

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**JOYCE SANTOS DE SOUZA**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA BEBIDA FERMENTADA KOMBUCHA**

**CAMPO MOURÃO**

**2022**

**JOYCE SANTOS DE SOUZA**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA BEBIDA FERMENTADA KOMBUCHA**

**PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF KOMBUCHA FERMENTED  
BEVERAGE**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Dra. Eliane Sloboda Rigobello

**CAMPO MOURÃO  
2022**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**JOYCE SANTOS DE SOUZA**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA BEBIDA FERMENTADA KOMBUCHA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 08/junho/2022

---

Dra. Eliane Sloboda Rigobello  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Dr. Fábio Henrique Polisel Scopel  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Dra. Márcia Regina Ferreira Geraldo Perdoncini  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**CAMPO MOURÃO  
2022**

## RESUMO

Em geral, os consumidores não priorizam apenas os aspectos sensoriais dos alimentos, mas também se preocupam com os benefícios e funções que um produto pode proporcionar. A bebida fermentada de kombucha é consumida em diversos países. É feita a partir de uma infusão de folhas de chá, geralmente verde ou preto, e fermentado por uma combinação simbiótica de bactérias e leveduras para formar o SCOBY. Seu consumo está aumentando dia a dia devido ao seu sabor, propriedades antioxidantes dos extratos de chá e efeitos benéficos das bactérias fermentativas à saúde humana. No ponto de vista de que a kombucha possa ser um alimento funcional, esse trabalho tem como objetivo de caracterizar o fermentado da Kombucha a base de chá verde (*Camellia Sinensis*) e sacarose avaliando a qualidade físico-química em condições ambiente de temperatura e pressão. As análises foram feitas a partir do chá verde e da kombucha no tempo zero, na primeira fermentação aeróbia com 7 dias. As análises físico-químicas foram pH, acidez total, Brix, açúcares redutores, compostos fenólicos totais e flavonoides. O valor médio de acidez da kombucha com 7 dias de fermentação foi de 1,06g/L em ácido acético corroborando com os níveis indicados pela literatura para uma bebida de sabor agradável. O pH diminuiu de 4,3 para 3,3 e a acidez aumentou de 0,61 para 1,06 g/L em relação ao início da fermentação. O grau Brix diminuiu de 4,0 para 3,6, indicando menor concentração de sólidos solúveis no líquido da kombucha final. Foi verificado que o teor de açúcares redutores aumentou após 7 dias de fermentação. A concentração de compostos antioxidantes manteve-se praticamente constante ao final do processo fermentativo de 7 dias, indicando ser uma bebida rica nesses compostos. Diante dos estudos, recomenda-se realizar o monitoramento do processo fermentativo durante vários dias, acima de 7 dias, e em diferentes condições experimentais, de forma a serem estabelecidos padrões de produção para a obtenção de um produto final com as características sensoriais e nutricionais desejáveis.

Palavras-chave: kombucha; chá verde; scoby; *Camellia sinensis*; caracterização.

## ABSTRACT

In general, consumers do not only prioritize the sensory aspects of food, but are also concerned about the benefits and functions that a product can provide. The fermented kombucha drink is consumed in several countries. It is made from an infusion of tea leaves, usually green or black, and fermented by a symbiotic combination of bacteria and yeast to form the "tea fungus". Its consumption is increasing day by day due to the delicious taste, antioxidant properties of tea extracts and beneficial effects of fermentative bacteria on human health. From the point of view that Kombucha can be a functional food, this work aims to develop and characterize the fermented Kombucha based on green tea (*Camellia sinensis*), evaluating the physicochemical quality under ambient conditions of temperature and pressure. Analyzes were made of green tea and kombucha at time zero, in the first 7-day aerobic fermentation. The physicochemical analyzes were pH, total acidity, Brix, reducing sugars, total phenolic compounds and flavonoids. The average acidity value of kombucha with 7 days of aerobic fermentation of 1.06g/L in acetic acid corroborated the levels indicated in the literature and a pleasant-tasting drink. The pH decreased from 4.3 to 3.3 and the acidity increased from 0.61 to 1.06 g/L in relation to the beginning of fermentation. The degree Brix decreased from 4.0 to 3.6, indicating a lower concentration of soluble solids in the final kombucha liquid. It was found that the content of reducing sugars increased after 7 days of fermentation, which is consistent with the literature. The concentration of antioxidant compounds remained practically constant at the end of the 7-day fermentation process, indicating that it is a drink rich in these compounds. In view of the studies, it is recommended to monitor the fermentation process for several days, over 7 days, and under different experimental conditions, in order to establish production standards to obtain a final product with the desirable sensory and nutritional characteristics.

Keywords: kombucha; Green Tea; scoby; *Camellia sinensis*; description.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>7</b>
<b>2.1</b>	<b>Kombucha .....</b>	<b>7</b>
<b>2.2</b>	<b>Chá <i>Camellia sinensis</i>.....</b>	<b>8</b>
<b>2.3</b>	<b>Microrganismos presentes na kombucha.....</b>	<b>9</b>
<b>2.4</b>	<b>Composição química da kombucha .....</b>	<b>9</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>12</b>
<b>3.1</b>	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>12</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>13</b>
<b>4.1</b>	<b>Preparação da Kombucha .....</b>	<b>13</b>
<b>4.2</b>	<b>Análise do pH.....</b>	<b>14</b>
<b>4.3</b>	<b>Análise da acidez total .....</b>	<b>14</b>
<b>4.4</b>	<b>Análise de sólidos solúveis.....</b>	<b>15</b>
<b>4.5</b>	<b>Açúcares redutores .....</b>	<b>15</b>
<b>4.5.1</b>	<b>Análise de açúcares redutores .....</b>	<b>15</b>
<b>4.6</b>	<b>Análise do conteúdo de compostos fenólicos .....</b>	<b>16</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>17</b>
<b>5.1</b>	<b>Acidez, pH e Brix .....</b>	<b>17</b>
<b>5.2</b>	<b>Açúcares redutores e redutores totais.....</b>	<b>19</b>
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>24</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>25</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O consumidor em geral não só prioriza o aspecto sensorial do alimento, mas também se preocupa com os benefícios e funcionalidades que o produto pode proporcionar (MAIA; SANTOS, 2005).

Devido a influência que uma alimentação saudável causa na qualidade de vida do ser humano, ocorreu um grande avanço nas áreas de ciência e tecnologia de alimentos, com o objetivo de produzir alimentos capazes de melhorar o bem-estar (RONCONI, 2009).

A Kombucha é uma bebida consumida em todo o mundo como refresco, ou tônico, devido aos seus supostos efeitos benéficos a saúde. Em sua composição há presença de alguns probióticos, como bactérias acéticas, polifenóis, açúcares, ácidos orgânicos, etanol, vitaminas hidrossolúveis e micronutrientes (MALBAŠA *et al.*, 2008).

