UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA – FCE/ UNB
CURSO DE FARMÁCIA

JÚLIA MARTINS LOPES

KOMBUCHA FERMENTADO COM CRANBERRY (*Vaccinium oxycoccos*) E BLUEBERRY (*Vaccinium myrtillus*): AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

BRASÍLIA, 2023

JÚLIA MARTINS LOPES

KOMBUCHA FERMENTADO COM CRANBERRY (*Vaccinium oxycoccos*) E BLUEBERRY (*Vaccinium myrtillus*): AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Monografia de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia, na Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia.

ORIENTADORA: Farmacêutica Especialista Carla Azevedo Bilac
COORIENTADORA: Profª. Drª. Daniela Castilho Orsi

BRASÍLIA, 2023

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Lk

Lopes, Júlia Martins
KOMBUCHA FERMENTADO COM CRANBERRY (VACCINIUM OXYCOCCOS) E BLUEBERRY (VACCINIUM MYRTILLUS): AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE / Júlia Martins Lopes; orientador Carla Azevedo Bilac; co-orientador Daniela Castilho Orsi. -- Brasília, 2023.
36 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de Brasília, 2023.

1. Kombucha fermentado. 2. Chá preto. 3. Cranberry . 4. Blueberry. 5. Atividade Antioxidante. I. Bilac, Carla Azevedo, orient. II. Orsi, Daniela Castilho, co-orient. III. Título.

JÚLIA MARTINS LOPES

KOMBUCHA FERMENTADO COM CRANBERRY (*Vaccinium oxycoccos*) E BLUEBERRY (*Vaccinium myrtillus*): AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

BANCA EXAMINADORA

gov.br
Documento assinado digitalmente
CARLA AZEVEDO BILAC
Data: 27/12/2023 21:32:44-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Orientadora: Farmacêutica Especialista Carla Azevedo Bilac
(FCE/ Universidade De Brasília)

Farmacêutica Rebeca Dias dos Santos(
FCE/ Universidade De Brasília)

Farmacêutico Bruno Alcântara do Prado(
FCE/ Universidade De Brasília)

BRASÍLIA, 2023

Dedico este trabalho a todos aqueles que estiveram ao meu lado durante esta jornada acadêmica, tornando possível a concretização da mesma.

AGRADECIMENTOS

Agradeço profundamente à minha família pelo amor incondicional, paciência e apoio incessante em todos os momentos. Ao meu amor, por sempre estar ao meu lado. Aos meus amigos e colegas, pelo incentivo, compreensão e troca de experiências enriquecedoras que foram fundamentais para este percurso.

Expresso meu carinho e agradecimento aos professores e orientadores, pela orientação, conhecimento compartilhado e pelo estímulo constante à busca pelo saber. Cada um de vocês teve um papel essencial nesta trajetória, contribuindo para o meu crescimento pessoal e acadêmico.

Este trabalho é resultado do apoio e confiança daqueles que acreditaram em mim. Dedico-o a todos, como forma de reconhecimento e agradecimento sincero por fazerem parte desta conquista.

RESUMO

O kombucha é uma bebida fermentada por uma colônia de bactérias e leveduras (SCOBY) que atuam em simbiose. Esse processo transforma o chá em uma bebida com sabor levemente ácido, às vezes efervescente. Seus possíveis benefícios incluem a presença de probióticos que promovem a saúde intestinal e de antioxidantes. O objetivo deste trabalho foi avaliar os parâmetros físico-químicos e a atividade antioxidante do kombucha fermentado com chá preto e com sucos de Cranberry e Blueberry. Foram realizadas as seguintes análises físico- químicas: determinação da acidez total, pH, sacarose, sólidos solúveis totais (SST), compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelos métodos de DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazil) e ABTS [2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico]. Os resultados mostraram que o pH das três amostras de kombucha apresentaram uma redução significativa durante os sete dias de fermentação (de 6,63 para 2,96- 3,21). Os valores de pH das bebidas (2,96-3,21) estão de acordo com a legislação brasileira (pH de 2,5 a 4,2). Observou-se um aumento da acidez dos kombuchas comadição de frutas (0,88-0,94 g/100mL) em relação ao kombucha de chá preto (0,58 g/100mL). Para a primeira fermentação, foi utilizado uma solução aquosa de açúcar mascavo com um teor de SST de 10ºBrix e após 7 dias, o kombucha de chá preto apresentou 2,5 g/100 mL de sacarose e 7,2ºBrix. A adição das frutas Cranberry e Blueberry aumentou tanto o teor de SST quanto de sacarose nas bebidas(10,9-29,5 g/100 mL de sacarose e 10,4-11,7ºBrix). O kombucha de Blueberry apresentou o maior teor de compostos fenólicos (12,65 mg GAE/mL) e a maior atividade antioxidante (1006,10 mM/100 mL ABTS e 502,43 mM/100 mL DPPH). Em seguida o kombucha de Cranberry apresentou teor de compostos fenólicos de 7,33 mg GAE/mL e atividade antioxidante de 766,31 e 403,14 mM/100 mL nos métodos deABTS e DPPH, respectivamente. E por fim, o kombucha de chá preto apresentou o menor teor de compostos fenólicos (5,88 mg GAE/mL) e a menor atividade antioxidante (512,83 mM/100 mL ABTS e 312,29 mM/100 mL DPPH). Assim, a adiçãodos sucos de Cranberry e Blueberry no kombucha contribuiu para o aumento do teor de compostos fenólicos e da atividade antioxidante das bebidas.

