



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE NUTRIÇÃO

ANA CAROLINA SILVA CRISPINO

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS EM
KOMBUCHAS SABORIZADAS COM FRUTAS AMAZÔNICAS.**

BELÉM
2022

ANA CAROLINA SILVA CRISPINO

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS EM
KOMBUCHAS SABORIZADAS COM FRUTAS AMAZÔNICAS.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Faculdade de Nutrição da Universidade Federal do Pará, como requisito obrigatório para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Johnatt Allan Rocha de Oliveira

BELÉM
2022

ANA CAROLINA SILVA CRISPINO

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS EM
KOMBUCHAS SABORIZADAS COM FRUTAS AMAZÔNICAS.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Faculdade de Nutrição da Universidade Federal do Pará, como requisito obrigatório para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Johnatt Allan Rocha de Oliveira

Aprovada em: 06/07/2022.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Johnatt Allan Rocha de Oliveira
Orientador

Prof. Dr. Luiza Helena da Silva Martins
Membro da Banca

Prof. Roseani da Silva Andrade
Membro da Banca

Dedico este trabalho a Deus e a minha família. A todos os que me ajudaram ao longo desta caminhada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus pelo privilégio de estar viva e de poder ter saúde para executar este trabalho. Agradeço também a minha família, a minha mãe, a meu padrasto, a meu pai, a minha madrasta e a meus irmãos e irmãs por todo apoio e incentivo durante essa caminhada.

Agradeço ao meu namorado Alberto por todo o companheirismo e cumplicidade durante esses anos, e por ter iniciado essa caminhada na nutrição comigo, sou grata por dividirmos essa jornada. Agradeço também aos meus sogros por todo o apoio e pela confiança que eles depositam em mim.

Quero agradecer ao meu orientador pela oportunidade de trabalhar com ele e por topar as nossas loucuras, além de compartilhar as dele também, tenho muita gratidão por todos os trabalhos em parceria com o senhor e por todo o conhecimento compartilhado, o senhor sem dúvidas é uma referência para mim na pesquisa.

Agradeço também a todos os amigos que a faculdade me deu, Elida, Ana Paula, Pedro, Augusto, dentre outros que compartilharam comigo essa jornada de quatro anos. O agradecimento especial é para esses quatro que me ajudaram muito durante a graduação e foram determinantes para eu estar aqui, principalmente a minha dupla Elida, que foi e é incansável comigo, obrigada, mana, por ser a minha parceira em tudo.

E não poderia faltar um agradecimento especial a equipe do laboratório, meus parceiros de pesquisa Gabriela, Lucas, Moises e Jackeline, obrigada pela cumplicidade e por me completarem em vários sentidos, além de me ajudarem durante o desenvolvimento deste trabalho. Obrigada pelas palavras de conforto de todos os dias e por escutarem meus choros e lamentações a cada análise malsucedida.

Por fim, agradeço aos membros da minha banca, a professora Luiza Helena, uma professora e pesquisadora por quem tenho muita admiração, e a professora Roseani Andrade, por todo o conhecimento passado durante a graduação, muito obrigada por aceitarem participar deste momento.

RESUMO

A kombucha é um chá fermentado produzido a partir de chá, açúcar e uma colônia de bactérias e leveduras. Essa bebida pode ser consumida de forma pura ou por meio da sua saborização. Em vista disso, o presente trabalho objetiva elaborar kombuchas saborizadas com frutas amazônicas e analisar a presença de compostos bioativos. Para tanto, foi realizada a caracterização físico-química das três saborizações e da kombucha *in natura*, além da caracterização do processo fermentativo da kombucha *in natura*, da quantificação de etanol e da vitamina C, além da avaliação microbiológica das formulações, tendo ausência de contagem para bactérias patogênicas (coliformes termotolerantes). Além disso, obteve-se quantidades relevantes de compostos bioativos – como exemplo, a saborização com bacuri obteve $307,98 \pm 2,51 \mu\text{mol ET/mL}$ e $38,3 \pm 0,93 \text{ mgEAG/L}$ –, e de vitamina C, tanto nas saborizações ($99,25 \pm 00 \text{ mg/g}$, $165,25 \pm 00 \text{ mg/g}$, $198,25 \pm 00 \text{ mg/g}$), quanto na kombucha *in natura* ($99,25 \pm 00 \text{ mg/g}$). Por fim, todas estavam de acordo com a legislação nacional da ANVISA, mostrando-se aptas ao consumo da população.

Palavras-chave: Kombucha; Atividade Antioxidante; Frutas Amazônicas; Compostos Fenólicos.

ABSTRACT

Kombucha is a fermented tea made from tea, sugar, and a colony of bacteria and yeast. This beverage can be consumed pure or through its flavoring. In view of this, the present work aims to elaborate kombuchas flavored with Amazonian fruits and to analyze the presence of bioactive compounds. For this, the physical-chemical characterization of the three flavorings and of the kombucha *in natura* was carried out, besides the characterization of the fermentative process of the kombucha *in natura*, the quantification of ethanol and vitamin C and the microbiological evaluation of the formulations, with no count for pathogenic bacteria (thermotolerant coliforms). Besides, relevant amounts of bioactive compounds were obtained – as an example, the bacuri flavoring obtained $307.98 \pm 2.51 \mu\text{molET/mL}$ and $38.3 \pm 0.93 \text{ mgEAG/L}$ –, as well as relevant amounts of vitamin C, both in the flavorings ($99.25 \pm 00 \text{ mg/g}$, $165.25 \pm 00 \text{ mg/g}$, $198.25 \pm 00 \text{ mg/g}$) and in the natural kombucha ($99.25 \pm 00 \text{ mg/g}$). Finally, all of them were within the legislation of the Brazilian National Health Surveillance Agency, being suitable for consumption by the population.

Keywords: Kombucha; Antioxidant Activity; Amazonian Fruits; Phenolic Compounds.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – SCOBY.....	14
Figura 2 – Esquema do consumo do açúcar e a produção dos principais ácidos presentes na kombucha.....	16
Figura 3 – Chá verde <i>in natura</i>	17
Figura 4 – Estrutura molecular dos tipos de catequinas presentes no chá verde	17
Figura 5 – Cupuaçu <i>in natura</i>	18
Figura 6 – Polpa do cupuaçu <i>in natura</i>	18
Figura 7 – Bacuri <i>in natura</i>	19
Figura 8 – Taperebá <i>in natura</i>	21
Figura 9 – Reação de redução do DPPH.....	24
Figura 10 – Fluxograma das formulações da calda e dos néctares.....	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulações das kombuchas saborizadas.....	27
Tabela 2 – Caracterização físico-química do produto final da kombucha F1 e saborizações.....	34
Tabela 3 – Caracterização da Vitamina C em todo o processo fermentativo.....	37
Tabela 4 – Quantificação de etanol nas kombuchas.....	38
Tabela 5 – Avaliação microbiológica.....	39

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
2.1	Objetivo geral	13
2.2	Objetivos específicos	13
3	REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1	Kombucha	14
3.1.1	SCOPY	15
3.2	Chá verde	16
3.3	Cupuaçu	18
3.4	Bacuri	19
3.5	Taperebá	20
3.6	Compostos bioativos	21
3.6.1	Carotenoides	22
3.6.2	Compostos fenólicos	22
3.7	Atividade antioxidante (DPPH)	23
3.7.1	DPPH.....	23
4	MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1	Materiais	25
4.2	Preparação do chá	25
4.3	Primeira fermentação	25
4.4	Preparação do néctar das frutas	25
4.4.1	Calda de Cupuaçu	25
4.4.2	Néctar de Bacuri	26
4.4.3	Néctar de Taperebá.....	26
4.5	Segunda fermentação	27

4.6	Caracterização do processo fermentativo da primeira fermentação.....	27
4.7	Caracterização físico-química da kombucha “mãe” e das kombuchas saborizadas ..	27
4.7.1	Determinação de pH	27
4.7.2	Análise de acidez total titulável.....	28
4.7.3	Sólidos solúveis	28
4.7.4	Análise de Açúcares Redutores por DNS.....	28
4.8	Análise de fenólicos.....	29
4.9	Análise de atividade antioxidante (DPPH).....	29
4.10	Vitamina C	29
4.11	Etanol.....	30
4.12	Análises microbiológicas	30
4.12.1	Contagem de mesófilos	30
4.12.2	Coliformes termotolerantes	31
4.12.3	Bolores e leveduras.....	32
5	RESULTADOS E DISCUSÃO	33
5.1	Avaliação do processo fermentativo da kombucha “mãe”	33
5.2	Caracterização do produto final da kombucha “mãe” e das kombuchas saborizadas.	34
5.3	Avaliação microbiológica	39
6	CONCLUSÃO	40
	REFERÊNCIAS	41

1 INTRODUÇÃO

A kombucha é uma bebida de origem asiática que possui como base o chá preto ou o chá verde açucarado. Adiciona-se a eles um biofilme de bactérias e leveduras chamado SCOBY (*Symbiotic Colony of Bacteria and Yeast*), que passa por um processo de fermentação inicial de no mínimo 14 dias. Segundo Dutta e Paul (2019), o consumo em grande escala dessa bebida deve-se à potencialização da atividade antioxidante e dos compostos bioativos presentes no chá após a fermentação, sendo benéfico à saúde. No Brasil, o produto vem sendo comercializado devido a suas propriedades funcionais e devido à procura por uma alimentação saudável.

Esta bebida pertence ao grupo de alimentos probióticos, uma vez que se enquadra na definição da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) de 2018. Possui microrganismos vivos que atuam de forma benéfica à saúde da população, além de estar dentro da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) da ANVISA, número 241 de 27 de julho de 2018. A kombucha possui uma legislação que ampara sua padronização e rotulagem, intitulada “Instrução Normativa, Portaria de nº 41 de 17 de setembro de 2019”, que determina as variáveis a serem analisadas para a comercialização – como pH, teor alcoólico e acidez –, estipulando um padrão de qualidade.

Dessa forma, para se obter uma bebida fermentada de qualidade, a proporção de seus componentes (chá, açúcar e cultura) deve ser bem ajustada. Por isso, destaca-se que a quantidade de açúcar (sacarose) utilizada interfere diretamente na acidez e no pH do produto, uma vez que a variável atua como substrato para geração de dióxido de carbono, etanol e ácidos orgânicos pelos microrganismos (NASCIMENTO; LIMA, 2019).

Além disso, tal bebida tem seus benefícios atrelados aos compostos orgânicos por ela produzidos (MARTÍNEZ LEAL *et al.*, 2018). Isto lhe confere um caráter funcional, pois muitos estudos evidenciam a relação entre uma alimentação saudável e o consumo de seus compostos (como os flavonoides), além de atestar seu papel no combate a doenças crônicas como a obesidade, atuando como modulador da inflamação (DÁRIO PETRY; WESCHENFELDER, 2020).