A Kombucha é uma bebida doce fermentada à base de chá verde ou preto, de origem asiática, na Manchúria, nordeste da China, cerca de 220 a.C., conhecida na época como chá da imortalidade (JAYABALAN *et al.*, 2014).

A bebida é resultado da fermentação de uma associação simbiótica de bactérias e leveduras que formam uma película denominada SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts*) que realizam diversas reações durante sua fermentação (CHEN; LIU, 2000). Essa película é composta de microrganismos aglomerados em uma massa de celulose, que ao consumirem o açúcar presente no meio onde são inseridos, começam a produzir ácidos orgânicos, etanol, vitaminas hidrossolúveis e uma diversidade de micronutrientes como cobre, ferro, manganês, níquel e zinco; vitaminas hidrossolúveis, como a vitamina C e várias vitaminas do complexo B; dióxido de carbono; substâncias antibióticas; e enzimas (JAYABALAN *et al.*, 2014; SANTOS, 2018).

Para a produção de Kombucha é usado tradicionalmente o chá preto, mas o chá verde também pode ser utilizado como base (SANTOS, 2016). Os benefícios conferidos ao uso do chá são devidos a presença de antioxidantes, principalmente a catequina derivada dos polifenóis, que atuam na prevenção de doenças (LEAL *et al.*, 2018).

No ponto de vista de que a Kombucha possa ser um alimento funcional, esse trabalho tem como objetivo de caracterizar o fermentado da Kombucha a base de chá verde.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Kombucha

A bebida fermentada da kombucha é consumida em vários países. É feita a partir da infusão das folhas de chá, geralmente o verde ou preto, e pela fermentação de uma associação simbiótica de bactérias e leveduras formando “fungo do chá” (CHEN; LIU, 2000). O seu sabor é levemente ácido e carbonatado fazendo com que haja uma grande aceitação da parte dos consumidores (LEAL *et al.*, 2018).

Ao chá adoçado é adicionado um volume de Kombucha já pronta e um SCOBY, chamada de “mãe da Kombucha”, a qual acondiciona bactérias e leveduras, responsáveis pelo processo de fermentação, que flutua como um biofilme na superfície do meio líquido (PALUDO, 2017; SANTOS, 2016). O tempo de fermentação geralmente é de 7 a 10 dias e, se for muito prolongado, a kombucha desenvolve um sabor avinagrado mais intenso (SANTOS, 2016).

As características, tanto sensorial quanto química, da bebida fermentada diferem muito pois estão vinculadas a fatores como o tipo e a concentração de chá e de açúcar utilizado como base, o tempo de fermentação e os microrganismos presentes no SCOBY (PALUDO, 2017).

Pressupõe-se que a Kombucha foi usada pela primeira vez, devido à seus benefícios terapêuticos, em 220 a.C. na Ásia Oriental. Porém, ela se originou em Manchúria (nordeste da China) durante o Tsin Dynaty (Ling Chi) pelas suas propriedades antioxidantes e revigorantes (JAYABALAN *et al.*, 2016).

Um médico chamado Kombu levou a bebida para o Japão em 414 d.C., e a usou para tratar problemas digestivos do imperador Inkyo, dando origem ao nome “kombucha” ou “chá de Kombu” (SANTOS, 2016). Além de Kombucha, o produto recebeu outros nomes, como Chá Fungo, durante sua entrada em vários países (GREENWALT *et al.*, 2000).

Hoje, a Kombucha é vendida no mundo todo em lojas de varejo de alimentos em diversos sabores e a cultura da Kombucha é vendido em site de compras online (JAYABALAN *et al.*, 2014).



Seu consumo está aumentando dia a dia devido ao sabor agradável, propriedades antioxidantes dos extratos de chá e efeitos benéficos das bactérias fermentativas à saúde humana ( KAYISOGLU; COSKUN, 2021).

De acordo com a Instrução Normativa nº 41/2019 (BRASIL, 2019), publicada no Diário Oficial da União em setembro de 2019, o Brasil se tornou o primeiro país do mundo a possuir uma legislação específica referente a kombucha. Na qual o pH pode variar de 2,5 a 4,2; acidez volátil de 30 a 130 mEq/L, Pressão (atm a 20°C) na kombucha adicionada de CO<sub>2</sub> de 1,1 a 3,9 e teor alcoólico no rótulo dos produtos (se contiver álcool acima de 0,5% v/v), fica proibido o uso de expressões que atribuam características de qualidades superlativas e propriedades funcionais. A legislação também autorizada o uso de processos tecnológicos adequados para a produção da kombucha, como pasteurização, filtração e ultracentrifugação e veda a adição de microrganismos após o processo de fermentação.

## **2.2 Chá *Camellia sinensis***

*Camellia sinensis* tem uma grande importância econômica e cultural e é cultivada em mais de 30 países tropicais e subtropicais (HAMPTON,1992).

Os chás produzidos a partir das folhas da *C. sinensis* são classificados em três tipos de acordo com o processo de fabricação: fermentado (preto), não fermentado (verde) e o semifermentado (oolong) (TANAKA *et al.*, 2003).

A produção do chá verde é a partir das folhas frescas da planta que sofre uma inativação rápida da enzima polifenol oxidase através da vaporização e secagem que mantém conservado seu teor de polifenóis (SENGER *et al.*, 2010).

O chá preto emprega folhas envelhecidas pela oxidação aeróbica das catequinas, tendo baixa concentração de catequinas e alta concentração de teaflavinas (BATISTA, 2019). Já o oolong é obtido após as folhas da planta ficarem de duas a quatro horas de repouso e depois são aquecidas para que haja a interrupção do processo oxidativo (SENGER *et al.*, 2010).

Os benefícios do chá são correspondentes ao seu conteúdo em polifenóis. Uma bebida preparada por infusão com 1 grama de erva para 100 ml de água, contém geralmente de 250 a 350 mg de sólidos solúveis do chá, sendo de 30 a 42% do peso em catequinas e 3 a 6% em cafeína (NISHIYAMA *et al.*, 2010).

Alguns estudos realizados mostraram que os polifenóis presentes no chá verde apresentam bioatividades importantes em certas patologias como diabetes melitus, cardiopatias, infecções virais, inflamações e em doenças degenerativas, como o câncer e o envelhecimento (HAN *et al.*, 2004).

### **2.3 Microrganismos presentes na kombucha**

A microbiota da Kombucha encontra-se dispersa no líquido e é acomodada na “mãe da kombucha ou SCOBY”, película gelatinosa celulósica que se forma na superfície do líquido e é responsável pela fermentação do chá (SANTOS, 2016).