Palavras-chave: fermentação; kombucha; cranberry; blueberry; antioxidante..

ABSTRACT

Kombucha is a beverage fermented by a colony of bacteria and yeast (SCOBY) that act in symbiosis. This process transforms the tea into a beverage with a slightly acidic,sometimes effervescent, flavor. Its possible benefits include the presence of probioticsthat promote intestinal health and antioxidants. The present work aimed to evaluate the physicochemical parameters and antioxidant activity of kombucha fermented with black tea and Cranberry and Blueberry juices. The following physicochemical analyzes were carried out: determination of total acidity, pH, sucrose, total soluble solids (TSS), total phenolic compounds and antioxidant activity were also carried out using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS [2,2'-azino- bis(3-ethylbenzothiazolin)6-sulfonic acid]. The results showed that the pH of the three kombucha samples showed a significant reduction during the seven days of fermentation (from 6.63 to 2.96-3.21). The pH values of kombuchas (2.96-3.21) are inaccordance with Brazilian legislation (pH from 2.5 to 4.2). An increase in the acidity ofkombuchas with added fruit (0.88-0.94 g/100mL) was observed in relation to black teakombucha (0.58 g/100mL). For the first fermentation, an aqueous solution of brown sugar with an TSS content of 10ºBrix was used and after 7 days, the black tea kombucha presented 2.5 g/100 mL of sucrose and 7.2ºBrix. The addition of Cranberry and Blueberry fruits increased both the TSS and sucrose content in the kombuchas (10.9-29.5 g/100 mL of sucrose and 10.4-11.7ºBrix). Blueberry kombucha had the highest content of phenolic compounds (12.65 mg GAE/mL) and the highest antioxidant activity (1006.10 mM/100 mL ABTS and 502.43 mM/100 mL DPPH). Next, Cranberry kombucha showed a phenolic compound content of 7.33 mg GAE/mL and antioxidant activity of 766.31 and 403.14 mM/100 mL in the ABTS and DPPH methods,respectively. And finally, black tea kombucha had the lowest content of phenolic compounds (5.88 mg GAE/mL) and the lowest antioxidant activity (512.83 mM/100 mLABTS and 312.29 mM/100 mL DPPH). Thus, the addition of Cranberry and Blueberry juices to kombucha contributed to increasing the content of phenolic compounds and the antioxidant activity of the drinks.

Keywords: fermentation; kombucha; cranberry; blueberry; antioxidant.

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 – Determinação da acidez total e do pH nas amostras de kombucha sem adição de frutas e com adição de sucos de Cranberry e Blueberry 20

Tabela 2 – Determinação de sacarose e sólidos solúveis totais (SST) nas amostras dekombucha sem adição de frutas e com adição de sucos de Cranberry e Blueberry 21

Tabela 3 – Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante das matérias primas utilizadas na elaboração da bebida kombucha 22

Tabela 4 – Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante nas amostras dekombucha sem adição de frutas e com adição de sucos de CranberryeBlueberry..... 23

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABKOM	Associação Brasileira de Kombucha
ABTS	2,2´-Azino-Bis-3-Ethylbenzo-Thiazoline-6-Asulfonic Acid
BAA	Bactérias do Ácido Acético
BAL	Bactérias do Ácido Lático
BRIX	Índice Refratométrico
DPPH	2,2-Diphenil-1- Picryl-Hidrazil
DR%	Descoloração de Radicais
HCL	Ácido Clorídrico
KP	Kombucha de Chá preto
KB	Kombucha de Blueberry
KC	Kombucha de Cranberry
NAOH	Hidróxido de Sódio
SCOBY	Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast
SST	Sólidos Solúveis Totais

