

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

MARIA EDUARDA ANSCHAU

**ELABORAÇÃO DE KOMBUCHA ADICIONADA DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS
NÃO CONVENCIONAIS (PANC's): ASPECTOS FÍSICO-QUÍMICOS E ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE**

Bagé

2022

MARIA EDUARDA ANSCHAU

**ELABORAÇÃO DE KOMBUCHA ADICIONADA DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS
NÃO CONVENCIONAIS (PANC's): ASPECTOS FÍSICO-QUÍMICOS E ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE**

Trabalho de Conclusão de Curso II
apresentado ao Curso de Engenharia de
Alimentos da Universidade Federal do Pampa,
como requisito parcial para obtenção do Título
de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Andressa Carolina
Jacques

Bagé

2022

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais).

A617

Anschau, Maria Eduarda

ELABORAÇÃO DE KOMBUCHA ADICIONADA DE PLANTAS
ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANC' s): ASPECTOS FÍSICO-
QUÍMICOS E ANTIOXIDANTES / Maria Eduarda Anschau.

49 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) --
Universidade Federal do Pampa, ENGENHARIA DE ALIMENTOS,
2022.

"Orientação: Andressa Carolina Jaques".

1. Kombucha. 2. Plantas Alimenticias Não
Convencionais. 3. Benefícios . I. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal do Pampa

MARIA EDUARDA ANSCHAU

**ELABORAÇÃO DE KOMBUCHA ADICIONADA DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS
NÃO CONVENCIONAIS (PANC's): ASPECTOS FÍSICO-QUÍMICOS E ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE**

Trabalho de Conclusão de Curso II
apresentado ao Curso de Engenharia de
Alimentos da Universidade Federal do Pampa,
como requisito parcial para obtenção do Título
de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 16 de agosto de 2022.

Banca examinadora:

Prof^ª. Dr^ª. Andressa Carolina Jacques
Orientadora
UNIPAMPA

Prof^ª. Dr^ª. Miriane Lucas Azevedo
UNIPAMPA

Prof. Dr. Paulo Fernando Marques Duarte Filho

UNIPAMPA



Assinado eletronicamente por **ANDRESSA CAROLINA JACQUES, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 16/08/2022, às 15:31, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



Assinado eletronicamente por **MIRIANE LUCAS AZEVEDO, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 16/08/2022, às 15:32, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



Assinado eletronicamente por **PAULO FERNANDO MARQUES DUARTE FILHO, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 16/08/2022, às 15:43, conforme horário oficial de Brasília, de acordo com as normativas legais aplicáveis.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unipampa.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0895435** e o código CRC **5935F98D**.

Referência: Processo nº 23100.016813/2022-11 SEI nº 0895435

Dedico este trabalho às pessoas responsáveis por eu estar concluindo mais uma etapa em minha vida, e me deram todo suporte e motivação para realização deste sonho, obrigado a minha família, aos professores e todos meus amigos que acrescentaram de alguma forma na minha vida acadêmica.

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a minha mãe Marcia, por nunca medir esforços para me ver bem, por todo o amor, carinho e suporte fornecidos durante todos os anos da minha vida, e que me proporcionou estar finalizando mais uma etapa da minha vida.

Ao meu namorado Vinícius, que nunca duvidou do meu potencial e se manteve companheiro em todos os momentos.

A minha orientadora Andressa, por me orientar da melhor forma possível, sendo compreensiva, atenciosa e dedicada, sempre me amparando ao decorrer do trabalho.

Ao laboratório olivais do pampa, onde foram realizadas todas as pesquisas necessárias, juntamente com a Candice, que foi responsável por me assessorar durante todos os momentos que precisei de ajuda.

Ao grupo de pesquisa Elaboração da bebida kombucha adicionada de fontes vegetais e avaliação de seus benefícios, por me ajudarem sempre que necessário.

A dona do café com PANC, Marcia, de Porto Alegre, que me forneceu todas as plantas necessárias para elaboração das kombuchas, e se manteve sempre à disposição.

Aos meus familiares, que sempre me deram suporte e acreditaram em mim.

RESUMO

A kombucha é uma bebida resultante da fermentação de chá preto e/ou verde açucarado pela presença de uma película celulósica (SCOBY) composta pela associação simbiótica de bactérias e leveduras. A bebida passa por dois processos de fermentação, sendo a primeira com duração de 7 a 10 dias. Após esse processo é feita a segunda fermentação, que possui como objetivo gaseificar a bebida e também, em alguns casos, saborizar a kombucha com frutas, sucos, verduras, especiarias, ervas e plantas diversas. As PANC's (Plantas Alimentícias Não Convencionais) são utilizadas na alimentação, podendo ser verduras, hortaliças, especiarias, frutas, castanhas, porém não são produzidas ou comercializadas em grande escala, e também podem ser relacionadas com a cultura de determinado local e o que as pessoas estão habituadas a consumir. Assim, objetivou-se elaborar kombuchas adicionadas das PANC's (lírio do brejo, hibisco e picão), comparando com uma formulação padrão (sem adição de PANC). Inicialmente foi realizada uma caracterização bioativa das PANC's para logo após serem desenvolvidas as bebidas. As mesmas foram obtidas com adição de chá verde e açúcar e realizada duas fermentações, sendo a primeira com o SCOBY (symbiotic culture of bacteria and yeast) e logo após o término da primeira fermentação, deu-se a saborização com as diferentes PANC's. Foram realizadas as avaliações preconizadas pela legislação, como pH, acidez total, sólidos solúveis e teor alcoólico, assim como a caracterização bioativa. Para atividade antioxidante das PANC's hibisco, picão e lírio do brejo foram encontrados 86,73%, 90,22% e 76,38% de inibição, respectivamente. Para os carotenoides das PANC's hibisco, picão e lírio do brejo foram encontrados 235,76; 1093,43¹ e 613,10 µg de β-caroteno.g⁻¹, respectivamente. Para os compostos fenólicos das PANC's hibisco, picão e lírio do brejo foram encontrados 1925,5; 1617,43 e 844,88 mg de ácido gálico.100g⁻¹, respectivamente. Para as antocianinas das PANC's hibisco, picão e lírio do brejo foram encontrados 261,03; 445,55 e 142,54 mg de cianidina 3 glicosideo.100g⁻¹, respectivamente. Dentre os compostos avaliados, observou-se o maior resultado para o picão, para carotenoides e antocianinas, corroborando com o alto potencial antioxidante encontrado para esta PANC's. Os resultados obtidos para as Kombuchas, foram: Atividade antioxidante das kombuchas com hibisco, picão, lírio do brejo e tradicional: 18,90%; 16,22 %; 15,50 %; e 17,92% de inibição, respectivamente. Carotenoides das kombuchas com hibisco, picão, lírio do brejo e tradicional: 0,59; 0,59; 0,47 e 0,47 µg de β-caroteno.g⁻¹, respectivamente. Compostos fenólicos das kombuchas com hibisco, picão, lírio do brejo e tradicional: 42,06; 31,78; 28,59 e 24,17 mg de ácido gálico.100g⁻¹, respectivamente. Antocianinas das kombuchas com hibisco, picão, lírio

do brejo e tradicional: 6,49; 4,23; 2,86 e 2,43 mg glicosídeo.100g⁻¹, respectivamente. As análises físico-química, mostraram-se todas dentro dos parâmetros analíticos exigidos pela legislação para esta bebida. As bebidas analisadas apresentaram características bioativas e físico-químicas compatíveis com as matérias-primas e ingredientes utilizados, tendo em vista que as kombuchas resultantes apresentam ácidos e compostos antioxidantes benéficos à saúde, podendo contribuir com o potencial antioxidante, a partir do consumo de uma bebida que não possui aditivos químicos.

Palavras-Chave: Bebida fermentada não alcoólica; Compostos bioativos; Chá verde.

ABSTRACT

Kombucha is a beverage resulting from the fermentation of black and/or green tea sweetened by the presence of a cellulosic film (SCOBY) composed of the symbiotic association of bacteria, and yeast. The beverage goes through two fermentation processes, the first lasting 7 to 10 days. After this process the second fermentation takes place, which has the objective of carbonating the beverage and also, in some cases, flavoring the kombucha with fruits, juices, vegetables, spices, herbs, and various plants. The PANC's (Non-Conventional Food Plants) are used in food, and can be vegetables, legumes, spices, fruits, nuts, but are not produced or marketed on a large scale, and can also be related to the culture of a particular place and what people are used to consuming. Thus, the objective was to prepare kombuchas with added PANC's (swamp lily, hibiscus and prickly pear), compared to a standard formulation (without added PANC). Initially, a bioactive characterization of the PANC's was performed to then develop the beverages. The same were obtained with the addition of green tea and sugar and performed two fermentations, the first with the SCOBY (symbiotic culture of bacteria and yeast) and soon after the end of the first fermentation, gave the flavoring with different PANC's. The evaluations recommended by legislation were performed, such as pH, total acidity, soluble solids and alcohol content, as well as bioactive characterization. For antioxidant activity of hibiscus, prickly pear and marsh lily, 86.73%, 90.22% and 76.38% of inhibition were found, respectively. For carotenoids of the PANC's hibiscus, prickly pear and lily of the marsh, 235.76; 1093.43 and 613.10 μg of β -carotene. g^{-1} were found, respectively. For the phenolic compounds of the PANC's hibiscus, prickly pear and marsh lily, 1925.5; 1617.43 and 844.88 mg of gallic acid. 100g^{-1} were found, respectively. For the anthocyanins of hibiscus, prickly pear and lily of the marsh, 261.03; 445.55 and 142.54 mg of cyanidin-3-glycoside were found. 100g^{-1} , respectively. Among the compounds evaluated, the highest results for the prickly pear were observed for carotenoids and anthocyanins, corroborating the high antioxidant potential found for these PANC's. The results obtained for the Kombuchas were: Antioxidant activity of the kombuchas with hibiscus, prickly pear, swamp lily and traditional: 18.90%; 16.22%; 15.50%; and 17.92% inhibition, respectively. Carotenoids of the kombuchas with hibiscus, prickly pear, lily of the marsh and traditional: 0.59; 0.59; 0.47 and 0.47 μg of β -carotene. g^{-1} , respectively. Phenolic compounds of kombuchas with hibiscus, prickly pear, lily of the marsh and traditional: 42.06; 31.78; 28.59 and 24.17 mg gallic acid. 100g^{-1} , respectively. Anthocyanins of the kombuchas with hibiscus, prickly pear, lily of the marsh and traditional: 6.49; 4.23; 2.86 and 2.43 mg glycoside. 100g^{-1} , respectively. The

physical-chemical analysis were all within the analytical parameters required by law for this beverage. The analyzed beverages showed bioactive and physicochemical characteristics compatible with the raw materials and ingredients used, considering that the resulting kombuchas present acids and antioxidant compounds beneficial to health, and may contribute to the antioxidant potential, from the consumption of a beverage that has no chemical additives.