Da mesma forma que o Kefir, derivado do leite, a composição microbiológica da Kombucha varia bastante dependendo da fonte do inóculo para a fermentação (JAYABALAN *et al.*, 2014).

As principais bactérias presentes na kombucha são as acéticas, entre elas encontramos as *Acetobacter xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Acetobacter aceti* e *Acetobacter pasteurianus*, porém a composição pode variar pelas condições da fermentação e também pela função do tempo e temperatura (MOURA, 2019).

Além das bactérias acéticas, existem muitas espécies de leveduras na kombucha. Um amplo espectro foi relatado, incluindo espécies de *Saccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Brettanomyces/Dekkera*, *Candida*, *Torulospora*, *Kolekera*, *Pichia*, *Mycotorula* e *Mycoderma* (Jayabalan *et al.*, 2014).

Mayser *et al.* (1995), observaram que havia baixa contaminação de microrganismos patogênicos na Kombucha concluindo que a bebida poderia ser preparada em casa com segurança. No entanto, recomenda-se a utilização de equipamentos limpos, resfriamento do chá rapidamente e diminuição rapidamente do pH pela adição do starter da Kombucha (fermentado acético) a cada lote, para reduzir o risco de contaminação por esses e outros organismos deletérios (GREENWALT *et al.*, 2000).

### **2.4 Composição química da kombucha**

A composição química da kombucha varia tanto quantitativa e qualitativamente, isso porque depende de fatores como o tempo de fermentação, substratos utilizados

no chá inicial e dos microrganismos que estão presentes no inóculo (COELHO *et al.*, 2020).

Enquanto os microrganismos fermentam o substrato, as enzimas produzidas pelas leveduras fragmentam a sacarose em glicose e frutose e convertem esses monômeros em etanol e dióxido de carbono, após isso, as enzimas bacterianas oxidam o etanol, gerando ácido acético que resulta em um ambiente de pH baixo (PALUDO, 2017; MAY *et al.*, 2019)

No que se refere aos açúcares, a sacarose é comumente usada na produção da Kombucha, a qual também é utilizada como substrato carbonatado pelos microrganismos (VILLARREAL-SOTO *et al.*, 2018). Santos *et al.* (2018), relataram que Kombuchas a base de chá preto e 15%(p/v) de açúcar demerara, com 4 dias de fermentação à temperatura ambiente de 28 °C e 3 dias de maturação a 5°C, apresentaram valores de 3,21 mg/100g para açúcares totais e 2,75 mg/100g de açúcares redutores, indicando que durante a fermentação as leveduras e bactérias acéticas hidrolisaram os açúcares não redutores das infusões, transformando-os em glicose e frutose. Segundo Tu *et al.* (2019), o teor de açúcares redutores totais aumentou ligeiramente no primeiro dia, onde depois houve uma diminuição de 9,68 a 1,37 mg/mL, interrompido no terceiro dia, após isso o teor de açúcares redutores totais variou de 1,24 a 1,83 mg/mL.

Em estudos feitos por Kallel *et al.* (2012), a concentração da sacarose diminuiu linearmente em meios de Kombucha com chá verde durante o período de fermentação de duas semanas em 2,3 g/dia. L. O etanol e equivalentes de acetato e celulose aumentaram linearmente durante a fermentação em 0,17, 0,35 e 0,50 g/dia.L. Da mesma forma, a concentração de glicose + frutose na Kombucha de chá verde aumentou linearmente durante os primeiros estágios da fermentação antes de cair no 9º dia e no 12º com chá preto, sugerindo uma mudança na fonte de carbono.

O ácido acético é o composto químico responsável pelo aroma ácido e sabor de vinagre na kombucha, sua concentração aumenta na bebida, chegando a 11g/L após 30 dias de fermentação e diminui gradativamente até terminar em 8g/L após 60 dias (COELHO *et al.*, 2020).

Em relação aos polifenóis, os mais comumente encontrados são epicatequina (EC), epigallocatequina (EGC), epicatequina galato (ECG) e epigallocatequina galato (EGCG) (MANACH *et al.*, 2004; VALENZUELA, 2004).

Segundo Kallel *et al.* (2012), a concentração de fenólicos totais, no dia zero, foi igual a 0,78 g/L e durante as duas semanas de fermentação os fenólicos aumentaram moderadamente, e no décimo quinto dia o valor foi para 1,08 g/L. Jayabalan *et al.* (2008) determinaram valores de 0,85 g/L de concentração inicial, e após dezoito dias de fermentação a concentração foi igual a 1,25 g/L de fenólicos totais.

Cardoso *et al.* (2020), no total identificaram por *UPLC/MS* (Sistema de Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplado a Espectrometria de Massa) 127 compostos antioxidantes (70,2% flavonoides, 18,3% ácidos fenólicos, 8,4% outros polifenóis, 2,3% ligninas e 0,8% estilbenos), com 103 compostos fenólicos relatados pela primeira vez em kombuchas. Uma maior diversidade e abundância de compostos fenólicos foi detectada na kombucha de chá preto, o que resultou em maior capacidade antioxidante. No entanto, a kombucha de chá verde foi a única que apresentou atividade antibacteriana contra todas as bactérias testadas e atividade antiproliferativa aumentada contra as linhagens de células cancerosas, o que foi atribuído à presença de catequinas entre os compostos mais abundantes. Assim, o tipo de chá usado na produção da kombucha interfere na sua composição bioativa.

A bebida fermentada também apresenta minerais originados do chá como potássio, manganês e íons de fluor, vitaminas E, K e B, aminoácidos, especialmente a teanina derivada da glutamina, além de outros componentes que são formados como resultado de inúmeras reações que ocorrem durante a fermentação (JAKUBCZYK *et al.*, 2020).

Entre essas e outras propriedades a kombucha é uma bebida considerada saudável e de sabor agradável.

### **3 OBJETIVO GERAL**

Caracterizar as propriedades físico-químicas da bebida fermentada kombucha a base de chá verde.

#### **3.1 Objetivos específicos**

- Produzir a bebida fermentada kombucha a base de chá verde e açúcar cristal comercial (sacarose);
- Analisar o pH, acidez total, acidez de ácido acético, açúcares redutores, grau Brix, compostos fenólicos totais e flavonoides no tempo zero e após fermentação;
- Comparar os resultados obtidos com a literatura.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Preparação da Kombucha

A base de chá verde (*Camellia Sinensis*) foi preparada com adaptações da metodologia descrita por Paludo (2017). Uma parte do total da água filtrada, não clorada, foi fervida, e em seguida adicionado as folhas de chá verde a granel, necessário (5g/L) para preparar 7,5 L de kombucha. Esperou-se 15 minutos de infusão e em seguida o chá foi coado em peneira fina. Foi adicionado ao chá, açúcar cristal branco (50g/L). O chá doce foi dividido em partes iguais em três frascos de vidro esterilizado com capacidade de 3 L. Após, completou-se o volume de 2,5L, em cada frasco, com água filtrada livre de cloro e 10% de starter da kombucha pronta, e um SCOBY (adquirido de uma família produtora dessa bebida na cidade de Campo Mourão – Pr) . O frasco de vidro foi coberto com papel toalha e um elástico para que a cultura pudesse receber oxigênio e protege-la de insetos e contaminações no ar, como mostrado na Figura 1.

