 44, p. 95-102, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.019> Acesso em: 12 fev. 2018.

WATAWANA, M. I., et al. Enhancement of the antioxidant and starch hydrolase inhibitory activities of king coconut water (*Cocos nucifera* var. *aurantiaca*) by fermentation with Kombucha 'tea fungus'. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 51, p. 490-498, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ijfs.13006> Acesso em: 12 fev. 2018.

YANG, Z-W.; et al. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of Kombucha tea in high-cholesterol fed mice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, p. 150-156, 2009. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3422> Acesso em: 12 fev. 2018.

ZHAO, Y.; et al. Tentative identification, quantitation, and principal component analysis of green pu-erh, green, and white teas using UPLC/DAD/MS. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1269-1277, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.055> Acesso em: 12 fev. 2018.

ZIELINSKI, A. A. F.; et al. A comparative study of the phenolic compounds and the in vitro antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. **Food Research International**, v. 60, p. 246-254, 2014a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.09.010> Acesso em: 12 fev. 2018.

ZIELINSKI, A. A. F.; et al. Development and optimization of a HPLC-RI method for the determination of major sugars in apple juice and evaluation of the effect of the ripening stage. **Food Science and Technology**, v. 34, p. 38-43, 2014b. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0101-20612014005000003> Acesso em: 12 fev. 2018.

ZIELINSKI, A. A. F.; et al. The association between chromaticity, phenolics, carotenoids, and in vitro antioxidant activity of frozen fruit pulp in Brazil: an application of chemometrics. **Journal of Food Science Chicago**, v. 79, p. C510-C516, 2014c. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12389>. Acesso em: 12 fev. 2018.

ZIELINSKI, A. A. F., et al. Effect of cryoconcentration process on phenolic compounds and antioxidant activity in apple juice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 6, p. 2786-2792, 2019.

ZORTÉA, M. E. B.; et al. Avaliação da viscosidade aparente de pastas de amidos nos viscosímetros Brookfield RVDV-II+PRO e rápido visco-analisador RVA-4. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 5, p. 326-335, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.3895/s1981-36862011000100008> Acesso em: 12 fev. 2018.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através da pesquisa feita no Capítulo I entende-se que *smoothie* e kombucha são bebidas com potencial nutricional e funcional consideráveis. Pesquisas que exploram a aplicação desses materiais em humanos são escassas e podem auxiliar no esclarecimento da função desses e, em especial, na expansão do consumo desses. A principal colaboração científica desse capítulo são os fluxogramas que representam de forma simplificada quase toda a informação obtida com a pesquisa. Esse capítulo poderá facilitar o entendimento da origem, particularidades e processamento da bebida de forma científica.

O Capítulo 2 gerou um material importante tanto para a indústria brasileira de bebidas saudáveis quanto para a ciência, pois trata-se de uma pesquisa de comportamento do consumidor completa, ao levantar o conhecimento do público sobre as bebidas e, em especial, ao descrever o cenário dos *smoothies* no Brasil através das 26 análises físico químicas e sensorial efetuadas nesse capítulo.

O Capítulo 3 *comprovou* que é possível desenvolver *smoothies* apreciados do ponto de vista nutricional e sensorial simultaneamente. Validou a fermentação como uma possível ferramenta tecnológica para agregar funcionalidade aos *smoothies*. Pode ser considerado o capítulo que desvendou o potencial inovador dessa pesquisa quando apresentou, pela primeira vez na ciência, um *smoothie* fermentado por microrganismos da kombucha. O protocolo de desenvolvimento apresentado contendo tanto os pontos frágeis quando a descrição sensorial foi relatada, como os pontos que merecem pesquisas futuras como o potencial anti-glicêmico das misturas fermentadas pode nortear novas pesquisas nessa área.

A aplicação dos conhecimentos obtidos nessa pesquisa poderá, a curto prazo, beneficiar pesquisadores da área de bebidas saudáveis. E, a longo prazo, poderá beneficiar a população preocupada em prevenir doenças crônicas como o diabetes ou até mesmo ter um coadjuvante no tratamento dessas com bebidas funcionais com esse propósito, podendo ser essas possíveis temáticas para pesquisas futuras.

## **APÊNDICE A - DESCRIÇÃO DOS *SMOOTHIES* UTILIZADOS NA PESQUISA**

## DESCRIÇÃO DOS *SMOOTHIES* UTILIZADOS NA PESQUISA

Existem 4 principais marcas de *smoothies* no mercado brasileiro com 17 produtos de diferentes sabores e apresentações. Essas bebidas podem ser divididas por cores. 6 bebidas (30 %) são a base de frutas amarelas, 8 (52,9%) são a base de frutas vermelhas, 2 (11 %) bebidas tem como base frutas verdes e 1 (5,9%) de coloração branca devido ser a base de leite de coco.