A escolha de frutas amazônicas para a saborização de kombucha é uma proposta promissora, além de ir ao encontro da necessidade de mais pesquisas sobre a fabricação e sobre seus benefícios, tendo em vista que algumas frutas da região possuem elevada quantidade de vitamina C em sua polpa, agregando mais valor nutricional à bebida (SANTOS *et al.*, 2018).

Diante do exposto, o presente trabalho tem como finalidade o desenvolvimento de kombucha saborizada com frutas amazônicas, além da avaliação dos compostos bioativos presentes

na bebida, a fim de que tal produto seja de grande uso para a população paraense e brasileira, visando à inserção de um alimento probiótico e destacando as frutas regionais, que demandam valorização e reconhecimento pela população, introduzindo a pesquisa sobre o produto na região.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Elaborar kombuchas saborizadas com frutas amazônicas e analisar a presença de compostos bioativos.

2.2 Objetivos específicos

- Desenvolver kombuchas saborizadas com frutas regionais;
- Realizar a caracterização físico-químicas das kombuchas desenvolvidas;
- Avaliar as formulações quanto aos teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante por 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH);
- Realizar a avaliação microbiológica dos produtos finais, a fim de assegurar a não proliferação de microrganismos patogênicos.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Kombucha

A kombucha é uma bebida com interessantes propriedades antioxidantes e compostos bioativos, presente na sociedade há muitos anos e cuja origem acredita-se ser oriunda do sudeste da China (BRUINI, 2019).

A bebida é fabricada a partir da fermentação de chá com açúcar e microrganismos como leveduras e bactérias, tendo como produto final um sabor levemente acidificado e gaseificado. Ela pode ser preparada com vários tipos de chás, sendo os mais usados chá verde e chá preto, devido a seus fatores benéficos para o desenvolvimento da cultura (BORTOLOMEDI; PAGLARINI; BROD, 2022; SANTOS *et al.*, 2018).

A fermentação pode ocorrer em duas etapas, em que o indivíduo pode ingerir a kombucha já após a primeira, *in natura*, ou pode ser consumida após a segunda, em que há um aprisionamento de gás carbônico (CO₂) em um recipiente fechado, ocorrendo a gaseificação da bebida. Nessa etapa, é acrescentado um suco de fruta até cerca de 20 a 25%, ou outros chás e até mesmo especiarias que conferem sabores diferentes e colorações específicas para cada um. Além disso, no processo ocorre a combinação de três fermentações: a láctica, a alcoólica e a acética, produzidas pelas bactérias e leveduras presentes no SCOBY, demonstrado na Figura 1 (ANTOLAK; PIECHOTA; KUCHARSKA, 2021).

Figura 1 - SCOBY.



Fonte: Autora, 2022.

Os ácidos produzidos nessas fermentações são de grande benefício para a saúde dos indivíduos, além de potencializarem sua funcionalidade com o decorrer dos dias de fermentação, transformando-se em um vinagre, que por sua vez é rico em ácidos acéticos (MENDES *et al.*, 2021).

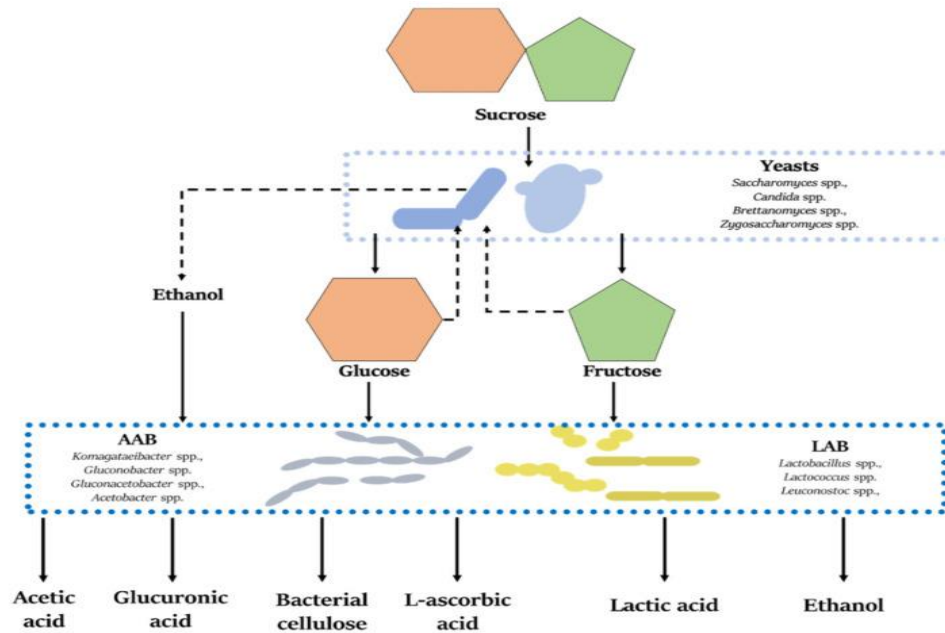
Outra característica marcante dessa bebida é sua atuação probiótica, modificando o microbioma intestinal com bactérias benéficas, atuando no bom funcionamento do organismo e na defesa contra agentes infecciosos (BRUINI, 2019).

3.1.1 SCOPY

Essa terminologia foi criada por Len Pozio em 1990 e se refere a uma colônia simbiótica formada por bactérias e leveduras, as quais podem mudar suas características conforme a mudança de temperatura do meio (SOARES; DE LIMA; REOLON SCHMIDT, 2021). No entanto, a característica geral da colônia de microrganismo apresenta um padrão, podendo mudar algumas espécies.

Quanto às bactérias presentes, a maioria é do tipo aceto ácidas, as quais são responsáveis pela produção de alguns ácidos durante a fermentação. Essa produção é um componente importante da relação de simbiose entre leveduras e bactérias, uma vez que, a partir do consumo da sacarose pelas leveduras, há a produção de monossacarídeos e etanol, o qual é consumido pelas bactérias aceto ácidas que originaram os ácidos característicos, como ácido acético e ácido glicurônico (Figura 2).

Figura 2 – Esquema do consumo do açúcar e a produção dos principais ácidos presentes na kombucha.



Fonte: Antolak, Piechota e Kucharska, 2021.

3.2 Chá verde

O chá verde é obtido a partir de uma planta chamada *Camellia sinensis* L. Ele possui aroma e sabor intensos e, dentre os três chás produzidos por ela, o chá verde é o único que apresenta sua coloração inicial, além de possuir efeito antioxidante e conter compostos funcionais (DADA *et al.*, 2021).

A intensidade de seus benefícios muda de acordo com o tipo de solo em que é produzido, sendo o solo brasileiro aquele com maior potencial de compostos fenólicos comparado a outros países, dado as características climáticas (DADA *et al.*, 2021; MUSIAL; KUBAN-JANKOWSKA; GORSKA-PONIKOWSKA, 2020).

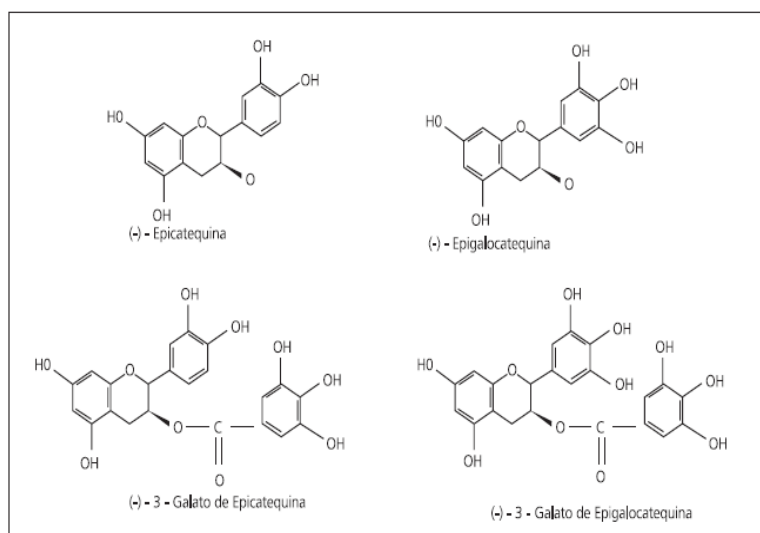
Quanto ao processo de produção da folha do chá, a cocção em água impede a fermentação, mantendo a coloração original da planta, diferenciando-o dos outros chás. Dentro do mercado alimentício, ele é comercializado de diversas maneiras: natural, como demonstrado na Figura 4, ou artificial, em cápsulas ou em essências industrializadas (TREVINO-GARZA *et al.*, 2020).

Figura 3 – Chá verde *in natura*

Disponível em: <<https://chado.com.br/produto/cha-verde-1kg-amaya-chas/>>.

A sua propriedade antioxidante deve-se à presença de polifenóis em sua constituição química, principalmente às chamadas catequinas, que se apresentam em forma de flavonoides – sendo as mais comuns: epigalocatequina 3-galato (EGCG), epicatequina-3-galato (ECG), epigalocatequina (EGC) e a epicatequina (EC) – e também à quantidade de hidroxilas presentes na sua estrutura, cujas quantidades variam de acordo com fatores climáticos, microbiológicos e agrícolas (MUSIAL; KUBAN-JANKOWSKA; GORSKA-PONIKOWSKA, 2020).

Figura 4 – Estruturas moleculares das catequinas presentes no chá verde.



Fonte: Adaptado de Lamarão e Fialho (2009).

3.3 Cupuaçu

O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) é uma fruta nativa de áreas úmidas, principalmente localizadas nos trópicos, muito encontrada no sul e sudeste do Pará e no nordeste do Maranhão. No entanto, sua produção vem se estendendo para outras regiões do Brasil, como Sul, Sudeste e Nordeste (MELO *et al.*, 2021).

Figura 5 – Cupuaçu *in natura*.



Fonte: EMBRAPA, 2016.

Sua árvore possui o nome de cupuaçuzeiro e é de médio porte, é originada da região amazônica e produz um fruto grande de casca marrom lisa, polpa de coloração branco amarelo e sementes. Em especial a polpa é caracterizada pelo seu sabor ácido e seu aroma característico, muito utilizada para a preparação de sucos, geleias, doces variados (ORNELLAS *et al.*, 2017).

Figura 6 – Polpa do cupuaçu *in natura*.



Fonte: EMBRAPA, 2015.