O vidro foi deixado em um local arejado e onde não incidia luz diretamente. A fermentação foi feita a uma temperatura ambiente de 25 a 27 °C por 7 dias.

Para as coletas das amostras, a Kombucha de tempo zero foi coletada logo após a inoculação do starter e após 7 dias houve uma nova coleta. As amostras foram feitas em triplicatas cada uma coletada de cada frasco de 3 L.

Figura 1 – Primeira fermentação da kombucha.



Fonte: Autor, 2022.

## 4.2 Análise do pH

O pH foi determinado utilizando o pHmetro de acordo com o método 017/IV do Instituto Adolf Lutz (2008). Mergulhou-se o eletrodo diretamente uma certa quantidade de amostra de kombucha em um béquer.

## 4.3 Análise da acidez total

A acidez foi determinada pelo método 016/IV do Instituto Adolf Lutz (2008). Foi pipetado 2 ml da amostra e transferida para um enlarmeyer de 150 ml com 20 ml de água deionizada, após foi adicionado 3 gotas de fenolftaleína. Essa solução foi titulada com hidróxido de sódio 0,1 mol/L até seu ponto de viragem. Devido a coloração da amostra, houve uma dificuldade para a visualização do ponto de viragem, a titulação foi realizada com auxílio de pHmetro até pH 8,1.

Acidez Total titulável foi calculada conforme a Equação 1.

$$\text{Acidez total titulável (A\%)} = \frac{V.F.M.PM}{10.P.n} \cdot 100 \quad (1)$$

Onde: A= Acidez total titulável (%), em g de ácido orgânico por cento (m/m ou m/v); V= Volume gasto de NaOH na titulação (mL); F= Fator de correção da solução de NaOH; M= molaridade da solução de NaOH; PM= Peso molecular do ácido correspondente (g); P= Massa da amostra (g); N= Número de hidrogênios ionizáveis.

#### 4.4 Análise de sólidos solúveis

Os sólidos solúveis foram determinados de acordo com o método 010/IV do Instituto Aldof Lutz (2008), utilizando refratômetro digital.

#### 4.5 Açúcares redutores

A determinação quantitativa dos açúcares redutores foi realizada pelo método 177/IV dos Métodos físico-químicos para análise de alimentos (ZENE BON *et al.*, 2008).

##### 4.5.1 Análise de açúcares redutores

Foram transferidos 50 ml de Kombucha para um balão volumétrico de 100 ml e o volume completado com água purificada pelo Sistema Mili-Q e neutralizada com solução NaOH. Em balão de vidro, do aparelho determinador de açúcares redutores (reduotec) (Figura 2), foram adicionadas com auxílio de pipetas de 10 ml, cada uma das soluções de Fehling A e B, com 20 ml de água e 2 gotas de azul de metileno a 1%, formando uma solução azul a qual foi aquecida até a ebulição. Em seguida foi adicionada gota a gota, a Kombucha que estava acondicionada na bureta sobre a solução do balão em ebulição, até que ocorresse mudança brusca de potencial elétrico e a solução azul se tornasse incolor formando um precipitado vermelho de  $\text{Cu}_2\text{O}$ . As análises foram feitas em duplicata.

Figura 2: Determinador de açúcares redutores.





Fonte: Autor, 2022.

#### 4.6 Análise do conteúdo de compostos fenólicos

As amostras de chá e kombucha foram analisados quanto ao teor de fenólicos totais segundo o método de Folin-Ciocalteu. Para a sua determinação foram utilizados 30  $\mu\text{L}$  de extrato, 2.370  $\mu\text{L}$  de água e 150  $\mu\text{L}$  do reagente Folin-Ciocalteu. A solução foi homogeneizada, e após 2 minutos foram adicionados 450  $\mu\text{L}$  de carbonato de sódio 15 % (aq). Após 2 horas, foi feita a leitura da absorbância das amostras a 765 nm (SIGLETON; ROSSI, 1965). Para a quantificação do teor de fenólicos totais, foi usada uma curva padrão de ácido gálico (AG) apresentada na Figura 10, com os valores de concentração de 100 a 1500 mg/L e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por 100 g de amostra (mg EAG 100/g).

#### 4.7 Análise do conteúdo de flavonoides totais

Para a análise do teor de flavonoides foram utilizados 250  $\mu\text{L}$  da amostra, 1.000  $\mu\text{L}$  de água e 75  $\mu\text{L}$  de nitrito de sódio 5% (aq). A solução foi agitada, após 5 minutos foram adicionados 75  $\mu\text{L}$  de cloreto de alumínio 10%(aq) e após 6 minutos foram adicionados 500  $\mu\text{L}$  de hidróxido de sódio 1 mol/L (aq). A leitura da absorbância das amostras ocorreu em 510 nm (ANNEGOWDA et al., 2013). Foi usada uma curva

padrão de catequina (C), com os valores de concentração de 15, 100, 200, 300, 375 e 450 mg/L e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de catequina por cem gramas de amostra (mg EC 100/g). Os tubos de ensaio utilizados foram embrulhados no papel alumínio e as análises foram feitas em triplicata.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Acidez, pH e Brix

Os valores obtidos acidez, pH e Brix do chá e da Kombucha ao longo da fermentação estão descritos na tabela 1:

**Tabela 1 – Valores médios dos parâmetros físico-químicos da fermentação do chá verde.**

Amostra	% acidez molar total (v/m)	Ácido acético (g/L)	Média Ácido acético (g/L)	DP (Desvio padrão)	pH	Média pH	Brix	Média Brix
Chá 5g/L	0,048	0,29			5,48		5,5	
	0,034	0,20	0,26	0,05	5,52	5,53	5,6	
	0,050	0,30			5,60		5,5	5,5
Kombucha tempo zero	0,095	0,57			4,30		4,1	
	0,130	0,78	0,61	0,15	4,20	4,30	4	
	0,080	0,48			4,40		3,9	4,0
Kombucha 7 dias	0,218	1,31			3,30		3,6	
	0,163	0,98	1,06	0,22	3,35	3,35	3,6	
	0,150	0,90			3,39		3,5	3,6

Fonte: Autoria própria (2022).