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13
2 REVISÃO DE LITERATURA 14
2.1 KOMBUCHA 14
2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS PRODUZIDOS DURANTE A FERMENTAÇÃO DOKOMBUCHA 15
2.3 PROPRIEDADES NUTRICIONAIS DO KOMBUCHA E BENEFÍCIOS À SAÚDE 16
2.4 FERMENTAÇÃO DO KOMBUCHA COM FRUTAS 17
2.5 CRANBERRY E BLUEBERRY 18
3 OBJETIVO 19
3.1 OBJETIVO GERAL 19
3.2 oBJETIVOS ESPECÍFICOS 19
4 JUSTIFICATIVA 20
5 MATERIAIS E MÉTODOS 21
5.1 OBTENÇÃO DOS SCOBYS DE KOMBUCHA E DAS BEBIDAS FERMENTADAS 21
5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS BEBIDAS FERMENTADAS 21
5.2.1 Acidez total 21
5.2.2 pH 22
5.2.3 Concentração de Sacarose 22
5.2.4 Sólidos Solúveis Totais (SST) 22
5.3 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS BEBIDAS 22
5.3.1 Compostos Fenólicos 23
5.3.2 Atividade antioxidante - DPPH 23
5.3.3 Atividade antioxidante - ABTS 24
5.4 ESTATÍSTICA 24
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO 26
6.1 DETERMINAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS KOMBUCHAS 26
6.2 DETERMINAÇÃO DE SACAROSE E SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS (SST) DOSKOMBUCHAS 27

6.3 6.3 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOSKOMBUCHA 28
7 CONCLUSÃO 31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 32
ANEXOS 36

1 INTRODUÇÃO

A bebida fermentada kombucha tem sido apreciada há milhares de anos.Há relatos que seu consumo se iniciou por volta de 220 a.C., na Manchúria, região localizada no nordeste da China. Durante a Dinastia chinesa “Tsin”, a bebida se popularizou devido às crenças existentes quanto às suas propriedades energéticas e desintoxicantes. Este fato foi impulsionado pelo doutor Kombu, médico coreano que utilizou da bebida para tratar os problemas intestinais do imperador na época (Bruschi *et al*., 2018; Jayabalan *et al*., 2014).

Com o passar do tempo, a bebida chegou a diversos países da Europa através das rotas comerciais marítimas, chegando primeiramente à Rússia e expandindo-se para Alemanha e Itália no século XX, logo após a Segunda Guerra Mundial. Também, se expandiu para a França e o norte da África e hoje, há consumidores no mundo todo (Da Silva Júnior *et al*., 2022).

A bebida se tornou tão relevante, que desde 2018, foi criada a Associação Brasileira de Kombucha (ABKOM) com o objetivo de ajudar os produtores da bebida no Brasil. Atualmente, o Brasil possui cerca de 25 produtores registrados, com faturamento de 18,9 milhões de reais. Está previsto um aumento acima de 17% até 2027 no setor de produção da kombucha (Ortiz *et al*., 2022).

Há um crescente interesse nas propriedades nutricionais e terapêuticas da kombucha, principalmente na atividade antioxidante revelada pelos estudos. Os compostos fenólicos e antioxidantes presentes na bebida podem ajudar a neutralizar radicais livres liberados pelo estresse oxidativo (Abuduaibifu e Tamer, 2019; Antolak; Piechota; Kucharska, 2021; Asikin *et al*.,2016). Além disso, a síntese de ácidos orgânicos pela microbiota da kombucha é de grande interesse, uma vez que tais compostos, além de apresentarem propriedades terapêuticas, são capazes de inibir o crescimento de microrganismos patogênicos (Cardoso *et al*., 2020).

No Brasil, a Instrução Normativa nº 41 de 2019 estabelece os padrões de qualidade e identidade para o kombucha, discriminando os insumos indispensáveis para sua produção, como água potável, chá *Camellia sinensis* (verde ou preto), açúcares e SCOBY. Esta normativa também define a classificação, rotulagem, padrões analíticos e composições permitidas, que podem garantir a segurança e qualidade da bebida (Brasil, 2019).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 KOMBUCHA

Durante a fermentação da kombucha, a transformação do substrato depende de uma rica comunidade microbiana composta principalmente por Bactérias do Ácido Acético (BAA), Bactérias do Ácido Láctico (BAL) e leveduras, presentes na bebida. A sacarose adicionada à fermentação é inicialmente hidrolisada em glicose e frutose pela enzima invertase produzida pelas leveduras (Villarreal-Soto *et al*., 2019). Em seguida, enquanto as leveduras convertem a frutose disponível em etanol,as BAA utilizam a glicose e o etanol para produzir ácido glucônico e ácido acético (Jayabalan *et al*., 2014).