O volume dos produtos varia entre 90 g e 300 ml. Quanto a apresentação, 82,35% (14) dos produtos se apresentam em garrafa de vidro com tampa metálica com volume entre 250 e 300 ml e 100% desses devem manter-se refrigerados antes e após aberto. 17,65% (3) dos produtos de uma determinada marca se apresentam em embalagem de poliestireno com volume de 90 gramas e não necessitam refrigeração para o armazenamento.

Quanto ao ingrediente principal 23,55 % (4) apresentam polpa de maçã como primeiro ingrediente citado no rótulo do produto, 17,65 % (3) utilizam polpa de banana, 17,65 % (3) apresentam suco de laranja e 11,77% (2) apresentam kiwi ou polpa de kiwi e os demais produtos tem como base ingredientes como manga integral (1 produto, 5,89%), frutas amarelas (5,89%), frutas vermelhas, frutas silvestres (5,89%) e polpa de açaí (5,89%).

Tabela 13 - Características dos principais *smoothies* comerciais brasileiros

| (continua)                       |                                |                                                              |                                                                                                                          |        |                      |                              |
|----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|----------------------|------------------------------|
| Código da amostra<br>(sensorial) | Sabor descrito na<br>embalagem | Ingrediente em maior<br>quantidade<br>(primeiro ingrediente) | Outros                                                                                                                   | Volume | Tipo da<br>embalagem | Valor<br>por litro<br>(US\$) |
| 159                              | Manga + laranja rosa           | Manga integral                                               | Suco de laranja vermelha, água                                                                                           | 300 g  | Garrafa de vidro     | 7,15                         |
| 238                              | Frutas tropicais + chia        | Polpa de maçã                                                | Polpa de banana, polpa de manga, polpa de abacaxi, polpa de maracujá, chia, ácido ascórbico                              | 90 g   | Blister poliestireno | 24,29                        |
| 367                              | Acerola + mamão                | Suco de laranja                                              | Polpa de mamão, polpa de maçã, polpa de acerola, banana e suco de limão                                                  | 250 ml | Garrafa de vidro     | 10,29                        |
| 492                              | Manga + maracujá               | Suco de laranja                                              | Polpa de manga, polpa de maçã, polpa de maracujá e banana                                                                | 250 ml | Garrafa de vidro     | 10,29                        |
| 513                              | Frutas amarelas                | Frutas amarelas (damasco, manga, acerola, maracujá, cupuaçu) | Suco concentrado (maçã, romã), FOS, vitaminas (A, C e D), Selênio, Zinco, Estabilizante Pectina de fruta                 | 250 g  | Garrafa de vidro     | 10,29                        |
| 641                              | Kiwi + abacaxi + limão         | Kiwi                                                         | Abacaxi, Suco concentrado (maçã, limão), extrato de chá verde, hortelã, clorofila, estabilizante Pectina de fruta        | 250 g  | Garrafa de vidro     | 10,29                        |
| 762                              | Kiwi + abacaxi                 | Polpa de kiwi                                                | Suco de laranja, polpa de abacaxi, polpa de maçã, suco de uva branca, banana e espinafre                                 | 250 ml | Garrafa de vidro     | 10,29                        |
| 857                              | Maçã + framboesa + uva         | Polpa de maçã                                                | Polpa de framboesa, polpa de uva, ácido ascórbico                                                                        | 90 g   | Blister poliestireno | 24,29                        |
| 946                              | Frutas vermelhas               | Frutas vermelhas (morango, cereja, framboesa)                | Suco concentrado (maçã, ameixa, cranberry, romã), FOS, Vitaminas (A e D), Selênio, Zinco, Estabilizante Pectina de fruta | 250 g  | Garrafa de vidro     | 10,29                        |
| 135                              | Frutas silvestres              | Frutas silvestres (Amora, Mirtilo, Cassis)                   | Suco concentrado (Maçã, Ameixa, Cranberry), FOS, Vitaminas (A e D), Selênio, Zinco, Estabilizante Pectina de fruta       | 250 g  | Garrafa de vidro     | 10,29                        |
| 264                              | Amora + framboesa              | Polpa de maçã                                                | Amora, polpa de amora, framboesa, suco de laranja e limão                                                                | 250 ml | Garrafa de vidro     | 10,29                        |
| 379                              | Maçã + banana                  | Polpa de maçã                                                | Polpa de banana e ácido ascórbico                                                                                        | 90 g   | Blister poliestireno | 24,29                        |