Key-words: Non-alcoholic fermented beverage; Bioactive compounds; Green tea.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts).....	21
Figura 2 – PANC's	26
Figura 3 - Fluxograma de elaboração da Kombucha.....	31
Figura 4 - Elaboração da kombucha	37
Figura 5 - Pré saborização	38
Figura 6 - Segunda fermentação.....	39
Figura 7 - Gaseificação e coloração das kombuchas	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Delineamento Experimental	32
Tabela 2 - Caracterização das plantas secas	35
Tabela 3 - Caracterização das kombuchas.....	40
Tabela 4 - Caracterização físico-química as kombuchas.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PANC's – Plantas Alimentícias Não Convencionais

SCOBY - Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

NBR - Norma Brasileira

DPPH – 2,2-difenil-1-picril-hidrazil

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

BOD - Biochemical Oxygen Demand (Demanda Bioquímica de Oxigênio)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 CONCEITOS GERAIS E REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1 Histórico	20
2.2 Primeira fermentação.....	20
2.2.1 Composição microbiológica	22
2.2.1.1 Leveduras	22
2.2.1.2 Bactérias	22
2.2.2 Camellia sinensis.....	23
2.2.3 Segunda fermentação: saborização.....	24
2.3 Benefícios do consumo da Kombucha	24
2.4 Plantas Alimentícias Não Convencionais - PANC's	25
2.5 Compostos antioxidantes	26
3 METODOLOGIA.....	28
3.1 Material	28
3.2 Métodos	28
3.2.1 Caracterização bioativa das PANC's.....	28
3.2.1.1 Fenóis totais.....	28
3.2.1.2 Antocianinas totais	29
3.2.1.3 Carotenoides totais	29
3.2.1.4 Atividade Antioxidante	30
3.2.2 Elaboração da kombucha	30
3.2.3 Delineamento experimental	32
3.2.3 pH.....	33
3.2.4 Teor Alcoólico	33
3.2.5 Acidez total titulável.....	33
3.2.6 Sólidos solúveis.....	34
3.2.7 Atividade antioxidante	34
3.2.8 Fenóis totais.....	34
3.2.9 Carotenoides totais	34
3.2.10 Antocianinas totais	34
3.2.11 Estatística	34
4 APRESENTAÇÃO DA PESQUISA E ANÁLISE DOS RESULTADOS	35

4.1 Caracterização bioativa das PANC's.....	35
4.2 Elaboração da kombucha	37
4.3 Caracterização bioativa das kombuchas	40
4.4 Caracterização físico-química das kombuchas.....	42
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	44
REFERÊNCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

A Kombucha é uma bebida milenar obtida por fermentação, que foi descoberta na Ásia e possui um sabor levemente doce, gaseificado e moderadamente ácido. É elaborado a partir da combinação de chá verde e/ou chá preto açucarado com o SCOBY (abreviação do inglês, (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast), sendo este uma película celulósica composta pela associação simbiótica de bactérias e leveduras (SANTOS, 2018).

De acordo com a legislação vigente, acerca da identidade e qualidade, “Kombucha é a bebida fermentada obtida através da respiração aeróbia e fermentação anaeróbia do mosto obtido pela infusão ou extrato de *Camellia sinensis* e açúcares por cultura simbiótica de bactérias e leveduras microbiologicamente ativas” (SCOBY) (DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO, 2019, p. 13).

O SCOBY é composto em sua maioria por proteínas e fibras. A cada nova fermentação é formado um novo SCOBY na superfície do recipiente, o qual deve ser guardado uma porcentagem para a próxima fermentação e assim consecutivamente. Na etapa da fermentação, o chá começa a liberar um aroma fermentado e existe formação de bolhas de gás, resultado do ácido carbônico produzido na reação (JAYABALAN *et al.*, 2014).

A bebida passa por dois processos de fermentação, sendo a primeira com duração de 7 a 10 dias, já apresentando nesta etapa a presença de alguns compostos químicos, como minerais, dióxido de carbono, ácidos orgânicos, polifenóis, vitaminas C e B, aminoácidos, fibras, açúcares, enzimas hidrolíticas e etanol (MOUSAVI *et al.*, 2020). Após o processo da primeira fermentação é feita a segunda fermentação, que possui o objetivo de gaseificar a bebida e, também, em alguns casos, saborizar a kombucha com frutas, sucos, verduras, especiarias, ervas e plantas diversas. Em função dos diversos compostos produzidos durante o processo de fermentação, a kombucha pode apresentar potencial antioxidante e se consumido regularmente pode trazer diversos benefícios à saúde (SANTOS JÚNIOR *et al.*, 2009).

Dentre os benefícios desta bebida, destacam-se suas propriedades anti-inflamatórias, atividade antioxidante, capacidade de redução de colesterol e hipertensão arterial, contribuindo positivamente para o sistema imunológico e gastrointestinal, ajudando a regular a microbiota intestinal e controlando o seu funcionamento e a circulação sanguínea (SANTOS JÚNIOR *et al.*, 2009). A atividade antioxidante está associada à prevenção de câncer, aumento da imunidade e redução de inflamações. A bebida depois de fermentada possui compostos polifenóis, ácido ascórbico. A atividade antioxidante depende do tempo de fermentação, tipo de chá utilizado e micro-organismos presentes (SANTOS, 2016), podendo

ser adicionada de alguns compostos que aumentem estas características, como por exemplo, as Plantas Alimentícias não Convencionais – PANC's

As PANC's já são utilizadas na alimentação, como verduras, hortaliças, especiarias, frutas, castanhas, porém elas não são produzidas ou comercializadas em grande escala, das quais o cultivo pode ser esquecido. O termo também está relacionado com a cultura de determinado local e o que as pessoas estão habituadas a consumir. O objetivo é relacionar essas plantas com o que o ambiente local pode proporcionar, permitindo cada vez mais o seu consumo (RANIERI *et al.*, 2017).

Os benefícios nutricionais das PANC's variam de acordo com sua espécie, mas grande parte dessas plantas são fonte de nutrientes, sais minerais e vitaminas, e também possuem características antioxidantes, anti-inflamatórias e terapêuticas. Para absorção desses benefícios é necessário respeitar a forma de preparo de todas as plantas (PASCHOAL; GOUVEIA; SOUZA, 2015).

De acordo com o exposto, o objetivo geral deste trabalho foi elaborar uma bebida Kombucha adicionada de PANC's a fim de aumentar seu potencial antioxidante e contribuir com a coloração. Ainda, os objetivos específicos traçados foram: elaborar uma kombucha com formulação padrão; elaborar kombucha adicionada das PANC's: lírio do brejo, hibisco e picão; caracterizar as kombuchas através de parâmetros físico-químicos; comparar a atividade antioxidante da bebida padrão com as adicionadas das PANC's.

2 CONCEITOS GERAIS E REVISÃO DE LITERATURA

Esta seção tem como intuito abordar aspectos gerais sobre a bebida kombucha, apresentando os seus parâmetros físico-químicos e utilizando em sua saborização PANC's. As plantas que fazem parte da pesquisa são lírio do brejo, hibisco e picão, estas possuem características aromáticas, nutritivas e sensoriais com maior potencial para serem utilizadas na saborização da kombucha.

2.1 Histórico

Existem indícios de que a kombucha surgiu na China há 5000 anos, e ao passar dos anos a bebida tornou-se mais habitual, fazendo parte da rotina alimentar das pessoas, considerando seus benefícios à saúde. A kombucha era consumida, primeiramente por possuir propriedades estimulantes e desintoxicantes na eliminação do álcool e toxinas, para melhorar o fluxo sanguíneo e urinário, para aliviar dores nas articulações e melhorar a imunidade. Sabendo dessas propriedades, o médico Kombu, em 414 d.C, levou o SCOBY para o Japão e utilizou para curar problemas digestivos do Imperador Inkyo. Surgindo daí o nome “Kombu cha” ou “chá do Kombu”. A partir da expansão das rotas comerciais Kombucha também foi chegando a outros países e se popularizando (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000).

2.2 Primeira fermentação

A Kombucha possui fermentação natural, que ocorre a partir da infusão de chá verde ou preto adoçado com açúcar que é substrato da reação de fermentação. Ao chá adoçado é adicionado um volume de 10 a 20 % de Kombucha já fermentada, que vai provocar uma diminuição do pH do meio, inibindo o desenvolvimento de micro-organismos indesejados no chá açucarado, e um SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts), estes ingredientes serão responsáveis pelo processo de fermentação. Grande parte da composição do SCOBY é formada por proteínas e fibras. Depois de cada nova fermentação é formado um novo SCOBY na superfície do recipiente, como mostrado na Figura 1, o qual deve ser guardado uma parte para a próxima produção e assim sucessivamente. Durante o processo de fermentação, o chá começa a liberar um aroma fermentado e há formação de bolhas de gás, resultado do ácido carbônico produzido na reação (JAYABALAN *et al.*, 2014).

Figura 1 - SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts).



Fonte: CHRISTENSEN (2019, p. 1)

As propriedades da bebida Kombucha, tanto sensoriais quanto de composição química, podem variar muito, pois estão ligadas a diversos fatores, como o tipo de chá e açúcar utilizados como base na primeira fermentação, os micro-organismos presentes no SCOBY e o tempo de fermentação, que o ideal é que seja de 7 a 10 dias e a temperatura de 22 a 30 °C (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000).

Um estudo recente teve como objetivo analisar as características microbiológicas e físico-químicas de dez sabores diferentes de Kombucha artesanais. Sendo que a preparação da Kombucha foi dividida em duas etapas: primeira fermentação (SCOBY) e segunda fermentação (saborização). As bebidas foram produzidas e enviadas para análise uma semana após a produção. Após a etapa final, foram realizadas algumas análises físico-químicas e microbianas como: Coliformes a 45°C e *Salmonella*, proteína bruta, extrato etéreo, umidade, material mineral, pH, graduação alcoólica e acidez volátil.