Observa-se que o pH do chá ainda não inoculado foi de 5,53 e a Kombucha do tempo zero registrou um pH de 4,3 devido a adição do starter (SCOBY) que já apresenta um pH ácido. Após 7 dias da fermentação, houve um decréscimo no pH onde a bebida registrou um pH de 3,35 (Tabela 1). Esses resultados estão de acordo com os registrados por Perito *et al.* (2022) que obtiveram pH de 4,39 no início da fermentação e 3,5 no sétimo dia e Cardoso *et al.* (2020) determinaram pH de 3,2 e 3,5 para a kombucha de chá verde e preto, respectivamente, e de acordo com a Instrução Normativa nº 41/2019 (BRASIL, 2019) que o pH pode variar de 2,5 a 4,2. Valores abaixo de pH 2,5 têm uma alta concentração de ácido acético, colocando em risco a

saúde dos consumidores. Da mesma forma, o pH > 4,2 podem comprometer a segurança microbiológica da bebida.

A acidez elevada decorre da produção de vários ácidos orgânicos durante a fermentação do chá sendo os principais o ácido acético e o ácido glucônico (CHAKRAVORTY *et al.*, 2016).

Com isso pode-se perceber que nos resultados apresentados na Tabela 1, a acidez média em ácido acético aumentou de 0,61 g/L no tempo zero (início da fermentação) para 1,60 g/L com 7 dias de fermentação, enquanto foi observado que no chá não inoculado a porcentagem era de 0,26 g/L, corroborando com o valor de pH que diminuiu durante o processo fermentativo. De acordo com Velicanski *et al.* (2014) a bebida será sensorialmente agradável, com sabor menos ácido, quando a fermentação terminar com acidez total entre 4 a 5 g/L. Mas isso depende do gosto de cada consumidor.

Jayabalan *et al.* (2007) não detectou no primeiro dia de fermentação um valor de ácido acético e em 7 dias de fermentação encontraram um valor próximo do encontrado nesse trabalho sendo de 1,64 g/L, utilizando o mesmo substrato chá verde para a produção da bebida.

Em Cardoso *et al.* (2020) a kombucha de chá verde apresentou uma acidez total de 0,36% (p/v ácido acético) e na de chá preto 0,32% com 10 dias de fermentação. Sendo neste estudo obtido uma média de 0,18% com 7 dias de fermentação da kombucha com chá verde, valor próximo do autor.

Na kombucha os ácidos orgânicos são geralmente obtidos através do processo fermentativo, realizado pela simbiose de bactérias e leveduras. No entanto, a composição da comunidade microbiana, temperatura de fermentação, concentração dos reagentes, e outros parâmetros podem variar durante o processo, isso pode refletir em uma variação dos valores de acidez total. A concentração e composição dos diferentes ácidos orgânicos, especialmente a proporção de ácido acético para ácido glucônico, é determinante no sabor e aroma dos produtos. A variação dos valores de acidez total entre as triplicatas das amostras analisadas sugere uma dificuldade na padronização no processo de fabricação.

Pela tabela 1 verifica-se que os sólidos solúveis (grau Brix) diminuiu no decorrer da fermentação. O teor de sólidos solúveis totais é explicado pela concentração de açúcares adicionada no chá utilizada como substrato no processo fermentativo (DADA *et al.*, 2021; JANUÁRIO *et al.*, 2019) e pela adição do chá. Neste

trabalho, observou-se um declínio no conteúdo de sólidos (Tabela 1), provavelmente devido ao consumo do açúcar.

## 5.2 Açúcares redutores

Na tabela 2 constam os resultados das análises dos açúcares redutores (AR) durante a fermentação.

**Tabela 2 – Valores médios de açúcares redutores durante a fermentação.**

AMOSTRA	Açúcares redutores (%m/V)	Açúcares redutores g/L
Chá 5g/L e 50g/L de açúcar	0,171 ± 0,021	1,71 ± 0,021
Kombucha 5 g/L chá e 50g/L açúcar tempo zero	0,170 ± 0,003	1,70 ± 0,003
Kombucha 5 g/L chá e 50g/L açúcar tempo 7 dias	1,004 ± 0,07	10,04 ± 0,07

Fonte: Aatoria própria (2022).

O teor de açúcar redutor indica que durante o processo de fermentação as leveduras e bactérias acéticas, hidrolisam os açúcares não redutores (sacarose) na kombucha, convertendo-os em glicose e frutose ( SANTOS *et al.*, 2018). Neste estudo foi observado um acréscimo no conteúdo de açúcares redutores de 1,70 g/L para 10,04 g/L do tempo zero ao sétimo dia de fermentação.

No entanto, de acordo com Jaybalan *et al.* (2014), o açúcar, uma fonte de carbono importante, onde grande parte da sacarose não é totalmente consumida nos 7 primeiros dias de fermentação, também é um constituinte majoritário na kombucha, bem como os produtos de sua hidrólise por leveduras: glicose e frutose. O autor afirma que a sacarose restante pode ser utilizada pelas bactérias acéticas como fonte de carbono para produzirem uma rede de celulose como metabólito secundário da fermentação, dando origem a um novo SCOBY, principalmente as bactérias *Acetobacter xylinum*.

Perioto *et al.* (2022) analisaram o conteúdo de açúcares redutores e obtiveram valores de açúcares redutores próximos de 45 g/L no tempo zero de fermentação e de aproximadamente 120 g/L no sétimo dia, mais que o dobro da concentração inicial.

Essa hidrólise inicial da sacarose é atribuída à ação das leveduras. Com a progressão da fermentação, as leveduras utilizam o açúcar de modo anaeróbico para produzir etanol, enquanto as bactérias acéticas utilizam o açúcar e o etanol para produzir ácido glucônico e ácido acético, respectivamente.

Assim, observa-se uma variabilidade no teor de açúcares redutores em diferentes kombuchas e o consumo do açúcar depende principalmente do tempo de fermentação.

### 5.3 Compostos Fenólicos totais e flavonoides

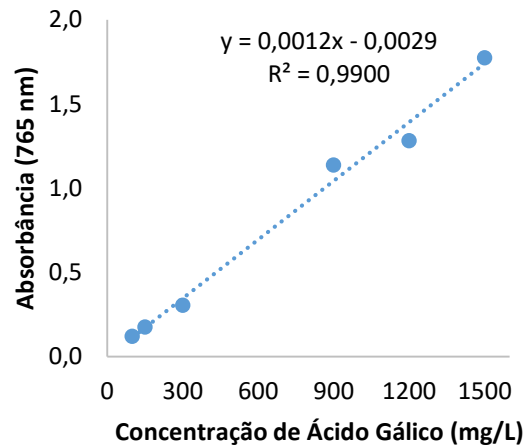
Os resultados das curvas padrões de ácido gálico (AG) e de catequina (C) para a determinação de compostos fenólicos totais e flavonoides totais, respectivamente, estão apresentados nas Tabela 3 e 4 e Figuras 3 e 4. Os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico e de catequina por litro de amostra, respectivamente (mg EAG/L e mg EC/L).