Além disso, já há evidências de que essa parte da fruta contém grande potencial antioxidante, além de uma considerável quantidade de ácido ascórbico e compostos fenólicos,

sendo assim de grande valor nutricional e benéfica à saúde (MELO *et al.*, 2021). Somado a isso, ela também contém interessante quantidade de fibras, principalmente as solúveis, bem como possui uma quantidade razoável de pectina devido ao tipo de amido presente, o que lhe confere uma característica diferenciada de outras polpas de frutas.

Seu uso está sendo muito pertinente na indústria de alimentos para a fermentação, principalmente na produção de probióticos, pois o processo não danifica as propriedades do fruto, levando à potencialização da atividade antioxidante (PEREIRA *et al.*, 2017). Além disso, devido à polpa ser rica em sólidos solúveis, ela é também um excelente meio de cultura para esses microrganismos, favorecendo a evolução do processo.

3.4 Bacuri

O bacuri (*Platonia insignis Mart*) é uma fruta que se desenvolve tanto em climas úmido e subúmido quanto em climas de cerrado, tendo um desenvolvimento versátil. É muito encontrado nas regiões Norte e Nordeste do país, especificamente no estado do Pará, na Ilha do Marajó e na foz do rio Amazonas, onde há intensa concentração (CORADIN; CAMILLO; PAREYN, 2018).

O bacurizeiro possui tronco reto e casca espessa, com altura de 15 a 20 metros, sua copa possui formato diferente de uma para outra, no entanto, o mais comum é em formato de cone. O fruto possui forma ovoide e subglobosa, sua coloração pode variar de verde a amarelo cítrico, sendo composta de casca, polpa e caroço, tendo a polpa coloração branca a branca-amarelada e textura macia.

Figura 7 – Bacuri *in natura*.



Fonte: EMBRAPA, 2017a.

Segundo Botelho *et al.* (2020), o estado do Pará possui 84,8% de participação na produção de bacuri do país, o qual não é mais somente destinado ao consumo familiar dos agricultores, mas sim vemos hoje que sua comercialização em forma de polpa ganhou força, principalmente em feiras, como Ver-o-Peso, Centrais Estaduais de Abastecimento (CEASA) e grandes grupos de supermercado.

Em vista disto, a polpa mostra-se de grande interesse para a indústria, visto que pode ser consumida de diversas maneiras, como em doces, geleias, sorvetes. Sua textura é cremosa, mucilagínosa, com sabor atrativo, floral e com notas frutadas. Além disso, no quesito nutricional, é rica em cálcio, fósforo e magnésio, além de possuir quantidade significativa de compostos bioativos, conferindo-lhe características antioxidantes, como ácido cítrico, ácido p-cumárico e trepenos (CORADIN; CAMILLO; PAREYN, 2018; FAVACHO *et al.*, 2018; MENDES *et al.*, 2021).

No que se refere ao uso da polpa de bacuri para a produção de fermentados, Mendes *et al.* (2021) verificou a viabilidade do crescimento de microrganismos probióticos em laboratório utilizando o suco do bacuri como meio, obtendo um aumento do número de colônias, além de não ocorrer nenhum risco de ultrapassar a contagem padrão ou ideal. Assim, a polpa demonstrou ser um substrato interessante para a produção de probióticos na indústria alimentícia.

3.5 Taperebá

O taperebá (*Spondia mombin* L.) pertence à família Anacardiaceae, também conhecido como cajá, cajarana dentre outras, comum nas regiões tropicais da América, África e Ásia (MARQUES *et al.*, 2017, 2018).

A árvore taperebazeiro é utilizada para o reflorestamento, sendo uma alternativa viável nos sistemas agroflorestais (SAFs) na região do Pará, possuindo porte alto com casca acinzentada, grossa e rugosa.

Seu fruto possui característica globosa ou elíptica, de cor variando de amarela a alaranjada, constituído de casca fina e lisa e podendo conter 3 a 4 cm de comprimento (MARQUES *et al.*, 2017; TSUKUI *et al.*, 2012). A produção no país, segundo o anuário Brasileiro de Geografia e Estatística de 2018, foi cerca de 7,8 toneladas/ano, juntamente a outras frutas como o muruci, mostrando sua grande importância econômica para a população, sendo comercializado tanto em

feiras de agricultura familiar, quanto nas grandes feiras e supermercados, tanto na forma *in natura* como polpa congelada (SANCHES *et al.*, 2017; SOUZA *et al.*, 2020).

Figura 8 – Taperebá *in natura*



Fonte: EMBRAPA, 2017.

No que diz respeito a sua polpa, esta é suculenta com um sabor ácido e adocicado, apresentando coloração predominantemente amarela. Quanto a sua composição nutricional, esta é rica em vitamina C, por conta de uma quantidade significativa de carotenoides, ácido gálico e taninos, conferindo-lhe potencial antioxidante, além de conter vitaminas do complexo B, como vitamina B1(tiamina) e vitamina B2 (riboflavina) (ANICETO *et al.*, 2021).

A partir disso, Pelais *et al.* (2020) traçou um estudo objetivando avaliar o uso da polpa de taperebá na forma de suco para a produção de bebidas probióticas, com o desenvolvimento de colônias de *Lactobacillus*, além da avaliação dos parâmetros físico-químicos. Seus resultados foram satisfatórios tanto de valores dos componentes avaliados, principalmente no quesito do crescimento das colônias, pois cumpriu com os parâmetros da legislação vigente, assim tornando-se uma alternativa para a produção desse tipo de bebida fermentada.

3.6 Compostos bioativos

São compostos extra nutricionais que variam sua estrutura química em consonância com a biológica. Estão presentes em pequenas quantidades nos alimentos, no entanto, se ingeridos em grandes quantidades podem gerar benefícios para a saúde do indivíduo (CARNAUBA, 2021; PICCIRILLO; AMARAL, 2018).

No que se diz respeito ao seu histórico, existem relatos de seu uso desde a Grécia antiga, estando presentes também nas civilizações egípcia e chinesa. Em meados do século XX, esses

compostos foram usados para a criação das primeiras formulações de remédios, que eram em sua maioria eram extraídos de vegetais e de plantas a partir de seus metabólicos, um exemplo comum é a morfina extraída da papoula (*Papaver somniferum*). Sua estrutura química é composta por um anel benzeno com um ou mais grupo hidroxilas, incluindo outros substituintes funcionais (PICCIRILLO; AMARAL, 2018; TATIPAMULA; KUKAVICA, 2021).

Uma das principais funções dos compostos bioativos no ser humano é sua estrutura química, a qual lhe confere capacidade antioxidante determinante para seu aumento ou decréscimo. A partir disso, elas indicam a capacidade com que essa atividade será realizada, na qual podem atuar na quelação de cátions, reduzindo o estresse oxidativo e na eliminação de radicais peroxi, hidroxí e ânion superóxido (TATIPAMULA; KUKAVICA, 2021).

Os principais tipos de compostos bioativos são os compostos fenólicos, carotenoides e glicosinolatos, que estão presentes na alimentação cotidiana da população (CARNAUBA, 2021).

3.6.1 Carotenoides

São compostos bioativos pigmentados presentes em plantas, algas, fungos e pássaros, os quais apresentam característica lipossolúveis e hidrofóbicas. Já foram identificados mais de 600 tipos de carotenoides na natureza, que variam a sua coloração de amarela a vermelha (LANGI *et al.*, 2018).

Os carotenoides são classificados em dois grupos: os carotenos e as xantofilas, os quais, por sua vez, possuem subgrupos: no primeiro estão o beta-caroteno, alfa-caroteno e licopeno; já no segundo estão a luteína e a zeaxantina (LANGI *et al.*, 2018).

3.6.2 Compostos fenólicos

São produto do metabolismo secundário de plantas e possuem grande importância na sua estrutura, funcionalidade, e alguns agem na defesa contra agentes externos. Além disso, dão origem a características marcantes de frutas e vegetais, como cor, odor e sabor (ARNOSO; DA COSTA; SCHMIDT, 2019; DIAS *et al.*, 2021).

Os compostos fenólicos podem estar de diversas formas na natureza, no entanto, a maioria se apresenta na forma de ésteres ou glicosídeos. No que diz respeito a sua classificação, podem se dividir em: os flavonoides e os não flavonoides.

3.7 Atividade antioxidante (DPPH)

O processo de oxidação celular é natural no organismo do ser humano, uma vez que ele produz as chamadas espécies reativas de oxigênio (ROS). No entanto, mediante a um nível de estresse muito elevado, a quantidade dessas reações aumenta, acrescentando assim a quantidade de ROS no organismo e levando à ativação de mecanismos não desejáveis, como o desequilíbrio de organelas e a ativação do crescimento desordenado de células que podem ser carcinogênicas (HE *et al.*, 2017).

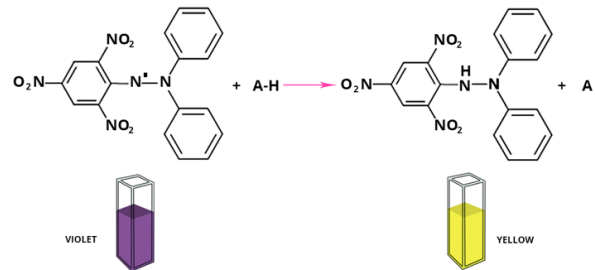
A partir disso, os antioxidantes são substâncias ou compostos capazes de proteger o organismo dos produtos da oxidação, evitando que o processo aumente (KANDI; CHARLES, 2019). Isso se deve à inibição por meio da doação de hidrogênio, levando a eliminação de radicais livres (SIRIVIBULKOVIT; NOUANTHAVONG; SAMEENOI, 2018). Os antioxidantes podem ser produzidos de maneira natural ou sintética, sendo a primeira mais encontrada em plantas e vegetais e vem sendo objeto de estudos recentes.

Visando a identificar a presença da atividade antioxidante, foram desenvolvidos diferentes métodos para a sua quantificação, sendo eles: captura do radical peroxila (ORAC); poder de redução do metal (FRAP); captura do radical hidroxila; captura do radical orgânico (DPPH) e quantificação de produtos formados durante a peroxidação de lipídeos.

3.7.1 DPPH

O método foi desenvolvido por Boies em 1958, em que é utilizado a redução do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) para a quantificação da atividade antioxidante. Essa reação se dá por intermédio da redução dos radicais violeta DPPH pelo antioxidante, por meio de uma transferência de átomos de hidrogênio (SIRIVIBULKOVIT; NOUANTHAVONG; SAMEENOI, 2018).

Figura 9 – Reação de redução do DPPH



Fonte: CHIMACTIV, [s.d.].