As análises microbiológicas evidenciaram que as kombuchas foram elaboradas utilizando medidas de higiene e biossegurança na produção, com resultados em conformidade com a legislação vigente. Os resultados das análises físico-químicas e dos parâmetros do Padrão de Identidade e Qualidade da kombucha foram satisfatórios na maioria das bebidas, exceto pelo sabor maracujá com hibisco que obteve 0,63% de etanol, sendo que o preconizado é no máximo 0,5%. Os resultados encontrados são satisfatórios e sugerem novos estudos sobre a bebida, para o processo de fabricação seguro para comercialização e consumo. (CABRAL; PAULA, 2021, p. 3)

2.2.1 Composição microbiológica

A microbiota da Kombucha encontra-se dispersa no líquido e acomodada no SCOBY, película gelatinosa celulósica que se forma à superfície do líquido e que é responsável pela fermentação do chá. Essa película gelatinosa dá origem à bebida e a uma nova película. As películas formam-se por camadas, de baixo para cima, sendo que a mais próxima da superfície é sempre a mais recente (JAYABALAN *et al.*, 2014). A matriz de celulose bacteriana acomoda as bactérias e leveduras responsáveis pela fermentação da kombucha. Sendo que, o SCOBY é capaz de inibir o crescimento de potenciais bactérias contaminantes (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000).

A precisão exata de micro-organismos que compõem a kombucha não é definida, pois ela varia de acordo com sua origem, substratos e condições de produção (JAYABALAN *et al.*, 2014).

2.2.1.1 Leveduras

Existem diversos tipos de leveduras presentes na kombucha, e as mais recorrentes são: *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces ludwigii*, *Kloeckera apiculata*, *Hanseniaspora guilliermondii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Torulaspota delbrueckii*, *Brettanomyces bruxellensis*, *Brettanomyces lambicus*, *Brettanomyces custersii* e *Candida stellata*. Leveduras dos gêneros *Zygosaccharomyces* e *Saccharomyces* produzem compostos aromáticos frutados, e são de grande importância no desenvolvimento do aroma da kombucha. Já as leveduras *apiculadas* (*Kloeckera* e *Hanseniaspora*) sintetizam ésteres voláteis e ácidos que conferem ao substrato um aroma semelhante à sidra (BATTIKH; BAKHROUF; AMMAR, 2012; MAYSER *et al.*, 1995).

As leveduras presentes no chá verde e/ou preto açucarado hidrolisam a sacarose (açúcar) em frutose e glicose, isso ocorre pela ação da enzima invertase, produzindo etanol e dióxido de carbono. (JAYABALAN *et al.*, 2014).

2.2.1.2 Bactérias

Em uma combinação simbiótica com as leveduras, as principais bactérias acéticas predominantes na kombucha são: *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Acetobacter aceti* e *Acetobacter pasteurianus*. *Acetobacter xylinum*, a bactéria mais recorrente, tem a capacidade de sintetizar o SCOBY, melhorando a associação formada entre bactérias e fungos (BALENTINE; WISEMAN; BOUWENS, 1997).

Ao longo da fermentação o pH da Kombucha decresce, ficando com tendência mais ácida, por conta dos ácidos orgânicos na composição. Por consequência disso, a cor da bebida tem tendência a ficar mais clara, em relação à cor original do chá, pois existem alterações que ocorrem na conformação dos complexos fenólicos resultantes da ação de enzimas microbianas sobre os polifenóis (LIU *et al.*, 1996).

2.2.2 *Camellia sinensis*

Os chás que são utilizados para o preparo da Kombucha são chá verde e/ou preto, sendo a denominação uma referência ao preparo pós-colheita das folhas, procedentes da planta *Camellia sinensis* que é um arbusto de origem asiática. As folhas são obtidas da planta e utilizadas no preparo de infusões que compõem a bebida (BORATO, 2014).

A classificação dos chás obtidos de *Camellia sinenses* se dá em três tipos básicos: preto, verde e oolong, a diferença entre eles é o beneficiamento das suas folhas. O chá preto é derivado de folhas envelhecidas pela oxidação aeróbica das catequinas, ocorrendo uma fermentação. O chá verde é produzido a partir de folhas frescas da planta, as quais são apenas escaldadas e fervidas, ocorrendo uma rápida inativação da enzima polifenol oxidase, o que mantém preservado seu teor de polifenóis e o torna mais rico em catequinas e compostos com atividades funcionais. Porém, o chá oolong é considerado intermediário ou “parcialmente oxidado”, pois o processo de obtenção é pela fermentação mais branda, em que as folhas ficam em repouso de duas a quatro horas, e posteriormente são aquecidas para que o processo oxidativo seja interrompido, tendo, assim, um aroma menos acentuado que o chá preto (CABRERA *et al.*, 2006).

Segundo a Instrução Normativa MAPA nº 41, de 2019, os ingredientes obrigatórios que devem estar presentes na composição da Kombucha, são: água potável (conforme estabelecido em legislação específica do Ministério da Saúde, de acordo com a Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011), infusão ou extrato aquoso de *Camellia sinensis*, açúcares (conforme legislação específica da ANVISA, Resolução RDC nº 271, de 22 de setembro de 2005) e uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras (SCOBY) adequadas para

fermentação alcoólica e acética, desde que garantida a sua inocuidade à saúde humana. Os micro-organismos presentes no SCOBY podem estar presentes na bebida final, sendo vedada a adição dos mesmos após o processo de respiração e fermentação. É autorizado o uso de processos tecnológicos adequados para a produção da kombucha, como pasteurização, filtração, ultracentrifugação, entre outros.

2.2.3 Segunda fermentação: saborização

A Kombucha pode ser gaseificada naturalmente quando submetida a uma segunda fermentação. Nesta etapa, pode-se atribuir a bebida frutas e especiarias como, por exemplo, abacaxi, limão, morango, gengibre, canela, cúrcuma, anis estrelado, pimenta e cravo (JAYABALAN; MARIMUTHU; SWAMINATHAN, 2007).

Após o período de fermentação aeróbica (primeira fermentação), a Kombucha estará pronta para passar por um processo de saborização com frutas frescas e especiarias em uma segunda fermentação (anaeróbica). Esta mistura deverá ser guardada numa garrafa de plástico fechada e deixada à temperatura ambiente. A Kombucha estará carbonatada assim que a garrafa ficar firme, tornando-se uma bebida ligeiramente carbonatada. O produto final é uma bebida com sabor semelhante a uma bebida frisanter, rica em compostos orgânicos, vitaminas e minerais (BROOME, 2015; GREENWALT; STEINKRAUS; LEDFORD, 2000).

2.3 Benefícios do consumo da Kombucha

Os micro-organismos presentes na kombucha formam polifenóis presentes na infusão da *Camellia sinensis*, especialmente as catequinas, que possuem capacidade de eliminar espécies reativas de oxigênio. Isto está relacionado à atividade antioxidante da bebida, à doação de elétrons, habilidade quelante de metais e também habilidade de doação de hidrogênio. Estes mesmos micro-organismos produzem vários ácidos orgânicos, vitaminas e minerais para a saúde e também contribuem para as propriedades nutricionais e antioxidantes da bebida. Os metabólitos formados dependem da variedade de folhas de chá, a variedade de micro-organismos em simbióticas condições de cultura e fermentação (KAYISOGLU; COSKUN, 2021; SUN; LI; CHEN, 2015). O ácido glicurônico tem sido tema de interesse nos últimos anos, pois possui propriedades desintoxicantes, que faz com que muitos tipos de substâncias tóxicas sejam eliminadas do corpo humano via sistema urinário, como poluentes,

produtos químicos exógenos, excesso de hormônios esteroidais e bilirrubina (NGUYEN *et al.*, 2015).

Existem micro-organismos vivos presentes na Kombucha, chamados de probióticos, usados para manter o equilíbrio da microbiota intestinal. A produção de substâncias bacteriostáticas e da competição com os patógenos e suas toxinas no intestino é a forma como os probióticos agem no corpo humano, prevenindo o indivíduo de algumas doenças, principalmente gastrointestinais, como diarreias, câncer do cólon, doença de Crohn, intolerância à lactose e síndrome do intestino irritável, auxiliando também no controle do colesterol e aumento da imunidade (OLIVEIRA; ALMEIDA; BOMFIM, 2017).

Segundo Medeiros e Cechinel-Zanchett (2019), autores de um estudo feito por revisão crítica da literatura, a Kombucha possui inúmeras propriedades benéficas à saúde humana, como: atividade antioxidante, antibacteriana, antifúngica, efeito probiótico, potencial anticarcinogênico, efeito hipoglicemiante, além de outros efeitos terapêuticos e de prevenção de doenças crônicas não transmissíveis. Porém, relatou-se que poucas pesquisas foram feitas com humanos para avaliar com mais precisão seus benefícios, toxicidade, e usos terapêuticos.

2.4 Plantas Alimentícias Não Convencionais - PANC's

As PANC's são hortaliças nativas, que podem ser encontradas em diferentes lugares, como calçadas, terrenos abandonados ou também podem ser cultivados propositalmente e algumas vezes são consideradas ervas daninhas, sendo que são facilmente cultivadas e encontradas. As Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC's), são uma ótima fonte nutricional e funcional para a alimentação humana. Como também podem ser utilizadas na Fitoterapia e medicina popular, as PANC's exercem o papel de alimentos funcionais, pois apresentam na sua composição os nutrientes necessários para o funcionamento do organismo, como vitaminas essenciais, fibras, antioxidantes e sais minerais, ou seja, todos os nutrientes necessários para o organismo (KELEN *et al.*, 2015).

O biólogo Kinnup criou o termo PANC, relacionado a todas as plantas que possuem partes comestíveis e que não estão incluídas nos hábitos alimentares diários, elas podem ser de origem espontânea ou cultivada, nativa ou exótica (KELEN *et al.*, 2015).

As PANC's (Figura 2), Lírio-do-Brejo (*Hedychium coronarium*), Hibisco (*Hibiscus sabdariffa*) e Picão (*Bidens alba*), são plantas já utilizadas em bebidas por possuírem

características aromáticas, nutritivas e sensoriais com maior potencial para serem utilizadas na saborização da Kombucha.

Figura 2 – PANC's



Fonte: RANIERI (2017, p.30, p.37, p.34)

A utilização das Plantas Alimentícias Não Convencionais, segundo estudos, garante efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, antimicrobianos e anticancerígenos (MERTZ *et al.*, 2009). Segundo o estudo de Bezerra *et al.* (2021), que avaliou três espécies de PANC's, a ação antioxidante tem sido foco devido à sua rica composição em fenólicos e flavonoides, que são um indicativo para bons resultados de atividade antioxidante. Os extratos etanólico, hidroalcoólico e metanólico mostraram efeitos promissores e as frações de acetato de etila e butanol, por serem ricos em fenólicos, demonstraram ótima atividade antioxidante nas PANC's *Rumex crispus* (Labaça-crespa), *Conyza bonariensis* (Buva) e *Taraxacum officinale* (Dente-de-Leão).