**Tabela 3: Valores da curva analítica do ácido gálico.**

AG (mg/L)	Absorbância (765 nm)					Conc. Prática	Exatidão (%)	DP	DPR (%)
	I	II	III	Média					
100,00	0,122	0,123	0,124	0,123		104,9	104,9	0,00	0,8
150,00	0,174	0,182	0,180	0,177		150,2	100,1	0,00	2,3
300,00	0,284	0,302	0,330	0,306		257,7	85,90	0,02	8,1
900,00	1,168	1,168	1,080	1,140		952,1	105,8	0,05	4,3
1200,00	1,133	1,300	1,420	1,284		1072	89,40	0,14	11,2
1500,00	1,774	1,770	1,780	1,775		1482	98,80	0,01	0,3

**Fonte: Autoria própria (2022).**

**Figura 3: Curva analítica e equação da reta linear para o ácido gálico**



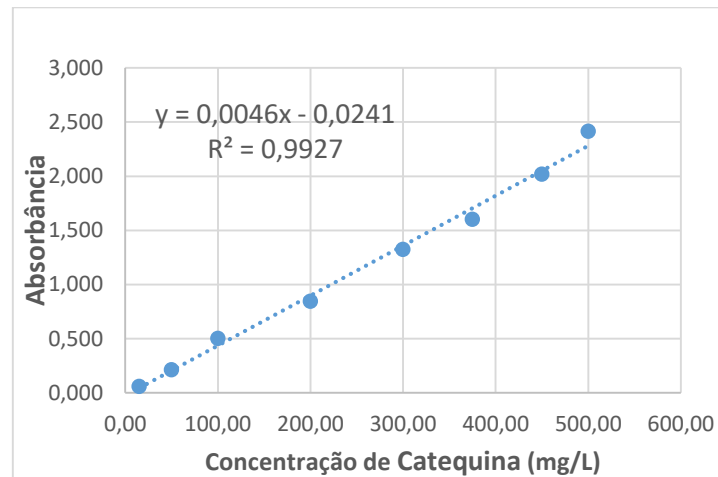
Fonte: Autoria própria (2022).

**Tabela 4: Valores da curva analítica do catequina.**

Catequina (mg/L)	Absorbância (510 nm)				Conc. Prática (mg/L)	Exatidão %	DP
	I	II	III	Média			
15	0,061	0,061	0,062	0,061	12,79	85,28	0,001
50	0,182	0,235	0,223	0,213	45,83	91,67	0,028
100	0,513	0,511	0,483	0,502	108,66	108,66	0,017
200	0,823	0,858	0,854	0,845	183,15	91,58	0,019
300	1,263	1,342	1,372	1,326	287,65	95,88	0,056
375	1,683	1,533	1,590	1,602	347,72	92,72	0,076
450	1,930	2,044	2,087	2,020	438,66	97,48	0,081
500	2,433	2,315	2,494	2,414	524,24	104,85	0,091

Fonte: Autoria própria (2022).

**Figura 4: Curva analítica e equação da reta linear para o catequina**



Fonte: Autoria própria (2022).

As curvas analíticas apresentaram boa linearidade, exatidão e precisão para os intervalos de concentração estudados.

Na Tabela 5 são apresentados os resultados de compostos antioxidantes no tempo zero e após 7 dias de fermentação determinados nas triplicatas das amostras de kombucha.

**Tabela 5: Valores médios de compostos antioxidantes ao longo da fermentação**

Amostra	Fenólicos totais (mgEAG/L)	Flavonoides Totais (mgEC/L)
Chá 5g/L	185,89 ± 1,50	94,95 ± 1,12
Kombucha tempo zero	176,58 ± 14,86	85,89 ± 4,46
Kombucha tempo - 7 dias	194,27 ± 14,70	71,52 ± 1,34

Fonte: Autoria própria (2022).

Segundo Kallel *et al.* (2012), usando 12g/L de chá preto e 100 g/L de açúcar, encontrou uma concentração de fenólicos totais igual a 780 mg/L no dia zero e durante as duas semanas de fermentação os fenólicos aumentaram moderadamente, e no décimo quinto dia (15.º) o valor foi para 1.080 mg/L. No qual teoricamente e proporcionalmente a 5g/L de chá seria igual a 450 mg/L no 15.º dia, valores acima do presente estudo, provavelmente por ser kombucha de chá preto. A diferença na concentração de fenólicos encontrada na literatura, além da concentração do chá, pode ser também devida as condições da fermentação (temperatura, SCOBY), tipo de chá, entre outros.

Cardoso *et al.* (2020) identificaram que a kombucha de chá preto tem mais conteúdo de fenólicos que a de chá verde, de 1.090 mg EAG/L para 700 mg GAE/L, respectivamente, um valor acima do que encontrado neste trabalho.

Em Periotto *et al.* (2022), empregando-se 15g/L de chá preto (5 min de infusão) e 100g/L de açúcar, a concentração de fenólicos totais, no tempo zero (controle), expressos em equivalente de ácido gálico, foi de 341 mg/L e com 7 dias de fermentação 361 mg/L e 21 dias igual a 373 mg/L. A maior concentração de compostos fenólicos foi detectada no tempo de 35 dias, com concentração de 374 mg/L, representando um aumento de 9,6 %. Comparando os resultados do presente estudo (5g/L de chá verde, 50g/L de açúcar), no qual empregou-se três vezes menos chá que Periotto *et al.* (2022) e chá verde, a concentração de fenólicos foi igual a 176,5 mg/L no tempo zero e de 194,27 mg/L com 7 dias (Tabela 5), proporcionalmente foi encontrada maior concentração de fenólicos totais que dos autores.

SANTOS *et al.* (2018), apresentaram valores de flavonoides totais de 55,4 mg/1000g após 4 dias de fermentação e 3 dias de maturação, utilizando 2 gramas de chá verde/100 mL (20g/L) de água e uma concentração de açúcar demerara 15% (p/v). Sendo assim, o autor usou 4 vezes mais chá que no presente trabalho e encontrou uma concentração mais baixa.

Observamos que nesse trabalho o conteúdo de compostos flavonoides diminuiu um pouco após 7 dias de fermentação. Conforme Rosa (2013), as antocianinas e os polifenos são sensíveis a processos envolvendo altas temperaturas e já logo durante o processo de preparo do chá base pode ter ocorrido à degradação de alguns constituintes químicos.