O SCOBY, um termo em inglês para *"Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast"* (Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras), consiste em um biofilme gelatinoso de celulose, com consistência viscosa e cor bege-clara. Esse biofilme abriga uma ampla comunidade microbiana, incluindo microrganismos dos gêneros *Gluconobacter, Acetobacter, Zygosaccharomyces, Saccharomyces* e *Schizosaccharomyces* (Gomes*et al*., 2018; Jayabalan *et al*., 2014).

Relacionado ao manejo do SCOBY, ele oferece uma grande flexibilidade, podendo ser cultivado em vários formatos para se adaptar ao recipiente escolhido pelo produtor. O período de cultivo determina a espessura do biofilme, permitindo assim que suas dimensões sejam personalizadas de acordo com o propósito pretendido (Kapp; Sumner, 2018). Além disso, a coloração do SCOBY também é ajustável, apresentando variações de tons de marrom de acordo com os tipos de açúcares e chás na bebida, assim como o tempo de fermentação (Laavanya *et al*., 2021).

A comunidade microbiana presente na bebida sofre alterações em sua composição, tanto relacionadas à qualidade como na quantidade de microrganismos presentes. Isso ocorre devido a influência de fatores como a região geográfica, as matérias-primas utilizadas e as condições de fermentação, resultando na presença de diferentes gêneros, espécies e cepas de bactérias produtoras de ácido acético, ácido lático e leveduras que vivem no SCOBY. Ocorre a formação de um novo SCOBY,

em uma velocidade rápida, principalmente na superfície da bebida, devido à maior disponibilidade de oxigênio. (Kim; Adhikari, 2020; Leal *et al*., 2018).

2.2 COMPOSTOS BIOATIVOS PRODUZIDOS DURANTE A FERMENTAÇÃO DO KOMBUCHA

Os alimentos considerados funcionais são aqueles que podem proporcionar potenciais benefícios à saúde quando consumidos regularmente como parte de uma dieta variada, em níveis eficazes (Fu *et al*., 2014). Muitos produtos têm sido classificados como funcionais devido à presença de compostos bioativos. O kombucha, uma bebida feita a partir de chá preto ou verde adoçado e uma cultura de leveduras e bactérias, tem ganhado popularidade devido aos seus múltiplos benefícios para a saúde (Watawana *et al*., 2015).

A *Camellia sinensis*, planta conhecida como chá, é originária do Sudeste Asiático e pertence à família botânica *Theaceae*. Apresenta variedades como chá verde, chá oolong e chá preto, que são obtidas a partir do processamento das folhas colhidas (Ng *et al*., 2018). Durante esse processo, as folhas são cortadas, induzindoa atividade da enzima polifenoloxidase e resulta na oxidação dos polifenóis presentes. A composição exata das folhas de chá varia de acordo com a variedade da planta e pode sofrer influência pelo método de preparo, incluindo a temperatura da água e o tempo de infusão (Pervin *et al*., 2018).

O chá é uma valiosa fonte de compostos bioativos e dentre os polifenóis presentes, destacam-se as catequinas, teaflavinas e tearubiginas, que exercem importantes funções biológicas. Quanto às vitaminas, o chá é rico em vitaminas do complexo B, como B1 e B6, vitamina C, carotenoides e ácido fólico. Em relação aos minerais, o chá oferece potássio, manganês, cálcio e flúor, contribuindo para a nutrição adequada (Nguyen *et al*., 2015).

A atividade da microbiota fermentadora da kombucha gera diferentes tipos de ácidos orgânicos, incluindo ácido acético, cítrico, fólico, glucônico, glicurônico, lático, málico, malônico, oxálico, pirúvico e tartárico (Villarreal-Soto, 2019). A partir do consumo do açúcar adicionado no início do processo, por meio da ação das enzimas microbianas, a produção desses ácidos acompanha a redução do teor de sólidos

solúveis (açúcares,ácidos, proteínas, sais e outros compostos solúveis em água), contribuindo para alterações de cor e turbidez (Ng *et al*., 2018). Além dos efeitos da acidificação nas características físico-químicas e sensoriais da kombucha, destaca-se também o seu papel na segurança microbiológica do produto, uma vez que possui um efeito inibitório contramicrorganismos patogênicos (Moura, 2019; Silva *et al.*, 2018).