2.5 Compostos antioxidantes

Existe uma quantidade considerável de carotenóides em grande parte das PANC's. Os carotenóides podem prevenir e inibir certos tipos de câncer, com potencial antioxidante, efeitos na resposta imune e na comunicação intracelular, apresentando também benefícios contra doenças relacionadas ao envelhecimento. A vitamina A, está presente nas folhas das PANC's, é um antioxidante que desempenha papel importante na visão, mantém a saúde das

membranas mucosas e protege a cavidade oral contra o câncer (UENOJO *et al.*, 2007; ZHOU *et al.*, 2014).

Segundo o estudo de revisão bibliográfica de Fernandes (2019), as PANC's possuem ações antioxidantes, anti-inflamatórias e antitumorais, conferindo a elas um grande potencial terapêutico. As plantas apresentam, também, alto teor de proteínas, fibras e ferro, fazendo com que seja uma alternativa para dietas mais balanceadas.

Na Kombucha, preparada a partir de chá verde e/ou preto, a atividade antioxidante está associada à presença de compostos fenólicos, tais como ácido gálico, catequinas, ácido cafeico, rutina e ácido clorogênico. Estes compostos protegem o organismo humano de danos causados pelo estresse oxidativo, que é causado pelo acúmulo de radicais livres, e tem como consequência muitas doenças e até mesmo o envelhecimento. As propriedades antioxidantes da Kombucha dependem do tempo de fermentação, tipo de chá utilizado e dos microorganismos presentes (SANTOS, 2016). No período da fermentação do chá, os compostos fenólicos aumentam em quantidades totais em razão da degradação de compostos maiores em compostos menores por ação de enzimas produzidas. Um exemplo de composto antioxidante presente na Kombucha é a vitamina C, normalmente está presente nos substratos utilizados para a produção das bebidas, tais como as folhas de chá verde e chá preto. Como um agente redutor eficaz, a vitamina C mostra uma poderosa propriedade de eliminação contra os radicais livres e espécies reativas de oxigênio (BHATTACHARYA *et al.*, 2016; VITAS *et al.*, 2013).

A atividade antioxidante na kombucha também pode aumentar devido a conversão metabólica dos constituintes químicos durante a fermentação microbiana, quando comparado à infusão que não houve fermentação. O ácido glicurônico é um dos principais compostos presente na Kombucha, pois aumenta o nível de hemoglobina no sangue, melhora o fornecimento de oxigênio aos tecidos e estimula a síntese de ATP (ADRIANI *et al.*, 2011; NGUYEN *et al.*, 2015; SANTOS, 2016; SUN; LI; CHEN, 2015).

3 METODOLOGIA

3.1 Material

Para o desenvolvimento da Kombucha, foram utilizados os ingredientes chá verde açúcar cristal, obtidos do comércio local, além do SCOBY que foi obtido de fornecedor previamente selecionado. As PANC's utilizadas foram: lírio-do-brejo, hibisco e picão, obtidos de floriculturas locais. Os materiais foram conduzidos até o laboratório de Desenvolvimento Tecnológico e Inovação, situado na Universidade Federal do Pampa – Campus Bagé, onde foram armazenados, sendo as flores selecionadas, higienizadas e congeladas.

3.2 Métodos

3.2.1 Caracterização bioativa das PANC's

Após a seleção e higienização das flores (solução clorada 100ppm por 15 min), as flores foram submetidas ao processo de liofilização. Para isso, foram congeladas e liofilizadas por 48 horas, em liofilizador marca Liotop, modelo L101, com temperatura de trabalho de - 55°C. Após, foram armazenadas em atmosfera modificada, em embalagem a vácuo.

3.2.1.1 Fenóis totais

A metodologia utilizada foi a de Singleton e Rossi (1965) na qual realizou-se primeiramente um método de extração no qual foi pesado 2 g de amostra, diluindo-se com 20 mL de metanol. Colocar-se-á em um banho termostático a 25°C, durante 3 horas, filtrando-se o material resultante com algodão para um balão volumétrico de 50 mL, com volume completado com metanol.

Após foi realizado o procedimento de quantificação de fenóis totais através de uma reação colorimétrica tomando 1 mL de extrato, adicionando-se 10 mL de água e 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu, deixando reagir por 3 minutos, adicionando-se 1,5 mL de carbonato de sódio 20% e com tempo de reação de 2 horas. Foi realizada a leitura de

absorbância da amostra em espectrofotômetro utilizando comprimento de onda de 765 nm, calibrando o equipamento com metanol. O teor de fenóis totais foi obtido através de curva-padrão expressa pela equação 3.

$$y = 0,0085x + 0,025 \quad R^2 = 0,9926 \quad (1)$$

3.2.1.2 Antocianinas totais

O cálculo da concentração total de antocianinas foi baseado na Lei de Beer (Equação 4), e os resultados foram expressos em mg de cianidina 3-glicosídeo por 100 gramas de planta fresca. Inicialmente foi pesado 1g de amostra e adicionado 25mL de etanol acidificado com ácido clorídrico até pH 1,0, homogeneizando-se a amostra a cada 5 min por 1 hora. Após foi filtrado o resíduo completamente com etanol em balão volumétrico de 50mL e lendo-se a absorbância em espectrofotômetro a 520nm, usando etanol para calibrar o equipamento.

$$A = \varepsilon \cdot C \cdot l \quad (2)$$

Sendo que A é a absorbância, ε o coeficiente de absorção molar, C a concentração mol/L e l o caminho óptico em cm.

3.2.1.3 Carotenoides totais

A metodologia utilizada para determinação de carotenoides totais foi a proposta por Rodrigues-Amaya (1999) na qual foi pesado 2g de amostra e adiciona-se de 20 mL de acetona pura, com agitação durante 10 min. Após o material foi filtrado em funil de Büchner com papel filtro, lavando a amostra com acetona até que o extrato fique incolor.

A seguir o extrato foi transferido para um funil de separação, acrescentando-se 30 mL de éter de petróleo e 30 mL de água destilada, onde ocorreu a separação de fases devendo ser descartada a fase inferior, lavando-se com água destilada a porção inferior, prosseguindo a lavagem com água destilada até remoção total da acetona.

O extrato superior foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com éter de petróleo e lendo-se a absorbância em espectrofotômetro a 450 nm,

utilizando éter de petróleo como branco analítico. O teor de carotenoides totais foi obtido através da equação 5.

$$CT = \frac{A_{470} \cdot 50 \cdot (10^6)}{2500 \cdot 100 \cdot m} \quad (3)$$

Sendo: CT teor de carotenoides totais, A_{470} a absorvância no comprimento de onda de 470 nm, 50 a medida de mL utilizada e m a massa de amostra.

3.2.1.4 Atividade Antioxidante

A capacidade antioxidante foi determinada através da capacidade dos compostos presentes nas amostras em sequestrar o radical estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), segundo método descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berser (1995). Para a extração dos compostos com atividade antioxidante, pesou-se 2g da amostra em um tubo Falcon de 50mL, e diluiu-se com 20 mL de metanol. Homogeneiza-se a solução com auxílio de um Ultra-Turrax até consistência uniforme. Após, armazena-se por 24 h em temperaturas de 3 a 4°C, seguido de centrifugação por 15 minutos.

A reação foi realizada em tubos revestidos com papel alumínio, adicionados 100µL de Kombucha e 3,9mL de solução-uso de DPPH, com a finalidade de completar o volume final de 4,0 mL. Devendo-se realizar o mesmo procedimento para obtenção do branco analítico que neste caso será adicionando-se 100µL de metanol em conjunto com 3,9 mL de solução-uso de DPPH. Deixou-se a mistura no escuro durante 60 min e após foi realizada a leitura a 517 nm em espectrofotômetro calibrado com metanol. O resultado foi expresso em percentual de inibição de acordo com a Equação 2.

$$\%Inibição = \frac{A_{branco} - A_{amostra}}{A_{branco}} \quad (4)$$

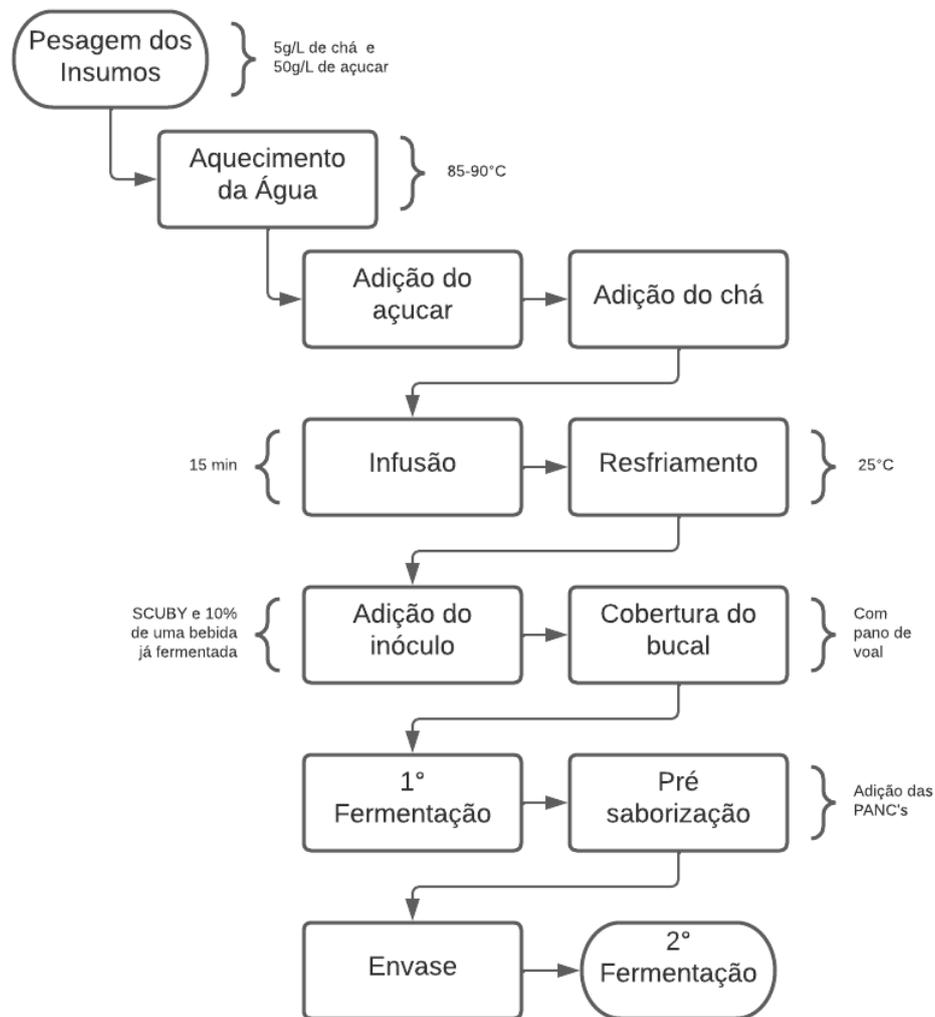
Onde o A_{branco} é a leitura em absorvância no espectrofotômetro apenas com metanol e $A_{amostra}$ a absorvância da amostra.