Por meio dos resultados obtidos neste estudo, verificou-se que a bebida kombucha apresenta elevado conteúdo de compostos antioxidantes, benéficos à saúde humana e a concentração desses compostos é variável entre as amostras.



## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

De acordo com os resultados obtidos neste estudo e os relatados na literatura verificou-se que há diversidade nas características físico-químicas nas kombuchas. Valores de pH e acidez encontrados neste estudo indicam que a bebida pode ser segura para o consumo de pessoas saudáveis. Os valores de acidez obtidos (média de 1,06g/L de ácido acético) corroboraram com os níveis indicados pela literatura para obtenção dessa bebida fermentada. Foi verificado que o teor de açúcares redutores aumentou após 7 dias de fermentação, condizendo com a literatura. A concentração de compostos antioxidantes manteve-se praticamente constante ao final do processo fermentativo de 7 dias, indicando que a kombucha pode ser uma bebida rica nesses compostos. Também recomenda-se realizar o monitoramento do processo fermentativo durante vários dias (acima de 7 dias) e em diferentes condições experimentais, de forma a serem estabelecidos padrões de produção para a obtenção de um produto final com as características sensoriais e nutricionais desejáveis.

## REFERÊNCIAS

- ANNEGOWDA, H. V. *et al.* The free radical scavenging and antioxidant activities of pod and seed extract of *Clitoria fairchidiana* (Howard) – an underutilized legume. **Journal of Food Science Technology**, Penang, v. 50, n. 3, p. 535-541, jun. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3602564/>. Acesso em: 26 maio 2022.
- BATISTA, M. E. **Influência dos tipos de substratos na cinética mássica de produção da película celulósica do Kombucha**. 2019. Trabalho de conclusão de curso - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2019. Disponível em: [http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/16480/1/PG\\_COENQ\\_2019\\_2\\_012.pdf](http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/16480/1/PG_COENQ_2019_2_012.pdf). Acesso em: 14 maio 2022.
- BRASIL, **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**. Estabelece o Padrão de Identidade e Qualidade da Kombucha em todo território nacional (Instrução Normativa nº 268 41/2019, de 17 de setembro de 2019). Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2019. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-41-de-17-de-setembro-de-2019-216803534>. Acesso em: 26 maio 2022.
- CARDOSO, R. R. *et al.* Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*, v. 128, p. 108782, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108782>. Acesso em: 30 maio de 2022.
- CHAKRAVORTY, S. *et al.* Kombucha tea fermentation: microbial and biochemical dynamics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 220, p. 63–72, jan. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160515301951?via%3Dihub#ab0005>. Acesso em : 23 maio 2022.
- CHEN, C.; LIU, B. Y. Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. **Journal of Applied Microbiology**, Taichung, v. 89, n. 5, p. 834–839, mar./jul. 2000. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2672.2000.01188.x>. Acesso em : 11 maio 2022.
- COELHO, R. M. D. *et al.* Kombucha: Review. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, Ceará, v. 22, n. 1, p.1-12, out. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100272>. Acesso em: 11 maio 2022.
- DADA, A. P. *et al.* Caracterização de kombucha elaborado a partir de chá verde. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e576101522992, nov. 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/22992>. Acesso em: 23 maio 2022
- GREENWALT, C. J. *et al.* Kombucha, the fermented tea: microbiology, composition, and claimed health effects. **Journal of Food Protection**, New York, v. 63, n. 7, p. 976–981, jul. 2000. Disponível em: <https://meridian.allenpress.com/jfp/article/63/7/976/168061/Kombucha-the-Fermented-Tea-Microbiology>. Acesso: 11 maio 2022.
- HAMPTON, M. G. **Tea: Cultivation to consumption**. Londres: Springer Netherlands, 1992. *E-book*. Disponível em: [http://link.springer.com/10.1007/978-94-011-2326-6\\_14](http://link.springer.com/10.1007/978-94-011-2326-6_14). Acesso em: 14 maio 2022.
- HAN, D. W. *et al.* Effects of green tea polyphenol on preservation of human saphenous vein. **Journal of Biotechnology**, v. 110, n. 2, p. 109–117, mai. 2004. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168165604000689>. Acesso em: 15 maio 2022.
- JAKUBCZYK, K. *et al.* Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. **Antioxidants**, Szczecin, v. 9, n. 5, p. 447, mai. 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/9/5/44>. Acesso em : 11 maio 2022 .
- 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**, Rourkela, v. 13, n. 4, p. 538-550, jul. 2014. Disponível em:

- <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1541-4337.12073>. Acesso em: 11 maio 2022.
- JAYABALAN, R. *et al.* Kombucha. **Reference Module in Food Science**, v. 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081005965030328>. Acesso em: 2 maio 2022.
- JAYABALAN, R. *et al.* Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. **Food Chemistry**, v. 102, n. 1, p. 392–398, mai. 2007. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814606004250>. Acesso em : 23 maio 2022.
- KALLEL, L. DESSEAUX, V.; MOKTARHAMDI, STOCKER, P. AJANDOUZ, E.H. Insights into the fermentation biochemistry of Kombucha teas and potential impacts of Kombucha drinking on starch digestion. **Food Research International**, v. 49, n.1, 226-232, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996912003274?via%3Dihub>. Acesso em: 26 maio 2022.
- LEAL, J.M. *et al.* A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. **CYTA - Journal of Food**, San Pedro Garza García, v. 16, n. 1, p. 390–399, ago./nov. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>. Acesso em: 11 maio 2022.
- KAYISOGLU, S.; COSKUN, F. Determination of physical and chemical properties of kombucha teas prepared with different herbal teas. **Food Science and Technology (Brazil)**, Campinas, v. 41, n. 1, p. 393–397, jun. 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/cyBffgtmqR6nRDMhkKKDjBD/?lang=en>. Acesso em: 14 maio 2022.
- MAIA, L. M. S. DE S.; SANTOS, A. A. DOS. Alimentos e suas ações em sistemas fisiológicos. **Veredas FAVIP**, Caruaru, v. 2, n. 2, p. 24–34, jul./dez. 2005. Disponível em: <https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/53896207/Alimentos-e-suas-acoes-em-sistema-fisiologicos1-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1653350600&Signature=ZTyacBc04XBkDSY9Q45IXuVAiGfQSFBbby~6MD1GimU3Yi7DSnsZ0spmV8hMxcHosrvOPPh58B7hHYyYB4IAkbrYntjclikaQAbLu0M7At0k>. Acesso em 22 maio 2022.
- MALBAŠA, R. *et al.* Comparison of the products of Kombucha fermentation on sucrose and molasses. **Food Chemistry**, v. 106, n. 3, p. 1039–1045, fev. 2008. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814607007054>. Acesso em: 23 maio 2022.
- MANACH, C. *et al.* Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Saint-Genès Champanelle, v. 79, n. 5, p. 727–747, jun./out. 2004. Disponível em: <https://academic.oup.com/ajcn/article/79/5/727/4690182>. Acesso em: 8 maio 2022.
- MAY, A. *et al.* Kombucha: a novel model system for cooperation and conflict in a complex multi-species microbial ecosystem. **PeerJ**, v. 7, n. 9, p. e7565, jul./set. 2019. Disponível em: <https://peerj.com/articles/7565>. Acesso: 8 maio 2022.
- MAYSER, P. *et al.* The yeast spectrum of the ‘tea fungus Kombucha’. **Mycoses**, v. 38, n. 7–8, p. 289–295, fev. 1995. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0507.1995.tb00410.x>. Aceso em: 15 maio 2022.
- MOURA, A. B. DE. **Monitoramento do processo fermentativo da kombucha de chá mate**. 2019. Trabalho de conclusão de curso - Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/33633>. Acesso em: 14 maio 2022.
- NISHIYAMA, M. F. *et al.* Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 003582, p. 191–196, mai. 2010. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612010000500029&lng=pt&nrm=iso&tng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612010000500029&lng=pt&nrm=iso&tng=pt). Acesso em: 14 maio 2022.
- PALUDO, N. **Desenvolvimento e caracterização de kombucha obtida a partir do chá verde e extrato de erva-mate: processo artesanal e escala laboratorial**. 2017. Trabalho de conclusão de curso - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/174899>. Acesso em: 14 maio 2022 .