2.3 PROPRIEDADES NUTRICIONAIS DO KOMBUCHA E BENEFÍCIOS À SAÚDE

O kombucha tem despertado um interesse significativo devido ao seu potencial antimicrobiano e sua capacidade de inibir microrganismos patogênicos (Da Silva Júnior *et al*., 2022. Bhattacharya*et al*. (2020) investigaram a fração polifenólica do kombucha contra o vibrião da cólera em um estudo conduzido *in vivo* e os resultados demonstraram que o composto foi capaz de inibir tanto a secreção de proteases, enzimas responsáveis pela degradação da matriz extracelular intestinal, quanto reduzir a colonização do trato gastrointestinal. Esses resultados indicaram o potencial do kombucha como abordagem terapêutica para combater a virulência do *V. cholerae*. Estudo conduzido por Boyanova *et al* (2015) sugeriram que os extratos de chá preto e verde podem reduzir o risco de infecção por *Helicobacter pylori*, uma bactéria conhecida por estar associada a úlceras gástricas e duodenais.

A atividade antimicrobiana do kombucha tem sido amplamente investigada e os resultados têm revelado sua eficácia contra diversos microrganismos, incluindo bactérias Gram-positivas, bactérias Gram-negativas e algumas cepas de fungos. Essa atividade é atribuída aos metabólitos produzidos durante o processo de fermentação, os quais demonstram uma atuação sinérgica, resultando em uma potente atividade antimicrobiana (Mendonça *et* al., 2020; Silva *et al*., 2021).

Os benefícios à saúde associados ao chá preto, utilizado como base para a produção de kombucha, são atribuídos à presença de antioxidantes, polifenóis e flavonoides, que possuem propriedades de eliminação de radicais livres no organismo, auxiliando na proteção celular (Asikin *et al*.,2016; Cardoso *et al*., 2020). Alguns estudos demonstram que o consumo regular de chá preto pode inibir a oxidação lipídica, reduzir o estresse oxidativo, contribuindo para a prevenção de

doenças crônicas, como doenças cardiovasculares. Além disso, existe evidência dos benefícios para a saúde advindos do consumo de chá preto, como melhora da função cerebral e potencial auxílio na perda de peso. Essas descobertas destacam o potencial do chá preto como uma bebida saudável e benéfica para o organismo. (Hayat *et al*., 2015; Sharma *et al*., 2022).

2.4 FERMENTAÇÃO DO KOMBUCHA COM FRUTAS

Na área de alimentos, enfrentamos o desafio de desenvolver produtos com alto valor nutricional, devido ao aumento das doenças inflamatórias intestinais relacionadas ao consumo excessivo de alimentos industrializados. Os consumidores estão cada vez mais interessados em opções alimentares mais saudáveis, como alimentos orgânicos não transgênicos, probióticos e prebióticos, que promovem uma melhor saúde intestinal (Câmara *et al*., 2022).

O kombucha fermentado, reconhecido por suas propriedades probióticas, pode ser consumido em sua forma pura ou saborizado. A sua baixa palatabilidade na versão sem sabor, despertou um interesse em desenvolver novos produtos à base de frutas (Ziemlewska *et al*., 2022). Essa abordagem tem como objetivos enriquecer o kombucha com nutrientes bioativos, fortalecer seus benefícios à saúde e melhorar sua aceitação sensorial, incluindo cor, aroma e sabor (Neffe-Skocińska *et al*., 2017).Para alcançar esses objetivos, a adição de frutas durante uma segunda fermentação do kombucha tem sido objeto de investigação. Essa estratégia combina as propriedades benéficas do kombucha com os nutrientes e sabores das frutas, oferecendo aos consumidores uma opção atraente e saudável (Gomes *et al*., 2018; Silva *et al*., 2021).

O mercado de bebidas funcionais tem experimentado um crescimento significativo devido à demanda dos consumidores por opções alternativas aos refrigerantes açucarados ou artificialmente adoçados. Nesse contexto, o kombucha tem se destacado como uma escolha popular. Nas prateleiras, é possível encontrar uma ampla variedade de kombuchas saborizados para atender às preferências dos consumidores (Mendonça *et al*., 2020). Dentre os sabores disponíveis, destacam- se opções como gengibre, limão, mirtilo, framboesa, morango, menta e manga (Kim *et al*., 2020). Essa diversidade de sabores contribui para uma experiência sensorial

agradável e oferece aos consumidores uma ampla gama de opções para escolher. A crescente variedade de kombuchas saborizados reflete o compromisso contínuo do mercado em atender às necessidades e preferências dos consumidores em busca de bebidas saudáveis (Neffe Skocińska *et al*., 2017; Silva *et al*., 2021).