3.2.2 Elaboração da kombucha

O processo de elaboração da Kombucha, como está descrito na Figura 5, se dá pela fermentação de chá açucarado com uma simbiose de espécies de leveduras, fungos e bactérias produtoras de ácido acético à temperatura ambiente. O processo começa com a fervura da água (1 litro) filtrada, sendo logo após adicionado açúcar cristal (50g) e o chá verde (5g). Logo após 15 min, a mistura deverá ser filtrada, e quando a mesma atingir a temperatura ambiente (em torno de 25 °C) adiciona-se o disco de SCOBY e 20% da bebida já fermentada (conhecida como chá de arranque). Esse preparo deve ocorrer em recipiente higienizado, preferencialmente de vidro, sendo logo após coberto com tecido ou papel toalha, não impedindo a troca gasosa e ao mesmo tempo, não possibilitando a entrada de sujidades. Essa etapa da fermentação dura de 7 a 10 dias sendo que quanto mais tempo fermentando, maior a formação de ácido acético do produto final.

Após essa etapa da fermentação, pode-se realizar uma segunda fermentação de 2 a 3 dias em recipiente fechado para produção de gás carbônico sendo opcionalmente, adicionado de frutas e/ou ervas como saborizantes. Quanto maior a quantidade de açúcar adicionado, maior será seu teor de carbonatação. Depois de pronta, a Kombucha poderá ser acondicionada em ambiente refrigerado, melhorando seu aspecto sensorial e diminuindo a velocidade de sua fermentação com a redução da temperatura (PALUDO, 2017).

Figura 3 - Fluxograma de elaboração da Kombucha



Fonte: Autor (2022)

3.2.3 Delineamento experimental

Para a realização do experimento foi utilizado delineamento experimental completamente casualizado com três repetições, em esquema unifatorial, onde o Fator único consistirá em quatro níveis representado pelas diferentes formulações com uma kombucha tradicional (T1), uma adicionada da PANC Lírio-do-Brejo (T2), uma adicionada da PANC hibisco (T3) e outra adicionada da PANC Picão (T4), conforme Tabela 1.

Tabela 1 - Delineamento Experimental

Tratamentos	Variáveis independentes	Variáveis dependentes
	PANC's	

T1	Tradicional: sem adição de PANC's	Acidez total titulável pH
T2	Lírio-do-brejo	Teor alcoólico Sólidos Solúveis
T3	Hibisco	Atividade antioxidante Fenóis Totais
T4	Picão	Carotenoides totais

Fonte: Autor (2022)

T1 = Tradicional: sem adição de PANC's; T2, T3 e T4= 5g/L

3.2.3 pH

Foi realizado por pHmetro previamente calibrado com soluções tampão (pH 4 e 7).

3.2.4 Teor Alcoólico

O teor alcoólico foi determinado por método densimétrico segundo NBR 5992 da ABNT, através de um alcoômetro centesimal (Alcoômetro de Gay Lussac) que se destina à determinação do grau alcoólico ou da força real das misturas de água e álcool, indicando somente a concentração do álcool em volume. As determinações do alcoômetro são exatas somente para esta mistura, à temperatura de 20 °C, na qual o instrumento foi graduado. Ainda de acordo com a legislação MAPA, a kombucha será classificada como bebida alcoólica quando seu teor alcoólico for maior que 0,5% v/v e menor que 1,5 % v/v.

3.2.5 Acidez total titulável

Foi realizado por titulação com hidróxido de sódio 0,1N, até o ponto de viragem com o indicador fenolftaleína, conforme método Instituto Adolfo Lutz, 1985, sendo calculado de acordo com a Equação 5.

$$\% \text{ de acidez} = \frac{v \times f \times M \times 100}{P} \quad (5)$$

Onde v: n° de mL da solução de hidróxido de sódio gasto na titulação, f :fator de correção da solução de hidróxido de sódio, P :massa da amostra em g ou volume pipetado em mL, M :molaridade da solução de hidróxido de sódio.

3.2.6 Sólidos solúveis

Para determinação dos sólidos solúveis foi realizada leitura através de refratômetro manual, com leitura a 20°C em escala Brix.

3.2.7 Atividade antioxidante

As análises da atividade antioxidante da kombucha foram realizadas conforme descrito no item 3.2.1.4.

3.2.8 Fenóis totais

As análises de fenóis totais da kombucha foram realizadas conforme descrito no item 3.2.1.1.

3.2.9 Carotenoides totais

As análises de carotenoides totais da kombucha foram realizadas conforme descrito no item 3.2.1.3.

3.2.10 Antocianinas totais

As análises de antocianinas totais da kombucha foram realizadas conforme descrito no item 3.2.1.2.

3.2.11 Estatística

Os resultados obtidos foram expressos em médias e desvio padrão referentes às determinações realizadas em triplicata. Com a utilização de programa estatístico foram realizados: análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias (Tukey) ao nível de significância de 5%.

4 APRESENTAÇÃO DA PESQUISA E ANÁLISE DOS RESULTADOS

4.1 Caracterização bioativa das PANC's

A partir da Tabela 2, podem-se observar os resultados obtidos para a caracterização bioativa das PANC's, onde todas foram obtidas em base seca.

Tabela 2 - Caracterização das plantas secas

Determinação	Hibisco	Picão	Lírio do Brejo
Atividade antioxidante (% Inibição)	86,73 ^b ± 0,79	90,22 ^a ± 0,6	76,38 ^c ± 6,27
Carotenoides totais (µg de β-caroteno.g ⁻¹)	235,76 ^c ± 7,56	1093,43 ^a ± 7,38	613,10 ^b ± 28,33

Fenóis (mg de ácido gálico.100g⁻¹)	1925,5 ^a ± 84,85	1617,43 ^b ± 70,15	844,88 ^c ± 64,49
Antocianinas (mg de cianidina 3 glicosídeo.100g⁻¹)	261,03 ^b ± 1,69	445,55 ^a ± 8,61	142,54 ^c ± 1,38

Fonte: Autor (2022)

Onde ^{a,b,c} são letras distintas sobrescritas na mesma linha que diferiram estatisticamente pelo Teste de Tukey (p=0,05).

As PANC's obtiveram um elevado percentual de atividade antioxidante, demonstrando 86,73% de inibição para o hibisco, 90,22% de inibição para o picão e 76,38% de inibição para o lírio do brejo, ou seja, as plantas apresentam a existência de compostos com distintos potenciais antioxidantes, que combatem a ação oxidante de radicais livres, atrasando ou inibindo-os. Dentre estes compostos, as PANC's apresentam carotenoides e compostos fenólicos. Dentre os compostos avaliados, observou-se o maior resultado para o picão, para carotenoides e antocianinas, corroborando com o alto potencial antioxidante encontrado para esta PANC's

Os teores de carotenoides encontrados para as PANC's foram de 235,76; 1093,43; e 613,10 µg de β-caroteno.g⁻¹ para o hibisco, o picão e o lírio do brejo, respectivamente e quando comparado ao Almeida (2018), observa-se valores bem mais elevados, visto que o autor encontrou 21,90 µg de β-caroteno.g⁻¹ em hibisco. Observa-se, também, que o resultado encontrado para o picão, foi 78,43% e 43,92% maior do que o encontrado para o hibisco e o lírio do brejo, podendo ser em função da coloração dos mesmos, visto que os carotenoides possuem cores que variam da cor amarela ao vermelho e também podem ser considerados pigmentos associados as clorofilas, de cor verde.

Para os compostos fenólicos, o hibisco apresentou um teor de 1925,5 mg de ácido gálico.100g⁻¹. Teores superiores aos determinados por Vizzoto et al. (2009) em trabalho no qual os compostos fenólicos totais foram analisados por metodologia semelhante à do presente estudo, utilizando o reagente Folin Ciocalteu, cujo teor foi 478,7 expressos em mg do equivalente Ácido Clorogênico. 100g⁻¹, com hibisco in natura. Já as PANC's picão e lírio do brejo apresentaram teores de 1617,43 e 844,88 mg.100g⁻¹, respectivamente, valores semelhantes ao do hibisco, porém a planta lírio do brejo apresentou um baixo valor comparado às demais. Contudo, as plantas apresentaram um alto teor de fenóis, tornando-se

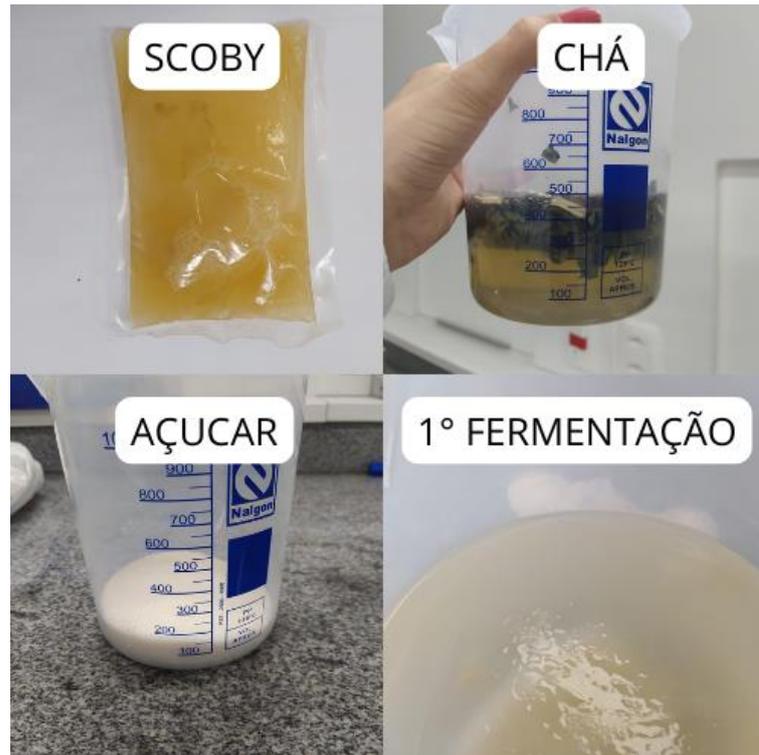
uma alternativa viável para ser aplicada na bebida kombucha, uma vez que proporcionam benefícios à saúde a presença destes compostos.