Tabela 13 - Características dos principais *smoothies* comerciais brasileiros

|                                  |                                  |                                                              |                                                                    |        |                      | (conclusão)                  |
|----------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|--------|----------------------|------------------------------|
| Código da amostra<br>(sensorial) | Sabor descrito na<br>embalagem   | Ingrediente em maior<br>quantidade<br>(primeiro ingrediente) | Outros                                                             | Volume | Tipo da<br>embalagem | Valor<br>por litro<br>(US\$) |
| 415                              | Açaí + banana                    | Polpa de açaí                                                | Suco de laranja, polpa de maçã, banana e suco de limão             | 250 ml | Garrafa de vidro     | 10,29                        |
| 596                              | Banana + morango                 | Suco de laranja                                              | Morango, banana, polpa de maçã e suco de limão                     | 250 ml | Garrafa de vidro     | 10,29                        |
| 658                              | Frutas vermelhas + banana        | Polpa de banana integral                                     | Suco de morango, suco de uva, água, suco de maçã e suco de laranja | 300 ml | Garrafa de vidro     | 7,15                         |
| 713                              | Banana + morango + leite de coco | Polpa de banana integral                                     | Àgua, leite de coco light e suco de morango                        | 300 ml | Garrafa de vidro     | 7,15                         |
| 821                              | Banana + aveia + leite de coco   | Polpa de banana integral                                     | Leite de coco light, aveia e água                                  | 300 ml | Garrafa de vidro     | 7,15                         |

Fonte: A autora

**APÊNDICE B - FORMULÁRIO DO PERFIL DO VOLUNTÁRIO DA ANÁLISE  
SENSORIAL DE *SMOOTHIES* COMERCIAIS**

**DOUTORADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**  
**PROJETO DESENVOLVIMENTO DE UM SMOOTHIE FERMENTADO**  
**LORENE SIMIONI YASSIN**

**Perfil do avaliador**

|                                     |                                                                                                                                                                                          |
|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Identificação:                      |                                                                                                                                                                                          |
| Data de nascimento:                 | ____/____/____                                                                                                                                                                           |
| Gênero:                             | <input type="checkbox"/> Masculino <input type="checkbox"/> Feminino                                                                                                                     |
| Consumo <i>smoothies</i> :          | <input type="checkbox"/> Diariamente <input type="checkbox"/> Semanalmente <input type="checkbox"/> Mensalmente<br><input type="checkbox"/> Eventualmente <input type="checkbox"/> Nunca |
| Problemas de saúde:                 |                                                                                                                                                                                          |
| Uso de medicamentos:                |                                                                                                                                                                                          |
| Fumante:                            | <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Ocasionalmente                                                                                        |
| Já participou de análise sensorial? | <input type="checkbox"/> Sim (como consumidor) <input type="checkbox"/> Sim (membro de painel sensorial)<br><input type="checkbox"/> Não                                                 |

**APÊNDICE C - FORMULÁRIO DE DESCRIÇÃO DOS ATRIBUTOS PELOS  
VOLUNTÁRIOS DA ANÁLISE SENSORIAL DOS *SMOOTHIES* COMERCIAIS**

**DOUTORADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**  
**PROJETO DESENVOLVIMENTO DE UM SMOOTHIE FERMENTADO**  
**LORENE SIMIONI YASSIN**

**Instruções sobre como observar os atributos:**

- Aparência: observar cor e aspecto
- Odor: cheirar a amostra duas vezes, realizar inalações curtas, em caso de fadiga, cheirar o antebraço para neutralizar os odores e esperar alguns minutos.
- Sabor: degustar a bebida, atentando aos gostos básicos (doce, salgado, ácido, amargo e umami). Perceber mistura de sabores, adstringência, metálico, etc.
- Textura: movimentar a bebida no copo, avaliar a sensação na boca. Deixar a bebida em contato com a língua e o palato e observar as sensações. Avaliar presença de fragmentos, sementes, pedaços de frutas, arenosidade, untuosidade.
- Residual: sensações na cavidade oral após engolir, principalmente relacionadas aos gostos básicos.
- Anotar similaridades e diferenças percebidas.

**Coleta dos atributos**

Avaliador: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Aparência:

Odor:

Textura:

Sabor:

Residual:

**APÊNDICE D - FORMULÁRIO DE ORDENAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA OS  
ATRIBUTOS GERADOS PELOS VOLUNTÁRIOS NA ANÁLISE SENSORIAL DOS  
*SMOOTHIES* COMERCIAIS**

[illegible]