É considerado um método simples, pois só envolve a utilização do reagente DPPH e o antioxidante. Além disso, muito foi feito para tentar simplificar o método, uma vez que ele é comumente realizado por espectrofotômetro, fazendo uma amostra por vez. Recentemente foi criada a leitura em poços, em que é feita a aferição de muitas amostras em um menor tempo, no entanto, essa outra maneira possui um custo maior (KANDI; CHARLES, 2019).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Todo o processo foi realizado na Faculdade de Nutrição da Universidade Federal do Pará, no Laboratório de Higiene e Análise de Alimentos.

4.1 Materiais

O chá verde foi adquirido em São Paulo (CHÁ DÕ®), a colônia SCOBY foi adquirida por uma doação na cidade de Belém, o açúcar cristal (União®) e as polpas de fruta (Petrys®) utilizadas foram adquiridas em uma rede de supermercado da cidade de Belém.

4.2 Preparação do chá

Para a preparação do substrato, foram fervidos dois litros de água a 100°C, deixando três minutos na fase de fervura para que fosse retirado todo o cloro presente na água. Após, foram acrescentados 7g/L da erva *Camellia Sinensis* (chá verde), deixando em infusão em água por cerca de 15 minutos, e após o período foram adicionados 20g/L de açúcar cristal. Em seguida, a preparação foi coada em papel voal e colocou-se o substrato para esfriar até chegar a temperatura ambiente.

4.3 Primeira fermentação

Foram necessários para a primeira fermentação: um recipiente de vidro de mais ou menos 2-3 litros, uma colônia de SCOBY e o chá já previamente preparado em temperatura ambiente 25°C, além de um papel toalha branco com um elástico para tampar o recipiente. Foi inserido o SCOBY “mãe” dentro do pote de vidro e uma parte do chá fermentado em que colônia estava contida, após isso, foi colocado o chá adoçado preparado e a seguir o recipiente foi fechado com o papel e o elástico, sendo armazenado em ambiente arejado por um período de sete dias.

4.4 Preparação do néctar das frutas

4.4.1 Calda de cupuaçu

Para a preparação, usou-se 100g de polpa congelada em uma panela em fogo baixo, depois foram adicionados 100mL de água e 50g de açúcar cristal até a formação uma calda clara, em seguida foi colocada em um recipiente até esfriar.

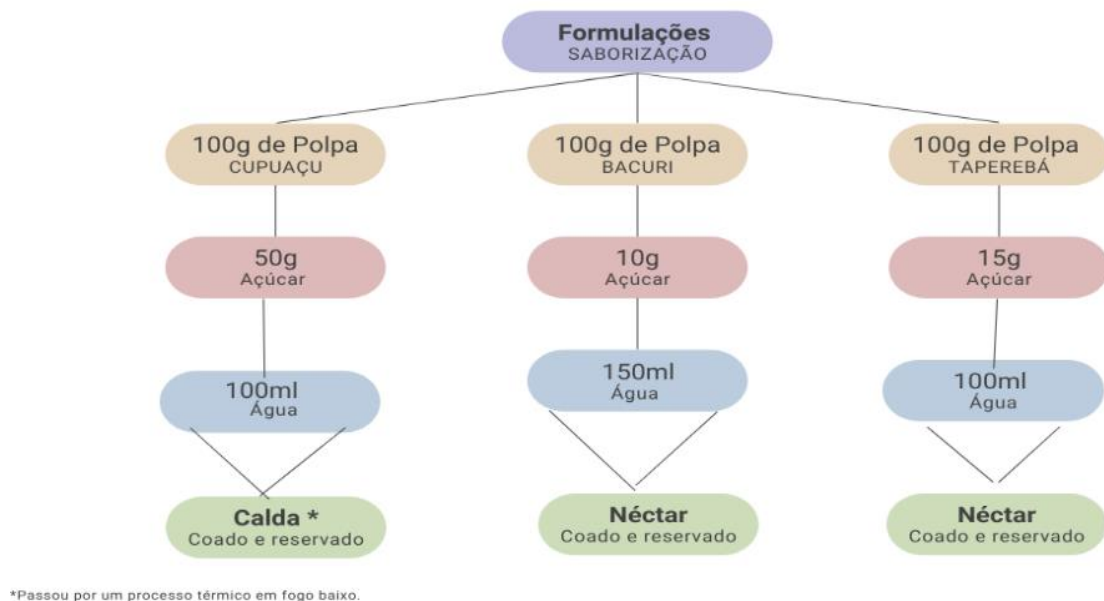
4.4.2 Néctar de bacuri

Para a preparação, colocou-se em um recipiente 100g de polpa, adicionando-se 10g de açúcar cristal e 150 mL de água, homogeneizando a mistura com uma colher de sobremesa e depois coando em voal e reservando o composto.

4.4.3 Néctar de taperebá

Para a preparação, colocou-se em um recipiente 100g de polpa, adicionando-se 15g de açúcar cristal e 100 mL de água, homogeneizou-se com uma colher de sobremesa e depois o néctar foi coado em voal e reservado.

Figura 10 – Fluxograma das formulações da calda e dos néctares.



Fonte: Autora, 2022.

4.5 Segunda fermentação

Para a segunda fermentação, foram utilizadas três garrafas de plástico com capacidade de 500mL, às quais foram adicionados o produto da primeira fermentação; kombucha *in natura* e uma porcentagem de 20% de néctar ou calda. Feito isso, o recipiente foi fechado, homogeneizado e colocado em ambiente sem contato com a luz pelo período de dois a três dias.

Tabela 1 – Formulações das kombuchas saborizadas.

	Formulações		
	C	T	B
Kombucha “mãe”	400 mL	400mL	400mL
Polpa	100g	100g	100g
Água	100mL	100mL	150mL
Açúcar	50g	15g	10g

Fonte: Autora, 2022.

Nota: C = Kombucha saborizada com cupuaçu;

T = Kombucha saborizada com taperebá;

B = Kombucha saborizada com bacuri.

4.6 Caracterização do processo fermentativo da primeira fermentação

Para avaliação, foram feitas as seguintes análises: determinação do pH, acidez total titulável e sólidos solúveis, seguindo os protocolos da Associação de Químicos Oficiais de Agricultura (AOAC) (AOAC INTERNATIONAL, 2000; CUNNIFF; AOAC INTERNATIONAL, 1997). Quanto a esses métodos, todas as amostras foram feitas em triplicatas, suas médias e desvios padrões foram colocados em um gráfico e em uma tabela.

4.7 Caracterização físico-química da kombucha “mãe” e das kombuchas saborizadas

4.7.1 Determinação de pH

Para a determinação de pH, foram feitas medições em triplicata tanto da kombucha após a primeira fermentação e quanto após a segunda fermentação. Essa análise foi feita a partir de um potenciômetro de bancada calibrado (Onda Digital) (CUNNIFF; AOAC INTERNATIONAL, 1997).

4.7.2 Análise de acidez total titulável

Para a determinação da acidez total titulável, foi utilizada a mesma metodologia em triplicata. Em um Erlenmeyer de 250 mL com o auxílio de uma pipeta graduada de 10 mL, serão adicionadas 10 mL da amostra e 90 mL de água destilada. Em uma bureta de 25 mL, foram adicionados uma solução de hidróxido de sódio 0,1N, em seguida, foram adicionadas três gotas do indicador fenolftaleína para a realização da titulação até chegar a uma coloração rósea. Após isso, foi feito o cálculo utilizando o volume encontrado e mensurado em g/mL de ácido acético e g/L de ácido total.

4.7.3 Sólidos solúveis

Foram determinados pelo método da AOAC (2000), por meio da retirada de uma pequena quantidade de cada amostra e gotejada em um refratômetro digital (Kasvi), e logo após foi feita a leitura e mensurada na escala Brix.

4.7.4 Análise de Açúcares Redutores por DNS

Para a realização da análise segundo Miller (1959), foram preparadas uma solução padrão de glicose 1,0 g/L; solução de NaOH 2N com 8 g de NaOH (microperulas) e 100mL de água deionizada; solução de reagente DNS que continha: 1 g de 3,5-dinitrosalicílico, 30 g tartarato duplo de sódio e potássio, 20 mL solução de NaOH 2N. Depois de prontas, foi retirado 1 mL da amostra com uma pipeta para um tubo de ensaio, 2mL do reagente DNS e 20 mL de água deionizada, colocado em banho maria (a 100° C) por 10 minutos e resfriado em banho de gelo por mais cinco minutos. Após isso, foi adicionado 16 mL de tartarato de sódio e potássio e, por fim, foi coletado 1 mL de cada amostra de kombucha em triplicata e feita a leitura em espectrofotômetro (Fento, Cirrus 80PR) a 540 nm.

4.8 Análise de fenólicos

A análise de fenólicos foi realizada por intermédio do método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, em triplicata. Foram feitas três soluções para a análise: uma de Folin na proporção de 10:1 Folin: água destilada; uma de carbonato de sódio com concentração de 20%; e uma solução de 100 ppm de ácido gálico (EAG), utilizada para a curva padrão. As amostras foram previamente centrifugadas a 3.000 rpm por 10 minutos a 4° C, e filtrada em membrana de 45 µm. Em uma cubeta, foi adicionado 25 µL da amostra de kombucha e 1.375 µL da solução de Folin preparada. Após oito minutos de reação sob proteção da luz, foram adicionados 600 µL de água destilada e 500 µL da solução de carbonato de sódio 20%, sendo então colocados sob abrigo da luz novamente para reagir por 30 minutos. Os teores de fenólicos totais foram expressos em mg de equivalentes de EAG/L de bebida e sua absorbância foi lida em espectrofotômetro a 750 nm e a temperatura ambiente (SINGLETON; ROSSI, 1965).

4.9 Análise de atividade antioxidante (DPPH)

A análise foi feita com base no método de Macedo *et al.*, 2011, o qual se baseia na captura do radical DPPH por antioxidantes. Foram preparadas as soluções de álcool metílico 70%, uma solução de DPPH 0,06 mM e uma solução de Trolox para a realização da leitura da curva padrão. Primeiramente, foram separados os eppendorff para colocar as amostras, o branco das amostras, branco e o controle. Finda a preparação, com uma micropipeta de 200µL foi retirado 250µl das kombuchas já previamente filtradas e colocadas em cada eppendorff em triplicata, após foi colocado 1000µL da solução de metanol 70% no branco, 750µL nos eppendorff identificados como branco das amostras e 250µL no controle. Ademais, foi colocada a solução de DPPH nas seguintes quantidades: 750µL nas amostras e no controle. Somado a isso, foi colocado para repousar em ambiente escuro por 60 minutos, passado o tempo foi feita a leitura em triplicata no espectrofotômetro a 520 nm, os resultados foram expressos em µmolTE/mL.