O teor de antocianinas do hibisco é considerado alto (Tabela 2), sendo superior aos encontrados no suco da romã e no mirtilo (teor de $113,55 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) (PEREIRA *et al.*, 2008; SELLAPPAN *et al.*, 2002). A comparação do hibisco com mirtilo é relevante, pois este é reconhecido como uma das principais fontes de antocianinas. Sendo assim, o hibisco proporciona novas alternativas de consumo deste flavonoide que é considerado tão importante para a saúde. Já as PANC's picão e lírio do brejo apresentaram teor de $445,55 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ e $142,54 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, respectivamente.

4.2 Elaboração da kombucha

Após a caracterização biotiva das PANC's, foi possível a elaboração das bebidas (Figura 4) kombuchas, que foi efetuado em recipiente higienizado, sendo logo após coberto com tecido ou papel toalha, não impedindo a troca gasosa e ao mesmo tempo, não possibilitando a entrada de sujidades. Essa etapa da primeira fermentação durou 7 dias.

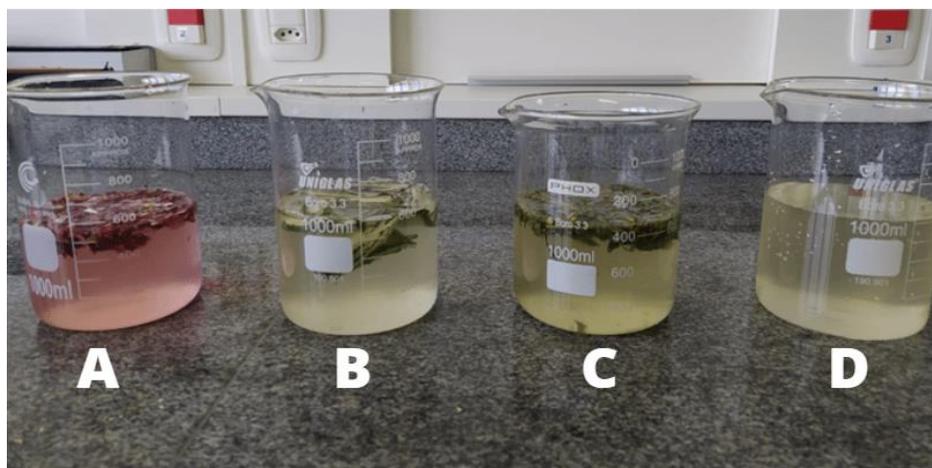
Figura 4 - Elaboração da kombucha



Fonte: Autor (2022)

Após a etapa da primeira fermentação foi feita uma pré-saborização (Figura 5) com as PANC's selecionadas. Sendo que para 600 mL de kombucha foi feita uma infusão com 2,5g de cada PANC, resultando em uma kombucha saborizada com hibisco, uma kombucha saborizada com picão, uma kombucha saborizada com lírio do brejo e por fim uma kombucha tradicional, sem adição de plantas. Sendo que as plantas ficaram por infusão por 6 horas em temperatura de 4°C. Onde A é a kombucha pré saborizada com hibisco, B é a kombucha pré saborizada com picão, C a kombucha pré saborizada com lírio do brejo e D a kombucha tradicional.

Figura 5 - Pré saborização



Fonte: Autor (2022)

Após a etapa da pré-saborização, realizou-se uma segunda fermentação com temperatura de 25°C (armazenou-se na BOD) por 5 dias em recipiente fechado (Figura 6). Depois de pronta, a Kombucha foi acondicionada em ambiente refrigerado de 4°C, melhorando seu aspecto sensorial e diminuindo a velocidade de sua fermentação com a redução da temperatura, nota-se essa diminuição pela afeição do pH que não alterou.

Figura 6 - Segunda fermentação



Fonte: Autor (2022)

Com a elaboração das kombuchas, obtiveram-se bebidas gaseificadas de diferentes colorações e sabores (Figura 7).

Figura 7 - Gaseificação e coloração das kombuchas



Fonte: Autora (2022)

4.3 Caracterização bioativa das kombuchas

A partir da Tabela 3, podem-se observar os resultados obtidos para a caracterização bioativa das kombuchas.

Tabela 3 - Caracterização das kombuchas

Determinação	Hibisco	Picão	Lírio do Brejo	Tradicional
Atividade antioxidante (% Inibição)	18,90 ^a ± 1,33	16,22 ^a ± 0,89	15,50 ^a ± 1,68	17,92 ^a ± 1,66
Carotenoides totais (µg de β-caroteno.g⁻¹)	0,59 ^a ± 0,04	0,59 ^a ± 0,05	0,47 ^b ± 0,02	0,47 ^b ± 0,02
Fenóis (mg de ácido gálico.100g⁻¹)	42,06 ^a ± 4,1	31,78 ^b ± 2,17	28,59 ^b ± 4,2	24,17 ^b ± 1,52
Antocianinas (mg de cianidina 3 glicosideo.100g⁻¹)	6,49 ^a ± 0,94	4,23 ^b ± 0,75	2,86 ^c ± 0,31	2,43 ^c ± 0,47

Fonte: Autor (2022)

Onde, ^{a,b,c} são letras distintas sobrescritas na mesma linha que diferiram estatisticamente pelo Teste de Tukey (p=0,05).

Quanto à atividade antioxidante da kombucha, nenhuma teve diferença estatística entre si, diferente do que ocorreu com a caracterização das PANC's (Tabela 2), onde todas diferiram. Estas alterações podem estar relacionadas às interações dos compostos que possuem potencial antioxidantes das flores e com os ingredientes do chá.

Pode-se comparar também a atividade antioxidante com o tempo de fermentação, de acordo com estudo de Dada et al (2021), que deixou a kombucha fermentando 18 dias, obteve-se 51% de inibição de radicais livres somente no chá da primeira fermentação. Enquanto no presente estudo a primeira fermentação aconteceu em 7 dias.

Referente aos carotenoides, as formulações de Hibisco e Picão apresentaram valores mais elevados e sem diferença estatística entre si, quando comparadas à adicionada de Lírio do Brejo e a Tradicional. Segundo Piovesana (2016), a espécie *Hibiscus sabdariffa*, L. contém concentrações relevantes de carotenoides. Os carotenoides são responsáveis pelas cores de muitas hortaliças e frutas, estas cores são uma consequência da presença de ligações duplas conjugadas, o que também lhe conferem propriedades antioxidantes (RODRIGUEZ-AMAYA

et al., 2008; STRATI; OREOPOULOU, 2011). Esses compostos são conhecidos por suas propriedades antioxidantes, protegendo as células de danos oxidativos provocados por radicais livres e ERO (SHAMI; MOREIRA, 2004).

Em relação aos compostos fenólicos, diferente do que foi observado no conteúdo de carotenoides, a formulação que apresentou o valor mais elevado, foi apenas a adicionada de hibisco, apresentando o maior conteúdo de compostos fenólicos, sendo que as demais não diferiram entre si. O chá verde é um dos principais responsáveis pela quantidade de compostos fenólicos na kombucha, por conta disso a kombucha tradicional, que não possui adição de PANC's, também apresentou resultado relevante, visto que não diferiu das que foram adicionadas de lírio do brejo e picão. O conteúdo encontrado por autores como Januário et al. (2020), foram de 20,33 mg EAG/g-1, similar ao encontrado neste estudo para a kombucha tradicional. No estudo de Santos et al. (2019), a bebida produzida com Hibisco apresentou 1,30 mg.100g-1 de compostos fenólicos, e a bebida tradicional apresentou 3,91 mg.100g-1 de compostos fenólicos, valores estes inferiores aos encontrados. Os compostos fenólicos apresentam benefícios para a saúde, sendo que quando inserida na alimentação é rica em compostos bioativos.

Referente às antocianinas, as formulações Lírio do Brejo e Tradicional não apresentaram diferença estatística entre si, tendo os menores resultados para esta avaliação. A kombucha de hibisco apresentou maior concentração (6,49 mg.100g⁻¹), como já era esperado, em função da sua coloração avermelhada e também seu alto teor de antocianina na planta em base seca (261,03 mg.100g⁻¹). Santos et al. (2019), determinaram 5,48 mg.100g⁻¹ para kombucha feita com hibisco, determinando semelhança com a kombucha do presente trabalho, porém inferior, isso pode estar relacionado com o tempo de fermentação que foi de 6 dias.

Na caracterização das plantas, o picão foi a planta que mais apresentou potencial antioxidante, diferente do que aconteceu na caracterização das bebidas, onde o hibisco foi a bebida com maior potencial antioxidante. Essa diferença ocorreu por que a planta hibisco é uma planta hidrossolúvel, ou seja, contem substâncias que são mais facilmente permeáveis em membranas celulares, já a planta picão é uma planta lipossolúvel.

Ainda que existem diversas opiniões sobre a origem da capacidade antioxidante da kombucha, comprova-se a sua presença, sendo que conforme suas inúmeras propriedades antioxidantes e bioativas, é considerada um alimento com propriedades benéficas à saúde, sendo que seus efeitos vêm sendo aprimorados por diversas pesquisas (JAYABALAN et al., 2014).

4.4 Caracterização físico-química das kombuchas

Os resultados obtidos da caracterização físico-química das bebidas desenvolvidas, estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Caracterização físico-química as kombuchas

Parâmetros	Hibisco	Picão	Lírio do Brejo	Tradicional
pH	2,64	3,53	3,32	3,08
Sólidos solúveis totais (°Brix)	3,5	3,5	3	4
Acidez titulável (%)	5,22	4,55	3,47	3,03
Teor alcoólico (%)	0,0	0,0	0,0	0,0

Fonte: Autora (2022)

O valor do pH da kombucha diminui por decorrência do aumento da concentração de ácidos orgânicos durante o processo de fermentação. O caldo fermentativo apresenta capacidade tampão, devido à liberação do dióxido de carbono durante o processo fermentativo (SREERAMULU *et al.*, 2000). Sendo que o teor de chá utilizado e o tempo de fermentação são os parâmetros mais determinantes para a composição da bebida e suas características, onde a variação desses parâmetros altera a quantificação dos componentes na bebida final (JAYABALAN *et al.*, 2007; JAYABALAN *et al.*, 2014). Segundo a Instrução Normativa Nº 41, de 17 de setembro de 2019, um dos parâmetros analíticos é o pH, que deve ser maior que 2,5 e menor que 4,2, com isso observa-se através da Tabela que todas as formulações de kombuchas encontram-se dentro do que é preconizado pela legislação para este parâmetro.