PERIOTO, C. Z. *et al.* Potencial antioxidante e caracterização físico-química e microbiológica do kombucha. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 8, n. 1, p. 739–751, jan. 2022. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/42302>. Acesso em: 23 maio 2022.

RONCONI, A. P. S. **Alimentos funcionais em alimentação coletiva: um estudo exploratório no extremo sul catarinense**. 2009. Trabalho de conclusão de curso - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2009. Disponível em : [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/39043249/Ronconi\\_\\_2009-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1653534503&Signature=WMOqeTdKPEzeN5wHxGeGpdDWMwDiO-SBQDDguZQgoJNvOhT3jnCmRRm54IWB7WETb~HTpNEZMxSXvbuvlaNXQ4~V2aYVAw2F0IY1P S-Hg9LJkFCtX66gnfYXMBQ2EktwJ~1dm~nOhlqRELxMT8zPEhWZsmPI6hrr57yOi2X05MRAwj5SxViU9 PC-UhfVB8J03PCIWChP65ytuRit9IKCk7EB7REJEgAmI4y~x5xU96DY2K97s4hSJQMKNK~bR5korkfld1KY L7UHK8gMMzOqG9JpcKkwEkflpn1CgtVzhurFggFOUofjDV1b8jFBEuYmQOgVU81fUfGBBqnGM8oFg\\_\\_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/39043249/Ronconi__2009-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1653534503&Signature=WMOqeTdKPEzeN5wHxGeGpdDWMwDiO-SBQDDguZQgoJNvOhT3jnCmRRm54IWB7WETb~HTpNEZMxSXvbuvlaNXQ4~V2aYVAw2F0IY1P S-Hg9LJkFCtX66gnfYXMBQ2EktwJ~1dm~nOhlqRELxMT8zPEhWZsmPI6hrr57yOi2X05MRAwj5SxViU9 PC-UhfVB8J03PCIWChP65ytuRit9IKCk7EB7REJEgAmI4y~x5xU96DY2K97s4hSJQMKNK~bR5korkfld1KY L7UHK8gMMzOqG9JpcKkwEkflpn1CgtVzhurFggFOUofjDV1b8jFBEuYmQOgVU81fUfGBBqnGM8oFg__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA). Acesso em: 23 maio 2022.

ROSA, E. D. S. **Características nutricionais e fitoquímicas em diferentes preparações e apresentações de Hibiscus sabdariffa L. (hibisco, vinagreira, rosela, quiabo-de-angola, caruru-da-guiné) - Malvaceae**. 2013. Trabalho de conclusão de curso - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/87222/000910449.pdf?sequence=1&locale-attribute=es>. Acesso em: 23 maio 2022.

SANTOS, M. J. DOS. **Kombucha: caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração**. 2016. Dissertação - Universidade de Lisboa, 2016. Disponível em: <https://run.unl.pt/handle/10362/19346>. Acesso em: 11 maio 2022.

SANTOS, Y. M. A. *et al.* Caracterização química de kombucha a base de chás de hibisco de preto. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, v. 3, p. 0–5, 2018. Disponível em: <https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/REBAGRO/article/view/6365/5422>. Acesso em: 8 maio 2022.

SENGER, A. E. V. *et al.* Green tea (*Camellia sinensis*) and its functionals properties on transmissible chronic diseases. **Scientia Medica**, Porto Alegre, v. 20, n. 51, p. 292–300, 2010. Disponível em: <https://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/scientiamedica/article/view/7051/5938>. Acesso em: 14 maio 2022.

SIGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, California, v. 16, n. 3, p. 144–158, jan. 1965. Disponível em: <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144>. Acesso em: 26 de maio de 2022.

TANAKA, T. *et al.* Production of theasinensins A and D, epigallocatechin gallate dimers of black tea, by oxidation-reduction dismutation of dehydrotheasinensin A. **Tetrahedron**, v. 59, n. 40, p. 7939–7947, set. 2003. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004040200301295X>. Acesso em: 3 maio 2022

TU, C. *et al.* Use of kombucha consortium to transform soy whey into a novel functional beverage. **Journal of Functional Foods**, Nanjing, v. 52, p. 81-89, out. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.024>. Acesso em: 8 maio 2022 .

VALENZUELA B., A. El consumo te y la salud: características y propiedades benéficas de esta bebida milenaria. **Revista chilena de nutrición**, v. 31, n. 2, p. 72–82, 2004. Disponível em: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-75182004000200001&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182004000200001&lng=en&nrm=iso&tlng=en). Acesso em: 8 maio 2022.

VILLARREAL-SOTO, S. A. *et al.* Understanding Kombucha Tea Fermentation: a Review. **Journal of Food Science**, Toulouse, v. 83, n. 3, p. 580–588, set. 2018. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1750-3841.14068>. Acesso em: 11 maio 2022.

ZENEBON, O.*et al.* **Métodos físicos-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolf Lutz, 2008. E-book. Disponível em:

<https://wp.ufpel.edu.br/nutricaoobromatologia/files/2013/07/NormasADOLFOLUTZ.pdf>. Acesso em : 11 maio 2022.