4.10 Vitamina C

Para a quantificação, foi utilizado o método titulométrico de Tilimians, em que se usa a redução do 2,6-diclorofenolindofenol (DFI) pelo ácido ascórbico para a sua mensuração. Para

tanto, foram preparadas e usadas soluções de ácido oxálico 1%, solução de 2,6-diclorofenolindofenol sódio a 0,2% e uma solução de ácido ascórbico a 50µg/mL. Após a padronização da solução de DCFI, foram coletados 4 mL dos extratos das amostras e adicionados a uma Erlenmeyer de 125 mL com 46 mL de água deionizada, que posteriormente foi titulada em uma bureta de 20 mL contendo solução padronizada de DCFI até a coloração rosa persistir por 15 segundos. Por fim, os volumes foram anotados e realizou-se o cálculo, em triplicata, e os resultados foram expressos em mg/100g de vitamina C (STROHECKER; A, 1967).

4.11 Etanol

A quantificação de teor alcoólico foi feita a partir do cálculo de densidade relativa, levando-se em conta a medição de massa com o picnômetro de 5 mL ao final da fermentação. O seguinte cálculo foi feito para encontrar a densidade relativa (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008):

$$dr = \frac{(m_{pa} - m_{pv})}{d_{\text{água}}}$$

Nota: dr = densidade relativa

m_{pa} = massa do picnômetro com a amostra.

m_{pv} = massa do picnômetro vazio

$d_{\text{água}}$ = (massa do picnômetro com água – massa do picnômetro sem a água) / volume.

Os dados da densidade relativa foram colocados no site Yeastabl Biotecnologia para o cálculo de teor de etanol após a fermentação.

4.12 Análises microbiológicas

4.12.1 Contagem de mesófilos

Para a contagem de mesófilas, foi usado o método de Silva *et al.* (2017). Foram utilizados os seguintes materiais: três placas de petri de tamanhos iguais, três tubos de folan com tampa, um tubo schott de 150 mL; estufa regulada a 35°C; meio de cultura Agar Padrão de Contagem (PCA); um béquer de 100 mL para a amostra e ponteiros pra micropipetas de 1000 µL e de 10000 µL. Para a preparação do meio PCA, foi utilizada uma balança semi-analítica e um papel de filtro, em que

foram pesados 2,35 g e misturados com 100 mL de água deionizada em um Erlenmeyer de 250 mL para serem colocados na autoclave por 15 minutos a 121°C. Os materiais separados foram autoclavados por 20 minutos a 121°C, sendo colocados posteriormente na estufa para a remoção da umidade. Após isso, os materiais foram colocados na capela de fluxo laminar, em que foi ligada a luz UV por 15 minutos e desligada após o término do tempo, em que se foram iniciadas as diluições. Foram preparadas quatro diluições para cada amostra (10^1 10^2 10^3 10^4) contendo 0,9 mL de água deionizada nos tubos 10^1 a 10^4 mais 0,1 mL em cada tubo falcon, indo da 10^1 a 10^4

Por conseguinte, foram identificadas as placas pipetadas 1 mL de cada diluição e colocado o meio de cultura na placa semiaberta, uma quantidade aproximadamente de 15 mL, e homogeneizado realizando movimentos circulares leves de oito a 10 vezes no sentido horário e anti-horário. Após isso, esperou-se o meio solidificar e colocaram-se as placas em estufa a 35°C por 48 horas. Passado o tempo, fez-se a contagem e obteve-se os resultados em UFC/mL ou UFC/g.

$$UFC = NC \times \frac{1}{\text{Diluição}}$$

Nota: UFC= Unidades Formadoras de Colônia

NC= Número de Colônias

4.12.2 Coliformes termotolerantes

Para a análise, foram pesadas 25 g de cada amostra das kombuchas saborizadas. Em seguida, foram separados nove tubos de ensaio de vidro para cada amostra com um tubo de Duran, divididos em três diluições, além de seis tubos em que ficarão as diluições 10^{-2} e 10^{-3} de cada kombucha. Dessa forma, foram pipetados 9 mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose nos nove tubos de ensaio e 9 mL de água deionizada nos seis tubos para as diluições. Também foram separados três tubos shott de 250 mL, em que foram colocados 225 mL de água e separados em um béquer de 600 mL com cinco ponteiras de micropipeta de 1000 μ L. Então, foi colocado todo o material para autoclavar por 20 minutos a 121° C, e, quando faltavam quinze minutos para terminar a autoclavagem, foi ligado o UV da capela de fluxo laminar e colocada a micropipeta juntamente com a grade para apoiar os tubos de ensaio. Ao terminar a esterilização tanto por UV quanto pela autoclave, todos os materiais foram colocados no fluxo, em que foram adicionados os 25 g nos tubos shotts e solubilizados, em seguida foi passado 1 mL da diluição 10^{-1} para a 10^{-2} , trocou-se a ponteira e passou-se a mesma quantidade para a 10^{-3} . Diante disso, foi colocado 1 mL de cada

diluição no tubo de ensaio, que possuía o tubo de Duran correspondente à diluição, em seguida foi agitado e colocados em estufa entre 35 a 37° C de 24 a 48 horas (SILVA *et al.*, 2017).

4.12.3 Bolores e leveduras

Para a contagem de bolores e leveduras, foi usado o método de Silva *et al.* (2007). Foram utilizados os seguintes materiais: três placas de petri de tamanhos iguais; três tubos de folan com tampa; um tubo schott de 150mL; estufa regulada a 35°C; meio de cultura DRBC Agar Base; um béquer de 100 mL para a amostra e ponteiros pra micropipetas de 1000 µL e de 10000 µL. Para a preparação do meio DRBC, foi utilizada uma balança semi-analítica e um papel de filtro, em que foram pesados 2,53 g e misturados com 80 mL de água deionizada em um Erlenmeyer de 250 mL, para serem colocados na autoclave por 15 minutos a 121°C. Os materiais separados foram autoclavados por 20 minutos a 121°C, sendo posteriormente colocados na estufa para a remoção da umidade. Em seguida, os materiais foram colocados na capela de fluxo laminar, em que foi ligada a luz UV por 15 minutos e desligada após o término do tempo e iniciado as diluições. Foram preparadas quatro diluições para cada amostra (10^1 10^2 10^3 10^4), contendo 0,9 mL de água deionizada nos tubos 10^1 a 10^4 mais 0,1 mL em cada tubo falcon, indo da 10^1 a 10^4 .

Por conseguinte, foram identificadas as placas e foi colocado o meio de cultura na placa semiaberta, uma quantidade aproximadamente de 15 mL, esperou-se endurecer por alguns minutos e após isso foram pipetados 1 mL de cada diluição, preenchendo toda a superfície com uma alça de drigalsky realizando movimentos leves, e então colocou-se as placas em estufa a 25°C por 72 horas. Passado o tempo fez-se a contagem, obtendo os resultados em UFC/mL ou UFC/g.

$$UFC = NC \times \frac{1}{Diluição}$$

Nota: UFC= Unidades Formadoras de Colônia

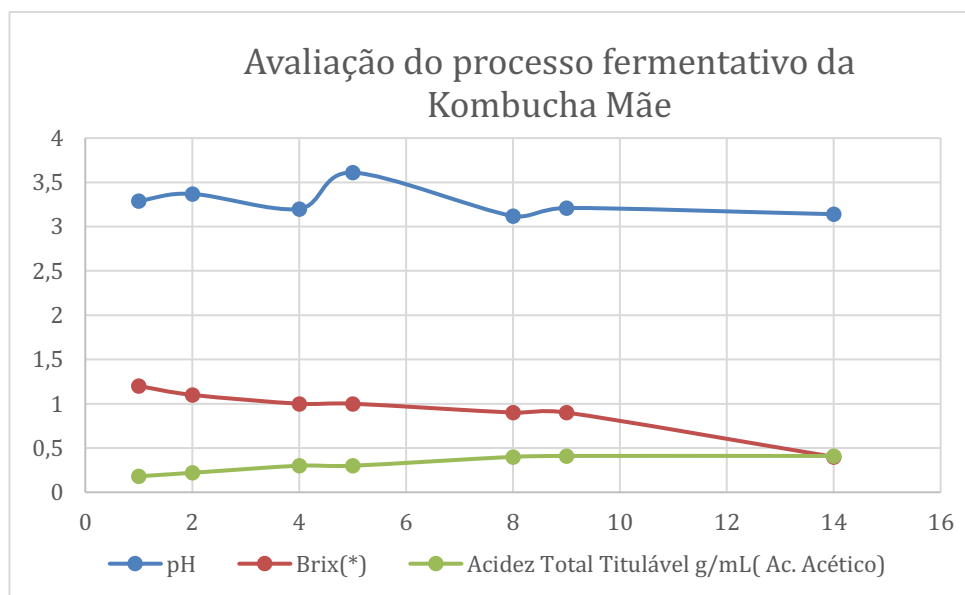
NC= Número de Colônia

5 RESULTADOS E DISCUSÃO

5.1 Avaliação do processo fermentativo da kombucha “mãe”

A partir das análises no período de 14 dias, foram quantificados e avaliados os valores dos parâmetros analisados no decorrer do processo fermentativo e então colocados em um gráfico, o qual está disposto abaixo.

Gráfico 1 – Avaliação do processo fermentativo da kombucha “mãe”.



Fonte: Autora, 2022.

Os parâmetros analisados no Gráfico 1 são de grande importância para o processo de fermentação da kombucha, uma vez que a partir deles podemos perceber se o processo está ocorrendo de maneira efetiva, a fim de se obter um produto confiável e saber suas características. A partir disso, pode-se perceber que o processo ocorreu de maneira adequada, pois houve uma diminuição do pH, que foi de 3,29 (no primeiro dia) para 3,16 (no décimo quarto dia). O mesmo decréscimo ocorreu de maneira semelhante no processo fermentativo da kombucha feita por Zou *et al.* (2021), que ao chegar aos 14 dias contava com um pH < 3.

Ademais, o valor obtido por Primiani *et al.* (2018) de 3,05 foi próximo ao encontrado neste estudo no oitavo dia de fermentação (pH = 3,12), utilizando-se o mesmo tipo de chá.

Os sólidos solúveis também diminuiram, ou seja, as leveduras consumiram o açúcar presente, e por conseguinte as bactérias aceto ácidas produziram os ácidos orgânicos importantes, sendo um deles o ácido acético, assim como ocorreu em Muzaiifa *et al.* (2022), só que com quantidades maiores de sólidos solúveis (10,97 – 9,97) pois houve adição de um outro substrato. Diante disso, o valor da acidez aumentou durante o processo, de 0,18g/mL para 0,41g/mL, gerando um meio ácido, mas não ultrapassando o limite da acidez considerada ideal para o consumo humano.