O comportamento dos parâmetros no processo de fermentação das bebidas coincidiu com outros estudos, onde durante os 7 dias de fermentação houve o aumento da acidez e, portanto, a diminuição do pH e do SST. Pode-se observar que a concentração de sólidos solúveis se revelou inferior quando comparada à de Dada *et al.*, 2021, devido ao maior tempo de fermentação e possivelmente devido à presença de um grande número de ácidos orgânicos.

Verificou-se uma diferença na acidez titulável da bebida adicionada de hibisco para as demais bebidas, sendo que a concentração de ácidos é de 5,22%, isso se dá devido ao pH inferior (2,64) em relação às demais kombuchas. Mostrando relação inversamente proporcional entre pH e acidez, conforme esperado.

O teor de sólidos solúveis, expressos em °Brix apresentou valores semelhantes, pois a quantidade de açúcar adicionado no chá foi a mesma para todas as amostras. Sua explicação é baseada na concentração de açúcares traduzindo bem a percepção do sabor e sendo fáceis de medir. Onde a redução no teor de água é acompanhada pela maior concentração de açúcares, em consequência, maior concentração também de sólidos solúveis totais (SANTOS, 2013).

Quanto ao teor de álcool nas kombuchas, todas as formulações apresentaram 0,0 %. Segundo a Instrução Normativa Nº 41, de 17 de setembro de 2019, onde um dos parâmetros analíticos é o teor alcoólico, sendo que para a kombucha ser considerada alcoólica é necessário ter um teor de álcool acima de 0,5%.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da caracterização das PANC's, pode-se concluir que as mesmas são uma opção com grande potencial benéfico quando adicionadas as bebidas kombuchas. Para atividade antioxidante das PANC's hibisco, picão e lírio do brejo foram encontrados 86,73%, 90,22% e 76,38% de inibição, respectivamente, apresentando alto percentual de inibição de radicais livres. Sendo que o maior percentual encontrado foi o da PANC picão. Para os carotenoides das PANC's hibisco, picão e lírio do brejo foram encontrados 235,76 μg de β -caroteno. g^{-1} , 1093,43 μg de β -caroteno. g^{-1} e 613,10 μg de β -caroteno. g^{-1} , respectivamente. Sendo que a maior concentração de carotenoides encontrado foi da PANC picão. Para os compostos fenólicos das PANC's hibisco, picão e lírio do brejo foram encontrados 1925,5 mg de ácido gálico. 100g^{-1} , 1617,43 μg de β -caroteno. g^{-1} e 844,88 mg de ácido gálico. 100g^{-1} , respectivamente. As PANC's apresentaram um alto teor de fenóis, tornando-se uma alternativa viável para ser aplicada na bebida kombucha. Para as antocianinas das PANC's hibisco, picão e lírio do brejo foram encontrados 261,03 mg de cianidina 3 glicosideo. 100g^{-1} , 445,55 de cianidina 3 glicosideo. 100g^{-1} e 142,54 mg de cianidina 3 glicosideo. 100g^{-1} , respectivamente. Sendo que houve maior presença de antocianinas na PANC picão. Dentre os compostos avaliados, observou-se o maior resultado para o picão, para carotenoides e antocianinas, corroborando com o alto potencial antioxidante encontrado para esta PANC's.

Para a elaboração de kombuchas saborizadas com diferentes PANC's (hibisco, picão e lírio do brejo) e uma tradicional, fez-se necessário uma primeira fermentação (7 dias a 25°C), uma pré saborização (6 horas a 4°C) e uma segunda fermentação (5 dias à 25°C). Com as bebidas resultantes, foi feita caracterização bioativa. Para atividade antioxidante das kombuchas com hibisco, picão, lírio do brejo e tradicional foram encontrados 18,90 %, 16,22 %, 15,50 %, 17,92% de inibição, respectivamente. Sendo que a bebida com hibisco apresentou maior percentual de inibição. Para os carotenoides das kombuchas com hibisco, picão, lírio do brejo e tradicional foram encontrados 0,59 μg de β -caroteno. g^{-1} , 0,59 μg de β -caroteno. g^{-1} , 0,47 μg de β -caroteno. g^{-1} e 0,47 μg de β -caroteno. g^{-1} , respectivamente. As bebidas com maior concentração de carotenoides foram as de hibisco e picão. Para os compostos fenólicos das kombuchas com hibisco, picão, lírio do brejo e tradicional foram encontrados 42,06 mg de ácido gálico. 100g^{-1} , 31,78 μg de β -caroteno. g^{-1} , 28,59 mg de ácido gálico. 100g^{-1} e 24,17 mg de ácido gálico. 100g^{-1} , respectivamente. Sendo que a bebida com maior conteúdo de compostos fenólicos foi a de hibisco. Para as antocianinas das kombuchas com hibisco, picão, lírio do brejo e tradicional foram encontrados 6,49 mg de cianidina 3

glicosido.100g⁻¹, 4,23 de cianidina 3 glicosido.100g⁻¹, 2,86 mg de cianidina 3 glicosido.100g⁻¹ e 2,43 glicosido.100g⁻¹, respectivamente. Resultando em uma maior concentração de antocianinas para bebida com hibisco.

Para caracterização físico-química da kombucha foram analisados pH, sólidos solúveis totais, acidez titulável e teor alcoólico. Em relação ao pH das bebidas, obtiveram-se 2,64 para kombucha de hibisco, 3,53 para kombucha de picão, 3,32 para kombucha de lírio do brejo e 3,08 para kombucha tradicional. Referente aos sólidos solúveis, foram encontrados 3,5 °Brix para kombucha de hibisco, 3,5 °Brix para kombucha de picão, 3 °Brix para kombucha de lírio do brejo e 4 °Brix para kombucha tradicional. Para acidez titulável, obtiveram-se 5,22% para kombucha de hibisco, 4,55% para kombucha de picão, 3,47% para kombucha de lírio do brejo e 3,03% para kombucha tradicional. Para o teor alcoólico, obteve-se 0,0% para kombuchas de hibisco, picão, lírio do brejo e tradicional. Mostrando que todas as análises físico-químicas estão dentro dos parâmetros analíticos exigidos pela Instrução Normativa Nº 41, de 17 de setembro de 2019.

As bebidas analisadas apresentaram características bioativas e físico-químicas compatíveis com as matérias-primas e ingredientes utilizados, tendo em vista que as kombuchas resultantes apresentam ácidos e compostos antioxidantes benéficos à saúde, podendo suprir algumas necessidades nutricionais. Ainda, percebeu-se que a utilização das plantas alimentícias não convencionais possui potencial na produção de bebidas fermentadas.

Visto que as PANC's agregam benefícios nutricionais e possuem potencial antioxidante, é de grande valia dar continuidade aos estudos, visto que as PANC's muitas vezes são descartadas ou passam despercebidas. No entanto, como sugestão a pesquisas futuras, seria de grande importância análises físico-químicas diárias ao decorrer da primeira fermentação da bebida, pois assim seria possível observar de forma mais clara a evolução da kombucha e suas mudanças ao passar dos dias. Como também seria importante analisar a vida útil da bebida, analisando a sua deterioração e a perda de alguns compostos.

REFERÊNCIAS

ADRIANI, L. *et al.* **The effect of feeding fermented kombucha tea on HLD, LDL and total cholesterol levels in the duck bloods.** [s.l.] National Library of Serbia, 2011.

Disponível em:

file:///C:/Users/Win7/Downloads/The_effect_of_feeding_fermented_kombucha_tea_on_HL.pdf. Acesso em: 11 jan. 2022.

BALENTINE, D. A.; WISEMAN, S. A.; BOUWENS, L. C. M. The chemistry of tea flavonoids. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 37, n. 8, p. 693–704, 1997.

Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408399709527797?journalCode=bfsn20>. Acesso em: 20 dez. 2021.

BARROSO, A. B. **Plantas alimentícias não convencionais do Nordeste: uma revisão.**

2021. Trabalho de conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, 2021. Disponível em:

https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/61758/3/2021_tcc_abbarroso.pdf. Acesso em: 11 jan. 2022.

BATTIKH, H.; BAKHROUF, A.; AMMAR, E. Antimicrobial effect of Kombucha analogues. **LWT - Food Science and Technology**, v. 47, p. 71–77, 2012. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643812000023?via%3Dihub>. Acesso em: 28 fev. 2022.

BHATTACHARYA, M. *et al.* The effect of renewable energy consumption on economic growth: Evidence from top 38 countries. **Applied Energy**, v. 162, p. 733–741, 2016.

Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0306261915013318>. Acesso em: 20 jan. 2022.

BORATO, D. G. **Caracterização da atividade gastroprotetora e cicatrizante gástrica da *camellia sinensis(l.) kuntze* em ratas.** [s.l.: s.n.]. Disponível em:

<https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/36807/R%20-%20D%20-%20DEBORA%20GASPARIN%20BORATO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 31 jan. 2022.

BRASIL. **Portaria nº 103, de 20 de setembro de 2018** - Imprensa Nacional Diário Oficial da União, 2018. Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/42823493/do1-2018-09-28-portaria-n-103-de-20-de-setembro-de-2018-42823230. Acesso em: 26 fev. 2022

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSER, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.**, v. 28, p.25-30, 1995.

BROOME, T. **Kombucha: The Tea of Immortality.** Disponível em:

<https://fifthseasongardening.com/kombucha-the-tea-of-immortality>. Acesso em: 28 fev. 2022.

CABRAL, E.; PAULA, S. M. P. **Elaboração de kombuchas artesanais à base de chá verde: análise físico-química e microbiológica.** 2021. Trabalho de Conclusão de Curso

(Graduação em Nutrição) – Faculdade Pernambucana de Saúde, 2021. Disponível em: <https://tcc.fps.edu.br/handle/fpsrepo/1069>. Acesso em: 1 fev. 2022.

CABRERA, C. et al. Beneficial effects of green tea—a review. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 25, n. 2, p. 79–99, 2006. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07315724.2006.10719518>. Acesso em: 1 fev. 2022.

CAMPOS, I. C. A. **Quantificação de nitrogênio total e proteína bruta nos ramos e folhas da ora-pro-nóbis (pereskia aculeata miller) submetidos a diferentes temperaturas de secagem isabela cândida araujo campos morrinhos-go.** 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Instituto Federal Goiano, Morrinhos, 2021. Disponível em: https://repositorio.ifgoiano.edu.br/bitstream/prefix/1810/1/TCC_ISABELACAMPOS.pdf. Acesso em: 28 fev. 2022.

CHRISTENSEN, E. How To Make Your Own Kombucha Scoby. 2019. **Thekitchn**. Disponível em: <https://www.thekitchn.com/how-to-make-your-own-kombucha-scoby-cooking-lessons-from-the-kitchn-202596>. Acesso em: 28 fev. 2022.