2.5 CRANBERRY E BLUEBERRY

Os cranberries são frutas altamente nutritivas e repletas de compostos bioativos. As espécies europeias de cranberry (*Vaccinium oxycoccus*) são especialmente conhecidas por serem ricas em polifenóis, como ácidos fenólicos, antocianinas e flavonoides (Baranowska; Bartoszek, 2016). Além disso, essas frutas contêm proantocianidinas, compostos que possuem a capacidade de inibir a aderência da *E. coli* ao trato urinário (Llano; Moreno-Arribas; Bartolomé, 2020).

O consumo de cranberries pode trazer uma série de benefícios à saúde, incluindo a prevenção de cáries e doenças gengivais, a inibição de infecções do trato urinário, a promoção de uma saúde digestiva saudável, a redução dos níveis de colesterol e a diminuição da inflamação no corpo. Essas descobertas destacam a importância dos cranberries como uma escolha nutricionalmente poderosa para melhorar a saúde e o bem-estar (Jurikova *et al*., 2018; Yocca *et al*., 2023).

O mirtilo ou blueberry (*Vaccinium myrtillus*) é uma fruta nativa do norte da Europa, mas também é encontrada em outras regiões, como Ásia e América do Norte. Essa fruta é reconhecida por sua riqueza em antocianinas, flavonoides, vitaminas, ácido ascórbico, carotenoides, tocoferóis e ácido fenólico (Ștefănescu *et al*., 2022; Sharma; Lee, 2022). Na medicina oriental, o mirtilo é amplamente utilizado para a prevenção e tratamento de uma variedade de doenças, incluindo problemas de visão, hiperglicemia, dislipidemia, diabetes, câncer, obesidade, doenças inflamatórias e cardiovasculares. Essas propriedades nutricionais e terapêuticas do mirtilo destacam seu potencial como uma fruta altamente benéfica para a saúde e bem-estar geral (Bayazid *et al.*, 2021).

3 OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antioxidante e determinar as características físico-químicas das bebidas de kombucha fermentadas com as frutas cranberry e blueberry.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o potencial antioxidante das bebidas;
- Estabelecer a quantidade de compostos fenólicos das bebidas;
- Determinar a quantidade de açúcares das bebidas;
- Quantificar a acidez das bebidas através de titulação;
- Avaliar o pH das bebidas.

4 JUSTIFICATIVA

O kombucha é uma bebida antiga e tradicional do Oriente que tem chamado muita atenção recentemente devido às propriedades que fazem bem à saúde, incluindo nutrientes, probióticos e outros benefícios funcionais. Além disso, é uma bebida que se alinha à busca crescente das pessoas por um estilo de vida mais saudável. Um dos motivos que tornam o kombucha tão especial é a presença de microrganismos com propriedades probióticas. O crescente número de estudos científicos publicados que avaliaram as propriedades nutricionais e terapêuticas do kombucha apresentam informações valiosas sobre os benefícios e estabelecem parâmetros de qualidade para seu consumo de forma segura. Novos estudos podem ajudar a identificar os principais compostos responsáveis por suas propriedades benéficas como os antioxidantes.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 OBTENÇÃO DOS SCOBYS DE KOMBUCHA E DAS BEBIDAS FERMENTADAS

Os SCOBYs foram doados por pessoas que cultivam essas culturas artesanais em casa. O açúcar mascavo e as frutas secas de Cranberry foram adquiridas em supermercados locais no Distrito Federal. O Blueberry foi adquirido em forma de frutas frescas congeladas de um produtor local no Distrito Federal. Para a produção do kombucha, os SCOBYs foram inoculados em chá preto (4 g/L) adoçado com açúcar mascavo até a leitura de 10º Brix, e fermentado por 7 dias, em temperatura ambiente.Os sucos de Blueberry e Cranberry foram preparados com uma concentração de 10% (p/v). Então, para o preparo dos sucos, 100 g de frutas foram trituradas com auxílio de um “mixer” em 1000 mL de água potável. Para a segunda fermentação, foram adicionadas as proporções de 50% de sucos de frutas e 50% de kombucha e foi elaborado um controle, onde houve adição de 50% de água potável e 50% de kombucha. As bebidas fermentaram durante 24 horas em temperatura ambiente, resultando no kombucha de Blueberry (KB), kombucha de Cranberry (KC) e kombucha de chá preto (KP). Após a conclusão desse processo, os SCOBYs foram retirados e as bebidas foram analisadas quanto as características físico-químicas e atividade antioxidante.