5.2 Caracterização do produto final da kombucha “mãe” e das kombuchas saborizadas.

No que se trata da avaliação do produto final tanto da kombucha “mãe” quanto das saborizações, os resultados estão dispostos da Tabela 2, todos com os seus respectivos desvios padrões.

Tabela 2 – Caracterização físico-química do produto final da Kombucha f1 e das saborizações.

Componente	Kombucha F1	Saborizações		
		C	T	B
pH	3,2 ± 0,03	3,10 ± 0,02	2,98 ± 0,05	3,18 ± 0,02
Brix(°)	1,0 ± 0,00	4,0 ± 0,00	2,0 ± 0,00	2,0 ± 0,00
Acidez titulável (Meq/L)	65,3 ± 0,60	81 ± 1,73	65 ± 1,00	70 ± 1,00
Acidez Titulável em ácido acético (g/mL)	0,39 ± 0,00	0,49 ± 0,00	0,39 ± 0,01	0,41 ± 0,01
Açúcares redutores (g/L)	0,09 ± 0,00	0,23 ± 0,03	0,39 ± 0,00	0,16 ± 0,01
Compostos Fenólicos (mg EAG/L)	34,92 ± 12,25	30,60 ± 0,93	33,40 ± 1,60	38,3 ± 0,93
Capacidade Antioxidante DPPH (µmol ET/mL)	320,57 ± 9,53	295,02 ± 5,59	295,39 ± 3,89	307,98 ± 2,51

Nota: F1 = Primeira fermentação;

C = Cupuaçu;

T = Taperebá;

B = Bacuri;

AG = Ácido gálico;

MS = Amostra sólida;

DPPH = 2,2-difenil-1-picril-hidrazil.

O pH é um fator que está diretamente ligado a acidez do produto, de forma que, quanto maior for o tempo de fermentação, menor será o pH. Diante disso, podemos perceber que os resultados obtidos nos produtos finais possuem coerência, pois houve um decréscimo da kombucha de primeira fermentação (F1) (pH = 3,2) para as três saborizações (pH = 3,10; 2,98;

3,18), uma vez que, após a primeira fermentação, o produto final passa um novo processo fermentativo com a adição de mais nutrientes para a cultura, intensificando a acidificação.

Além disso, é importante destacar que os produtos cujos valores estão dispostos na Tabela 3 estão dentro das conformidades da nova legislação nacional para esta bebida fermentada (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2019), obedecendo os parâmetros de pH (2,4-4,0) e de acidez titulável em meq/L (30-130).

O ácido acético é um dos ácidos orgânicos com maior prevalência dentre os produtos da fermentação da kombucha. No entanto, ele traz uma qualidade ao produto final que é desfavorável sensorialmente quando está em grandes concentrações, que é o sabor avinagrado (AMARASINGHE; WEERAKKODY; WAISUNDARA, 2018; KHOSRAVI *et al.*, 2019). Os valores de acidez equivalentes deste ácido estão contidos na Tabela 3, e foram superiores aos encontrados por Abuduabifu e Tamer (2019) em suas savorizações com goji berry, utilizando o chá preto. No entanto, os valores apresentados não caracterizam teores altos quando comparados aos 1,30g /L encontrados no estudo de Neffe-Skocińska *et al.* (2017).

O valor de brix encontrado no trabalho (valor = 1) foi menor que o encontrado na literatura para a kombucha feita com chá verde ao final do processo fermentativo (TREVINO-GARZA *et al.*, 2020). Segundo Akarca (2021), a redução significativa dos sólidos solúveis pode estar associada à hidrolização da sacarose em glucose e frutose, e o conseqüente uso desses dois monossacarídeos pelos microrganismos da colônia para a produção de outros metabólitos, resultando em valores menores de brix. Além disso, a diferença de concentração de açúcar e chá adicionado para a fermentação pode ser um fator limitante para a quantificação final dos sólidos solúveis totais.

O açúcar é um elemento muito importante na preparação da kombucha, pois a sua qualidade e quantidade presentes podem ou não favorecer o processo fermentativo (MARTÍNEZ LEAL *et al.*, 2018). Diante disso, percebeu-se em algumas literaturas quantidades maiores de açúcares redutores do que a apresentada neste trabalho (0,09 g/L ;0,23 g/L; 0,39 g/L; 0,16 g/L), em que foi feita uma kombucha com Laver (*Porphyra dentata*), na qual foi encontrado 0,45 g/L (AUNG; EUN, 2021). Isso se deve à maior quantidade adicionada no processo e também à possível formação de frutose e glucose pela via fermentativa das leveduras, além do diferente substrato utilizado para as preparações (NEFFE-SKOCIŃSKA *et al.*, 2017).

A quantidade de compostos fenólicos presente na kombucha está atrelada a vários fatores: o tipo de chá utilizado, a quantidade de açúcar, o tempo de fermentação e a temperatura (ANTOLAK; PIECHOTA; KUCHARSKA, 2021). Diante disso, a quantidade desse composto presente em nos nossos produtos foi significativa, 34,92 mgGAE/L para a kombucha F1; 30,60 mgGAE/L para a saborizada com cupuaçu; 33,40 mgGAE/L para a saborizada com taperebá e 38,3 mgGAE/L para a saborizada com bacuri.

Os valores encontrados para a kombucha feita com chá verde (34,92 mg/L) são abaixo do que os presentes na literatura (DADA *et al.*, 2021; KAYISOGLU; COSKUN, 2021). Isso pode estar relacionado à quantidade de sacarose utilizada para a preparação do chá, uma vez que a maioria utiliza quantidades maiores do que a utilizada por este trabalho (DADA *et al.*, 2021; DEPARTMENT OF FOOD SERVICE AND CATERING, POZNAŃ UNIVERSITY OF LIFE SCIENCES, POLAND *et al.*, 2016; KAYISOGLU; COSKUN, 2021). Assim, segundo Bortolomedi, Paglarini e Brod (2022), a quantidade desses compostos pode diminuir por conta da degradação de alguns polifenóis por enzimas microbianas durante a fermentação ou pelo seu uso por esses microrganismos.

Foram encontrados valores menores de fenólicos quando comparados a kombuchas feitas com chá preto. Como exemplo, podemos citar a feita por Wang *et al.* (2020), em que obtiveram ao final do processo um produto com 13,8 mgGAE/L.

Quando se trata das saborizações, a com o bacuri demonstrou um aumento da composição de fenólicos (38,3 mgGAE/L) quando comparada à kombucha F1 (34,92 mgGAE/L). Tal fato pode estar atrelado à produção de algumas enzimas que transformam fenólicos maiores em menores, favorecendo o aumento da sua quantificação (WANG *et al.*, 2020).

Em relação à atividade antioxidante, ao compararmos o resultado obtido pela kombucha oriunda da primeira fermentação (320,57 $\mu\text{molET/mL}$) a algumas literaturas, nosso resultado foi menor do que a de Zou *et al.* (2021). Sobre isso, é sabido que os antioxidantes são sensíveis a alguns fatores relacionados ao ambiente em que são produzidos, como pH; temperatura; tempo de fermentação e da oxidação; além das condições de processamento do chá utilizado, o que pode ter influenciado nosso resultado (DEĞIRMENCIOĞLU *et al.*, 2021).

Com adição dos néctares e da calda, houve uma diminuição dos valores de DPPH em relação à kombucha oriunda da primeira fermentação. No entanto, a saborização que obteve um resultado mais próximo da kombucha de chá verde foi a de bacuri (307,98 $\mu\text{molET/mL}$), seguida

da saborização com taperebá (295,39 $\mu\text{molET/mL}$) e depois a de cupuaçu (295,05 $\mu\text{molET/mL}$). Tal fato pode estar atrelado à quantidade de compostos conservados no período fermentativo e também à maior quantidade presente no produto, no qual a de bacuri demonstrou um aumento nos valores de compostos fenólicos em relação as outras. Segundo Tang *et al.* (2022), a taxa de eliminação de radicais livres pode estar relacionada a quantidade de fenólicos presentes.

Tabela 3 – Caracterização da Vitamina C em todo o processo fermentativo.

	Vitamina C (mg / 100g)
T0 F1	165,35±00
Tf F1	99,25±00
Calda de C	198,2±00
Néctar (B)	99,25±00
Néctar T	173,5±00
Néctar + F1(C)	198,2±00
Néctar + F1(B)	99,25±00
Néctar + fl (T)	173,5±00
C	99,25±00
B	165,25±00
T	198,25±00

Nota: T0 F1: Chá verde antes de fermentar;
Tf F1: Kombucha após a primeira fermentação;
Calda C: Calda de Cupuaçu;
Néctar (B): Néctar de Bacuri;
Néctar (T): Néctar de Taperebá;
F1: Kombucha após a primeira fermentação;
C: Kombucha saborizada com cupuaçu;
B: Kombucha saborizada com bacuri;
T: Kombucha saborizada com taperebá.

Dentre os valores das saborizações, a que obteve a maior concentração de vitamina C foi a com taperebá, chegando a 198,25 mg/100g; seguida da saborizada com bacuri, 165,25mg/100g, o que não ocorreu com a formulação de cupuaçu, com apenas 99,25mg/100g.

O aumento das concentrações se deve a quantidade elevada desse micronutriente presente nas polpas, como demonstra a Tabela 4. Referente a isso, um trabalho que adicionou *Annona muricata L* à colônia também obteve um aumento da concentração de vitamina C durante o processo fermentativo (CANDRA; PRASETYO; TARIGAN, 2021). Somado a isso, outro fator que pode ter contribuído para esse acréscimo foi o pouco tempo de fermentação após a saborização, não ocorrendo a degradação do ácido ascórbico durante o processo.

Já o decréscimo da quantidade de vitamina C na kombucha saborizada com cupuaçu pode ser devido a essa polpa ser mais sensível a mudanças bruscas de temperatura e luminosidade. Tal fato foi elucidado por Vieira, Teixeira e Silva (2000), que avaliaram a cinética da degradação do ácido ascórbico presente no néctar de cupuaçu, o qual se demonstrou instável a vários fatores externos.

Além disso, a vitamina C pode estabilizar a sua oxidação em um meio ácido como o da kombucha, em que o pH varia entre 3 e 6, o que explicaria a sua manutenção em alguns processos fermentativos, além do fato de que, em determinadas temperaturas, a formação do ácido ascórbico é mantida (BISHOP *et al.*, 2022). Diante disso, o valor encontrado nesse trabalho ao final da primeira fermentação ($T_f F1 = 99,25 \pm 00$) foi maior do apresentado por alguns trabalhos (MOUSAVI *et al.*, 2020).