DADA, Ana Paula et al. Caracterização de kombucha elaborado a partir de chá verde. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, e576101522992, 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/download/22992/20592/280817>. Acesso em: 19 jul. 2022.

DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO. Brasília, 18 set. 2019. Disponível em: <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=18/09/2019&jornal=515&pagina=13>. Acesso em: 05 ago. 2022.

DUFRESNE, C.; FARNWORTH, E. Tea, Kombucha, and health: a review. **Food Research International**, v. 33, p. 409–421, 2000. Disponível em <https://www.aprovital.ch/image/catalog/TeaKombuchaHealthReview-1999%20.pdf>. Acesso em: 15 dez. 2021.

FERNANDES, A. **Potencial nutritivo e terapêutico de plantas alimentícias não convencionais (pancs): uma revisão de literatura.** p. 1-24, 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Centro Universitário de Maringá (UNICESUMAR), Centro de Ciências Biológicas e Saúde, Maringá, 2019. Disponível em <https://rdu.unicesumar.edu.br/bitstream/123456789/5205/1/TRABALHO%20DE%20CONCLUS%C3%83O%20DE%20CURSO.pdf>. Acesso em: 13 fev. 2022.

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. Disponível em: http://meridian.allenpress.com/jfp/article-pdf/63/7/976/1671742/0362-028x-63_7_976.pdf. Acesso em: 1 fev. 2022.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos.** 3 ed. São Paulo, 1985, v. 1, 533p.

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. 538–550, 2014. DOI: 10.1111/1541-4337.12073.

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. Disponível em: <https://research.kombuchabrewers.org/wp-content/uploads/kk-research-files/changes-in-content-of-organic-acids-and-tea-polyphenols-during-kombucha-tea-fermentation.pdf>. Acesso em: 13 fev. 2022.

KAYISOGLU, S.; COSKUN, F. Determination of physical and chemical properties of kombucha teas prepared with different herbal teas. **Food Science and Technology (Brazil)**, v. 41, p. 393–397, 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/cyBffgtmqR6nRDMhkKKDjBD/>. Acesso em: 6 jan. 2022.

KELEN, M. E. B. *et al.* **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANCs) hortaliças espontâneas e nativas**. v. 1, p. 1-45, 2015. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/viveiroscomunitarios/wp-content/uploads/2015/11/Cartilha-15.11-online.pdf>. Acesso em: 1 fev. 2022.

LIU, C.; HSU, W.; LEE, F. The isolation and identification of microbes from a fermented tea beverage, Haipao, and their interactions during Haipao fermentation. **Elsevier**, v. 11, n. 407-415, 1996. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002096900477>. Acesso em: 13 fev. 2022.

MAYSER, P. *et al.* The yeast spectrum of the ‘tea fungus Kombucha’: Das Hefespektrum des ‘Teepilzes Kombucha.’ **Mycoses**, v. 38, n. 7–8, p. 289–295, 1995. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1439-0507.1995.tb00410.x>. Acesso em: 10 fev. 2022.

MEDEIROS, S. C. G.; CECHINEL-ZANCHETTI, C. C. Kombucha: efeitos in vitro e in vivo. **Infarma - Ciências Farmacêuticas**. v. 31, n. 2, p. 73-79, 2019. Disponível em: <http://revistas.cff.org.br/?journal=infarma&page=article&op=view&path%5B%5D=2414&path%5B%5D=pdf>. Acesso em: 12 fev. 2022.

MERTZ, C. *et al.* Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, n. 5, p. 381–387, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0889157508001361>. Acesso em: 17 fev. 2022.

MOUSAVI, S. *et al.* **Recent progress in chemical composition, production, and pharmaceutical effects of kombucha beverage: a complementary and alternative medicine. Copyright**. V. 2020, p. 1-14, 2020. Disponível em: https://pdfs.semanticscholar.org/2342/8316bb9a53869a61e61b29c267b72cd279c0.pdf?_ga=2.229332316.131501845.1647904017-962503116.1647904017. Acesso em: 17 fev. 2021.

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, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643815300323>. Acesso em: 17 fev. 2021.

OLIVEIRA, J. L. DE; ALMEIDA, C. DE; BOMFIM, N. DA S. A importância do uso de probióticos na saúde humana. **Unoesc & Ciência - ACBS**, v. 8, n. 1, p. 7–12, 2017. Disponível em: <https://portalperiodicos.unoesc.edu.br/acbs/article/view/12491/pdf>. Acesso em: 13 fev. 2021.

PALUDO, N. **Desenvolvimento e caracterização de kombucha obtida a partir de chá verde e extrato de erva-mate: processo artesanal e escala laboratorial**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, 2017. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/174899/001061869.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 9 jan. 2022.

PASCHOAL, V.; GOUVEIA, I.; SOUZA, N. DOS S. Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANCs): o potencial da biodiversidade brasileira. **Revista Brasileira de Nutrição Funcional**, p. 302–323, 2015. Disponível em: <https://www.vponline.com.br/portal/noticia/pdf/69c8eaa376fdded1bf13a053e868facf0.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2021.

PEREIRA, M. C.; CASTILHO, P. M.; COUTO, M.; VIZZOTTO, M. Teores de compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante em diferentes partes da romã (*Punica granatum* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 21.; SEMINÁRIO LATINO AMERICANO E DO CARIBE DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS, 15., 2008, Belo Horizonte. Ciência e inovação para o desenvolvimento sustentável. Belo Horizonte: SBCTA, 2008. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/746202/1/OPB1958.pdf>. Acesso em: 11 jul. 2022.

PIOVESANA, A. **Extração, identificação, quantificação e microencapsulamento por atomização e liofilização de compostos bioativos dos cálices de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.)**. Dissertação (Mestrado em Ciências e tecnologia dos Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. 2016. 128f. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/151290>. Acesso em: 11 jul. 2022.

RANIERI, G. R. et al. **Guia Prático de PANC Plantas Alimentícias Não Convencionais**. Instituto Kairós ed. v. 01, p. 7-71, 2017. Disponível em: <https://institutokairos.net/wp-content/uploads/2017/08/Cartilha-Guia-Pr%C3%A1tico-de-PANC-Plantas-Aliment%C3%A1cias-Nao-Convencionais.pdf>. Acesso em: 12 fev. 2021.

RODRIGUES-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoids analysis in foods**. ILSI Press: Washington, 1999. 64p. Disponível em: <http://beauty-review.nl/wp-content/uploads/2014/11/A-guide-to-carotenoid-analysis-in-foods.pdf>. Acesso em: 22 fev. 2021.

SANTOS JÚNIOR, R. J. et al. Antimicrobial Activity of Broth Fermented with Kombucha Colonies. **Journal of Microbial & Biochemical Technology**, v. 01, n. 01, p. 072–078, 2009.

Disponível em: <https://www.kombuchakamp.com/wp-content/uploads/2012/08/Antimicrobial-Activity-of-Broth-Fermented-with-Kombucha-Colonies-Rodrigo-Jose-Santos-Junior.pdf>. Acesso em: 25 jan. 2021.

SANTOS, M. J. DOS S. **Kombucha: Caracterização da Microbiota e Desenvolvimento de Novos Produtos Alimentares Para Uso em Restauração**. Lisboa, Portugal. Revista Brasileira de Agrotecnologia. v. 8, n. 3, p. 32-37, 2016 Disponível em: https://run.unl.pt/bitstream/10362/19346/1/Santos_2016.pdf. Acesso em: 27 fev. 2021.

SANTOS, B. S.; BARRETTO, L.C.O; SANTOS, J. A.B; SILVA, G.F. Obtention, freeze-drying and characterization of lemon grass (*cymbopogon citratus* d.c.) And hibiscus (*Hibiscus sabdariffa* L.) **Extracts**. *Revista GEINTEC – ISSN: 2237-0722*. São Cristóvão/SE – 2013. Disponível em: <http://revistageintec.net/wp-content/uploads/2022/03/p-090-099.pdf>. Acesso em: 27 fev. 2021.

SANTOS, Y. M. A. et al. Desenvolvimento e caracterização de kombucha a base de diferentes chás e adoçados com açúcar demerara. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, v. 13, n. 02, p. 01-08, 2019. Disponível em: <https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RBGA/article/download/6553/6374>. Acesso em: 30 jul. 2021.

SELLAPPAN, S.; AKOH, C. C.; KREWER, G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-Grown blueberries and blackberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, p. 2432-2438, 2002. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/jf011097r>. Acesso em: 11 jul. 2022.

SREERAMULU, G., ZHU, Y., & KNOL, W. (2000). Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48(6), 2589– 2594. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf991333m>. Acesso em: 11 jul. 2022.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista Nutrição**, v. 17, n. 2, p. 227-236, 2004. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rn/a/sJ6qRLvhXvkQR6CjnKgZn7K/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 25 jun. 2021.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagentes. *Amer. J. American Journal of Enology and Viticulture*, v. 16, p. 144-158, 1965.

STRATI, I. F.; OREOPOULOU, V. Process optimisation for recovery of carotenoids from tomato waste. *Food Chemistry*, v. 129, p.747 -752, 2011. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/277087124_Improving_Carotenoid_Extraction_from_Tomato_Waste_by_Pulsed_Electric_Fields . Acesso em: 25 jun. 2021.

SUN, T. Y.; LI, J. S.; CHEN, C. Effects of blending wheatgrass juice on enhancing phenolic compounds and antioxidant activities of traditional kombucha beverage. **Journal of food and drug analysis**, v. 23, n. 4, p. 709–718, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28911487/>. Acesso em: 1 fev. 2021.

UENOJO, M. et al. **Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma.** Quim. Nova. p. 616-622, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/7R78BnnsV5mNPsCjk938LbH/?lang=pt>. Acesso em: 1 fev. 2022.

VITAS, J. et al. The antioxidant activity of kombucha fermented milk products with stinging nettle and winter savory. **Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly**, v. 19, n. 1, p. 129–139, 2013. Disponível em: <http://www.doiserbia.nb.rs/Article.aspx?id=1451-93721200048V>. Acesso em: 15 fev. 2022.

VIZZOTTO, M.; CASTILHO, P. M.; PEREIRA, M. C. Compostos bioativos e atividade antioxidante em cálices de hibisco. Revista Comunicado Técnico, Pelotas, 2009. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/747014/1/comunicado213.pdf>. Acesso em: 11 jul. 2022.

ZHOU, Y. *et al.* A Review of Phytochemistry and Pharmacological Effects. **Hindawi Publishing Corporation: BioMed Research International**. 2015. v. 2015, p. 1-12, 2015. Disponível em: <https://downloads.hindawi.com/journals/bmri/2015/925631.pdf>. Acesso em: 28 fev. 2022.