5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS BEBIDAS FERMENTADAS

5.2.1 Acidez total

A avaliação da acidez total foi realizada através da técnica de acidez titulável (IAL, 2008), transferindo-se 10 mL de cada amostra pipetada para um frasco Erlenmeyerde 250 mL. Em seguida, foram adicionados 10 mL de água destilada e 3 gotas da solução de fenolftaleína. A titulação teve início com o uso de uma bureta contendo uma solução de NaOH 0,1 M. A mudança de coloração para rosa claro marcou o pontode viragem na análise. O cálculo foi realizado a partir da equação: ÷

Acidez Total (g.100mL-1) = ((Volume gasto de NaOH mL) × Normalidade (0,1) × 100 × Peso Molecular (60)) / Volume da amostra (mL)×100.

5.2.2 pH

A aferição do pH ocorreu com o auxílio de um pHmetro digital, modelo Gehaka PG 1800 (AOAC, 2006). O pH inicial do xarope de açúcar mascavo utilizado na elaboração do kombucha foi de 6,63.

5.2.3 Concentração de Sacarose

O teor de sacarose foi determinado pelo método ADNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico)(Miller, 1959). Alíquotas de 0,5 e 0,8 mL das amostras hidrolisadas foram transferidas para tubos de ensaio e foram adicionados 1,7 e 1,4 mL de água destilada, respectivamente. Após a diluição, 2,0 mL do reagente ADNS foram adicionados aos tubos de ensaios, homogeneizados e colocados em água fervente por cinco minutos. A leitura da absorbância das amostras foi realizada em um espectrofotômetro UV-Visa 540 nm e os resultados foram calculados de acordo com a curva de padrão (Anexo - 1), que foi preparada com glicose na concentração de 0,2 a 0,8 $g.L^{-1}$. Os valores foram expressos em g (gramas) de sacarose por 100mL (mililitros) de amostra($g.100mL^{-1}$).

5.2.4 Sólidos Solúveis Totais (SST)

Para a determinação de Sólidos Solúveis Totais (SST) foi utilizado um refratômetro (ºBRISX 0-90%, marca Genérica). O xarope de açúcar mascavo utilizado na elaboração do kombucha foi ajustado a 10ºBrix.

5.3 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS BEBIDAS

5.3.1 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos foram determinados conforme protocolo de Folin-Denis (FOLIN & DENIS, 1912). Essa metodologia identificou a concentração de compostos fenólicos totais na amostra. A solução de carbonato de sódio (Na2CO3) foi preparada adicionando 25 g de carbonato de sódio anidro em 100 mL de água destilada, dissolvido à 70ºC e armazenado em temperatura ambiente por 24 horas. Para a análise, foram pipetadas em tubos de ensaio 200 µL da amostra, 8300 µL de água, 1000 µL da solução de carbonato de sódio e 500 µL do reagente de Folin-Denis. As amostras foram solubilizadas e repousaram por 30 minutos em temperatura ambiente. A leitura da absorbância no espectrofotômetro UV-Vis foi realizada a 760 nm, usou-se água destilada para a absorbância zero. Uma curva de calibração (Anexo - 4) foi preparada com ácido gálico na concentração de 0,02 a 0,10 $mg.L^{-1}$, obtidos a partir da solução estoque (100 $mg.L^{-1}$). A análise das amostras foi realizada em triplicata e os valores expressos média ± desvio padrão em miligramas (mg) de ácido gálico equivalente (GAE) por 100 mililitros (mL) de amostra (mg GAE.100 mL^{-1}).

5.3.2 Atividade antioxidante - DPPH

A atividade antioxidante foi determinada pelo método DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazila) com modificações (Silveira, 2018). O DPPH é um radical que na presença de amostras antioxidantes, captura o hidrogênio (próton) estabilizando o radical. Dessa forma, observa-se a mudança da cor roxa para branca. Para a análise, uma solução estoque foi preparada na concentração de 0,8mM. Pesou-se 16 mg de DPPH, completou um balão volumétrico de 500 mL com álcool etílico absoluto e após homogeneizar a solução, foi transferida para um vidro âmbar e armazenado sob refrigeração. No dia da análise a solução de DPPH foi dissolvida em etanol até a leitura da absorbância entre 0,900 e 1,100 à 517nm no espectrofotômetro UV-Vis. Após a diluição das amostras, alíquotas de 100 uL foram adicionadas à 3900 uL da solução de DPPH e armazenadas na ausência de luz por 30 minutos. A leitura da absorbância foi realizada à 517 nm no espectrofotômetro. Uma curva de calibração (Anexo - 3) foi preparada com TROLOX (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico) na concentração de 0,05 a 1,00 mM, obtidos a partir da solução estoque de TROLOX