Tabela 4 – Quantificação de Etanol nas Kombuchas.

	K F1	C	B	T
Etanol	0,66%	0	1,84%	0

Nota: KF1= Kombucha da primeira fermentação;
 C: Kombucha saborizada com cupuaçu;
 B: Kombucha saborizada com bacuri;
 T: Kombucha saborizada com taperebá.

As quantidades de etanol presentes na kombucha “mãe” e nas formulações estão dentro dos padrões preconizados pela legislação de 17 de setembro de 2019, que classifica a kombucha oriunda da primeira fermentação com a nomenclatura de “alcoólica”, pois sua %v/v está entre 0,6 e 5, assim como a kombucha de bacuri. Já a kombucha saborizada com cupuaçu e taperebá estão classificadas como não alcoólica, pois não possuem álcool na sua composição.

Ademais, a concentração de álcool na kombucha F1 está abaixo de algumas literaturas que trazem 3% a 5%, no entanto, isto se explica pois a quantidade de açúcar adicionado foi maior do que a utilizada no presente estudo, o que favorece a menor quantidade de álcool produzida pelas leveduras (JAKUBCZYK *et al.*, 2021; NHAN *et al.*, 2020). Além disso, a quantidade encontrada de etanol na kombucha de bacuri foi próxima à encontrada por Nhan *et al.* (2020) em sua fermentação feita com uma fruta típica do Vietnam (0,88 g/L).

5.3 Avaliação microbiológica

Quanto à avaliação da qualidade e com a perspectiva de assegurar a segurança alimentar dos produtos desenvolvidos, foram quantificados e expostos na Tabela 5 os resultados das análises feitas.

Tabela 5 – Análises microbiológicas das Kombuchas saborizadas

	Bactérias Mesófilas	Bolores e Leveduras	Coliformes Termotolerantes
C	$1,2 \cdot 10^2$	$6 \cdot 10^4$	Ausente
B	$1,5 \cdot 10^1$	$6,1 \cdot 10^4$	Ausente
T	$4 \cdot 10^1$	$9 \cdot 10^3$	Ausente

Nota: C: Kombucha saborizada com cupuaçu;
 B: Kombucha saborizada com bacuri;
 T: Kombucha saborizada com taperebá.

Segundo a RDC nº 331 de 23 de dezembro de 2019, um alimento seguro é aquele que está fora de risco de contaminação por microrganismos patógenos. Diante disso, as kombuchas saborizadas obtiveram valores satisfatórios no que se trata da análise das bactérias mesófilas, $1,16 \cdot 10^2$ UFC/100mL; $1,5 \cdot 10^1$ UFC/100mL e $4 \cdot 10^1$ UFC/100mL, apresentando um grau de crescimento adequado segundo a legislação (ANVISA, 2019).

Tal afirmativa traz uma segurança quanto às normas de higiene do produto, visto que geralmente esses microrganismos aparecem quando não há um controle de limpeza, desinfecção, transporte, armazenamento e temperatura (BRUINI, 2019).

Quando se trata dos microrganismos denominados de coliformes termotolerantes – que estão dentro do grupo dos coliformes totais –, sua quantificação é também muito importante dentro da fabricação de alimentos. Em vista disso, as análises feitas resultaram na ausência de agentes patogênicos nas três saborizações. Este resultado nos permite ter uma maior segurança da higiene feita no processo de fabricação dos produtos (SILVA *et al.*, 2017).

Além disso, a quantificação de bolores e leveduras obtidos por este trabalho estão dentro da legislação microbiológica deste alimento. Destarte, tal resultado nos dá a premissa de que os produtos desenvolvidos foram fabricados de maneira adequada e de que não houve falha no processamento nem na estocagem, o que é importante principalmente em alimentos com $\text{pH} < 4$, em que estes microrganismos são de fácil crescimento (BRUINI, 2019).

6 CONCLUSÃO

A partir do presente trabalho, foi possível concluir que as kombuchas saborizadas com frutas amazônicas possuem um potencial de consumo importante. Isto se dá por uma interessante quantidade de nutrientes – como a vitamina C –, além da presença de antioxidantes e compostos fenólicos, em que, como no caso da saborização com o bacuri, a presença da polpa potencializou a quantificação de fenólicos da kombucha *in natura*. Além disso, todas as saborizações têm uma quantidade relevante de vitamina C, sendo uma alternativa de consumo dessas frutas, somada às características probióticas da bebida fermentada. Por fim, todas as preparações estão dentro da legislação que regulamenta a comercialização e fabricação deste produto, tornando-se possível o seu consumo pela população nortista, buscando valorizar a fruticultura local.

REFERÊNCIAS

- ABUDUAIBIFU, A.; TAMER, C. E. Evaluation of physicochemical and bioaccessibility properties of goji berry kombucha. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 43, n. 9, set. 2019.
- AKARCA, G. Determination of Potential Antimicrobial Activities of some Local Berries Fruits in Kombucha Tea Production. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64, p. e21210023, 2021.
- AMARASINGHE, H.; WEERAKKODY, N. S.; WAISUNDARA, V. Y. Evaluation of physicochemical properties and antioxidant activities of kombucha “Tea Fungus” during extended periods of fermentation. **Food Science & Nutrition**, v. 6, n. 3, p. 659–665, maio 2018.
- ANICETO, A. *et al.* Physicochemical Characterization, Antioxidant Capacity, and Sensory Properties of Murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth) and Taperebá (*Spondias mombin* L.) Beverages. **Molecules**, v. 26, n. 2, p. 332, 11 jan. 2021.
- ANTOLAK, H.; PIECHOTA, D.; KUCHARSKA, A. Kombucha Tea-A Double Power of Bioactive Compounds from Tea and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts (SCOBY). **Antioxidants (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 10, p. 1541, 28 set. 2021.
- ANVISA. **Resolução da Diretoria Colegiada RDC N° 241, DE 26 de julho de 2018**. Ministério da Saúde, 2018. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/34379910/do1-2018-07-27-resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-241-de-26-de-julho-de-2018-34379900>
- ANVISA. **Resolução RDC nº 60, de 23 de dezembro de 2019**. Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-331-de-23-de-dezembro-de-2019-235332272>>
- AOAC INTERNATIONAL. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 17. ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 2000.
- ARNOSO, B. J. DE M.; DA COSTA, G. F.; SCHMIDT, B. Biodisponibilidade e classificação de compostos fenólicos. **Nutrição Brasil**, v. 18, n. 1, p. 39, 4 ago. 2019.
- AUNG, T.; EUN, J.-B. Production and characterization of a novel beverage from laver (*Porphyra dentata*) through fermentation with kombucha consortium. **Food Chemistry**, v. 350, p. 129274, jul. 2021.
- BISHOP, P. *et al.* Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the chemical and flavor profile. **Food Chemistry Advances**, v. 1, p. 100025, out. 2022.
- BORTOLOMEDI, B. M.; PAGLARINI, C. S.; BROD, F. C. A. Bioactive compounds in kombucha: A review of substrate effect and fermentation conditions. **Food Chemistry**, v. 385, p. 132719, 15 ago. 2022.

BOTELHO, M. G. L. *et al.* Potencial produtivo e de mercado do fruto de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) no Pará, Brasil. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e989975124, 16 jun. 2020.

BRUINI, B. Aspectos físico-químicos e microbiológicos no processo de fabricação da Kombucha. **Engenho**, v. 11, n. 1, 2019.

CANDRA, A.; PRASETYO, B. E.; TARIGAN, J. B. **Study of vitamin C level of soursop leaves (*Annona muricata* L.) and galactomannan utilization in kombucha during fermentation**. Em: THE INTERNATIONAL CONFERENCE ON CHEMICAL SCIENCE AND TECHNOLOGY (ICCST – 2020): CHEMICAL SCIENCE AND TECHNOLOGY INNOVATION FOR A BETTER FUTURE. Medan, Indonesia: 2021. Disponível em: <<http://aip.scitation.org/doi/abs/10.1063/5.0045669>>. Acesso em: 14 jul. 2022

CARNAUBA, R. A. **Estimativa da ingestão de compostos bioativos pela população Brasileira**. Doutorado Direto em Nutrição Experimental—São Paulo: Universidade de São Paulo, 26 jan. 2021.

CHIMACTIV. **Determinação da atividade de um antioxidante pelo teste DPPH^o**. [s.d.]. Disponível em: <<http://chimactiv.agroparistech.fr/fr/aliments/antioxydant-dpph/principe>>

CORADIN, L.; CAMILLO, J.; PAREYN, F. G. C. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial - Plantas para o Futuro: Região Nordeste**. Ministério do Meio Ambiente, 2018. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/189688/1/Livro-Nordeste-1-2018.pdf>>

CUNNIFF, P.; AOAC INTERNATIONAL. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16. ed. [s.l.] Gaithersburg, 1997. v. 2

DADA, A. P. *et al.* Caracterização de kombucha elaborado a partir de chá verde. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e576101522992, 3 dez. 2021.

DÁRIO PETRY, A.; WESCHENFELDER, S. Benefícios e características da Kombucha: Uma revisão. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, v. 10, n. 1, p. 01–12, 5 jun. 2020.

DEĞIRMENCIOĞLU, N. *et al.* Impact of tea leaves types on antioxidant properties and bioaccessibility of kombucha. **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, n. 6, p. 2304–2312, jun. 2021.

DEPARTMENT OF FOOD SERVICE AND CATERING, POZNAŃ UNIVERSITY OF LIFE SCIENCES, POLAND *et al.* Research on the effect of culture time on the Kombucha tea beverage's antiradical capacity and sensory value. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, v. 15, n. 4, p. 447–457, 30 dez. 2016.

DIAS, R. *et al.* Recent advances in extracting phenolic compounds from food and their use in disease prevention and as cosmetics. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 61, n. 7, p. 1130–1151, 12 abr. 2021.

DUTTA, H.; PAUL, S. K. Kombucha Drink: Production, Quality, and Safety Aspects. Em: **Production and Management of Beverages**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 259–288.

EMBRAPA. **Multimídia: Banco de imagens. Polpa do cupuaçu in natura**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2015. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-imagens/-/midia/2657001/cupuacu.>>

EMBRAPA. **Multimídia: Banco de imagens. Fruto do Cupuaçu**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2016. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-imagens/-/midia/3016001/fruto-de-cupuacu.>>

EMBRAPA. **Multimídia: Banco de imagens. Fruto do Bacuri**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2017a. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-imagens/-/midia/3834001/fruto-do-bacurizeiro.>>

EMBRAPA. **Multimídia: Banco de imagens. Fruto do Taperebazeiro**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2017b. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-imagens/-/midia/3977003/tapereba.>>

FAVACHO, C. B. *et al.* **ELABORAÇÃO, ACEITABILIDADE E INTENÇÃO DE COMPRA DE IOGURTE SABORIZADO COM BACURI (*Platonia insignis* Mart) ACRESCENTADO DE CASTANHA DO PARÁ (*Bertholletia excelsa* Bonpl)**. CIÊNCIA, TECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO RURAL: COMPARTILHANDO CONHECIMENTOS INOVADORES E EXPERIÊNCIAS. **Anais...** Em: III CONGRESSO INTERNACIONAL DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS. Instituto Internacional Despertando Vocações, 2018. Disponível em: <<https://cointer-pdvagro.com.br/wp-content/uploads/2019/02/ELABORA%C3%87%C3%83O-ACEITABILIDADE-E-INTEN%C3%87%C3%83O-DE-COMPRA-DE-IOGURTE-SABORIZADO-COM-BACURI-Platonia-insignis-Mart-ACRESCENTADO-DE-CASTANHA-DO-PAR%C3%81-Bertholletia-excelsa-Bonpl.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2022

HE, L. *et al.* Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 44, n. 2, p. 532–553, 2017.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

JAKUBCZYK, K. *et al.* Evaluation of Fluoride and Selected Chemical Parameters in Kombucha Derived from White, Green, Black and Red Tea. **Biological Trace Element Research**, v. 199, n. 9, p. 3547–3552, set. 2021.

KANDI, S.; CHARLES, A. L. Statistical comparative study between the conventional DPPH spectrophotometric and dropping DPPH analytical method without spectrophotometer: Evaluation for the advancement of antioxidant activity analysis. **Food Chemistry**, v. 287, p. 338–345, jul. 2019.

KAYISOGLU, S.; COSKUN, F. Determination of physical and chemical properties of kombucha teas prepared with different herbal teas. **Food Science and Technology**, v. 41, n. suppl 1, p. 393–397, jun. 2021.

KHOSRAVI, S. *et al.* Development of fermented date syrup using Kombucha starter culture. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 43, n. 2, p. e13872, fev. 2019.

LAMARÃO, R. DA C.; FIALHO, E. Aspectos funcionais das catequinas do chá verde no metabolismo celular e sua relação com a redução da gordura corporal. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 2, p. 257–269, abr. 2009.

LANGI, P. *et al.* Carotenoids: From Plants to Food and Feed Industries. Em: BARREIRO, C.; BARREDO, J.-L. (Eds.). **Microbial Carotenoids**. Methods in Molecular Biology. New York, NY: Springer New York, 2018. v. 1852p. 57–71.

MACEDO, J. A. *et al.* Increasing the antioxidant power of tea extracts by biotransformation of polyphenols. **Food Chemistry**, v. 126, n. 2, p. 491–497, maio 2011.

MARQUES, C. S. *et al.* **Caracterização física e rendimento de frutos e endocarpos de taperebá (Spondias mombin L.) coletados em área urbana de Boa Vista-RR.** . Em: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGRONOMIA. Fortaleza: 2017.

MARQUES, C. S. *et al.* QUALIDADE AGROINDUSTRIAL DE FRUTOS DE TAPEREBAZEIROS (Spondias mombin L.) CULTIVADOS EM ÁREAS URBANAS DE BOA VISTA, RORAIMA. **Ambiente: Gestão e Desenvolvimento**, v. 11, n. 01, p. 296–307, 7 dez. 2018.

MARTÍNEZ LEAL, J. *et al.* A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. **CyTA - Journal of Food**, v. 16, n. 1, p. 390–399, jan. 2018.

MELO, F. DA S. *et al.* AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE POLPA E CONCENTRADO DE CUPUAÇU (THEOBROMA GRANDIFLORUMSCHUM) DA REGIÃO AMAZÔNICA / ASSESSMENT OF THE PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF PULP AND CUPUP CONCENTRATION (THEOBROMA GRANDIFLORUMSCHUM) OF THE AMAZON REGION. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 10462–10472, 2021.

MENDES, Y. C. *et al.* Evaluation of Growth, Viability, Lactic Acid Production and Anti-Infective Effects of Lacticaseibacillus rhamnosus ATCC 9595 in Bacuri Juice (Platonia insignis). **Foods**, v. 10, n. 3, p. 603, 12 mar. 2021.

MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426–428, 1 mar. 1959.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Instrução Normativa, nº41 de 17 de setembro de 2019**. Diário Oficial da União, 2019.

- MOUSAVI, S. M. *et al.* Recent Progress in Chemical Composition, Production, and Pharmaceutical Effects of Kombucha Beverage: A Complementary and Alternative Medicine. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM**, v. 2020, p. 4397543, 2020.
- MUSIAL, C.; KUBAN-JANKOWSKA, A.; GORSKA-PONIKOWSKA, M. Beneficial Properties of Green Tea Catechins. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 5, p. 1744, 4 mar. 2020.
- MUZAIFA, M. *et al.* **Kombucha Fermentation from Cascara with Addition of Red Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*): Analysis of Alcohol Content and Total Soluble Solid**. Em: INTERNATIONAL CONFERENCE ON TROPICAL AGRIFOOD, FEED AND FUEL (ICTAFF 2021). Samarinda, Indonesia: 2022. Disponível em: <<https://www.atlantispress.com/article/125968331>>. Acesso em: 15 jul. 2022
- NASCIMENTO, L. C. DO N.; LIMA, M. DE. **Influência de diferentes fontes de açúcar sobre as propriedades físicas do kombucha**. Em: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA. Uberlândia: 2019. Disponível em: <<https://www.semanticscholar.org/paper/INFLU%C3%8ANCIA-DE-DIFERENTES-FONTES-DE-A%C3%87%C3%9ACAR-SOBRE-AS-Nascimento-Lima/43c338e081e018ff5221d23e96e13556169f9a17>>
- NEFFE-SKOCIŃSKA, K. *et al.* Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. **CyTA - Journal of Food**, v. 15, n. 4, p. 601–607, 2 out. 2017.
- NHAN, H. T. H. *et al.* Development of a fermented beverage from white mulberry juice using the kombucha consortium. **Journal of Technical Education Science**, v. 60, p. 49–57, 2020.
- ORNELLAS, R. M. S. *et al.* Selection of Lactic Acid Bacteria with Probiotic Potential Isolated from the Fermentation Process of “Cupuaçu” (*Theobroma grandiflorum*). Em: DONELLI, G. (Ed.). **Advances in Microbiology, Infectious Diseases and Public Health**. Advances in Experimental Medicine and Biology. Cham: Springer International Publishing, 2017. v. 973p. 1–16.
- PELAIS, A. C. A. *et al.* Viabilidade de bactérias probióticas do gênero *Lactobacillus* em néctar de taperebá: efeito nas propriedades físico-químicas e sensoriais. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 25945–25960, 2020.
- PEREIRA, A. L. F. *et al.* Impact of fermentation conditions on the quality and sensory properties of a probiotic cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) beverage. **Food Research International**, v. 100, p. 603–611, out. 2017.
- PICCIRILLO, E.; AMARAL, A. BUSCA VIRTUAL DE COMPOSTOS BIOATIVOS: CONCEITOS E APLICAÇÕES. **Química Nova**, 2018.
- PRIMIANI, C. N. *et al.* Kombucha fermentation test used for various types of herbal teas. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 1025, p. 012073, maio 2018.

SANCHES, A. G. *et al.* 1-METILCICLOPROPENO NA MANUTENÇÃO DA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE TAPEREBÁ (*SPONDIA MOMBIN* L.). **REVISTA DE AGRICULTURA NEOTROPICAL**, v. 4, n. 2, p. 56–62, 27 jun. 2017.

SANTOS, R. M. B. DOS *et al.* Cadeia de produção do camu-camu (*myrciaria dubia* (kunth) mc vaugh): o caso das regiões produtoras de loreto e ucayali na amazônia peruana. **Interciencia**, v. 43, n. 4, p. 261–268, 2018.

SILVA, N. *et al.* **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 5. ed. São Paulo: Blucher, 2017.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagent. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144–158, 1965.

SIRIVIBULKOVIT, K.; NOUANTHAVONG, S.; SAMEENOI, Y. Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis. **Analytical Sciences**, v. 34, n. 7, p. 795–800, 10 jul. 2018.

SOARES, M. G.; DE LIMA, M.; REOLON SCHMIDT, V. C. Technological aspects of kombucha, its applications and the symbiotic culture (SCOBY), and extraction of compounds of interest: A literature review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 110, p. 539–550, abr. 2021.

SOUZA, V. R. *et al.* Fruit-based drink sensory, physicochemical, and antioxidant properties in the Amazon region: Murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth and *verbascifolia* (L.) DC) and tapereba (*Spondia mombin*). **Food Science & Nutrition**, v. 8, n. 5, p. 2341–2347, maio 2020.

STROHECKER, R.; A, H. M. **Análises de vitaminas: Métodos comprovados**. Madrid: Editora Paz Montalvo, 1967.

TANG, Z. *et al.* A Review on Fruit and Vegetable Fermented Beverage-Benefits of Microbes and Beneficial Effects. **Food Reviews International**, p. 1–38, 31 jan. 2022.

TATIPAMULA, V. B.; KUKAVICA, B. Phenolic compounds as antidiabetic, anti-inflammatory, and anticancer agents and improvement of their bioavailability by liposomes. **Cell Biochemistry and Function**, v. 39, n. 8, p. 926–944, dez. 2021.

TREVIÑO-GARZA, M. *et al.* Production of Microbial Cellulose Films from Green Tea (*Camellia Sinensis*) Kombucha with Various Carbon Sources. **Coatings**, v. 10, n. 11, p. 1132, 22 nov. 2020.

TSUKUI, A. *et al.* **Influência da integridade dos frutos de taperebá (*Spondias mombin* L.) in natura na qualidade da polpa congelada**. Em: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA. Búzios: Associação Brasileira de Engenharia Química, 2012.

VIEIRA, M. C.; TEIXEIRA, A. A.; SILVA, C. L. M. Mathematical modeling of the thermal degradation kinetics of vitamin C in cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) nectar. **Journal of Food Engineering**, v. 43, n. 1, p. 1–7, jan. 2000.

WANG, S. *et al.* Effect of synthetic microbial community on nutraceutical and sensory qualities of kombucha. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 55, n. 10, p. 3327–3333, out. 2020.

ZOU, C. *et al.* Zijuan tea- based kombucha: Physicochemical, sensorial, and antioxidant profile. **Food Chemistry**, v. 363, p. 130322, nov. 2021.