(2mM). As análises foram realizadas em triplicata e os valores expressos pela média ± desvio padrão e expressos em milimolar (mM) de TROLOX equivalente por 100 mililitros (mL) de amostra (TROLOX EQ mM.100 mL^{-1}).

5.3.3 Atividade antioxidante - ABTS

A capacidade antioxidante da bebida de kombucha foi analisada pelo método ABTS (2,2´-azino-bis-3-ethylbenzo-thiazoline-6-asulfonic acid) com adaptações (Rufino, 2007). O radical ABTS possui a capacidade de capturar prótons presentes na solução, demostrando o potencial antioxidante presente nas amostras analisadas. Após a captura, o radical fica estável, representado pela mudança na coloração de verde-escura para verde-clara. Para a preparação da solução estoque adicionou-se 0,192 g de ABTS em um balão volumétrico de 50 mL e completou o volume com água destilada. Para a preparação do radical ABTS, adicionou-se 0,88 mL da solução de persulfato de potássio em 50 mL da solução estoque de ABTS, emseguida, a solução foi armazenada em um vidro âmbar sob refrigeração por 16 horas.Para a análise, a solução de ABTS foi dissolvida em etanol até a leitura da absorbânciaentre 0,700 à 734 nm no espectrofotômetro UV-Vis Em tubos de ensaio, alíquotas de30 ~~uL~~ das diluições das amostras foram adicionadas em 3000 do radical de ABTSe homogeneizadas. As amostras foram armazenadas sob ausência de luminosidade por 6 minutos. A leitura da absorbância foi realizada à 734 nm no espectrofotômetro. Uma curva de calibração (Anexo- 2) foi preparada com TROLOX (6-Hidroxi-2,5,7,8- tetrametilchroman-2-ácido carboxílico) na concentração de 100 a 2000 uM, obtidos apartir da solução estoque de TROLOX (2000 uM). As análises foram realizadas em triplicata e os valores expressos média ± desvio padrão de atividade antioxidante expressos em milimolar (mM) de TROLOX equivalente por 100 mililitros (mL) de amostra (TROLOX EQ mM.100 mL^{-1}).

5.4 ESTATÍSTICA

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos por meio das médias e desvios-padrão. O valor de *p* foi calculado utilizando o teste de ANOVA não pareado. Quando as médias mostraram diferenças significativas

(p<0,05), o teste de *Tukey* foi aplicado para compará-las. Os dados foram analisados com uso do software STATISTICA®, versão 10.0.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 DETERMINAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS KOMBUCHAS

De acordo com os dados apresentados na tabela 1, constatou-se que o pH das três amostras analisadas de kombucha apresentaram uma redução significativa durante os sete dias de fermentação (de 6,63 para 2,96-3,21). Os valores encontrados de pH das bebidas (2,96-3,21) estão de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2019), que considera a bebida segura e adequada para consumo humano em uma faixa de pH de 2,5 a 4,2. Observou-se um aumento da acidez das amostras de kombucha com adição de Cranberry e Blueberry (KC = 0,88 g/100mL e KB = 0,94 g/100mL) em relação ao kombucha de chá preto que apresentou 0,58 g/100mL de acidez.

Tabela 1 - Determinação da acidez total e do pH nas amostras de kombucha sem adição de frutas e com adição de sucos de Cranberry e Blueberry

Amostras	Acidez total (g/100 mL)	pH
XM	N	$6,63 \pm 0,02^{a}$
KP	$0,58 \pm 0,01^{a}$	$3,21 \pm 0,04^{b}$
KC	$0,88 \pm 0,00^{b}$	$3,18 \pm 0,07^{b}$
KB	$0,94 \pm 0,02^{b}$	$2,96 \pm 0,07^{c}$

Fonte: elaboração própria. Valores descritos como média de análises em triplicata ± desvio padrão. XM= xarope de açúcar mascavo; KP = kombucha de chá preto; KC = kombucha de cranberry; KB = kombucha de blueberry. N = não quantificado. As médias na mesma coluna com letras diferentes são significativas a $p<0,05$ de acordo com o teste de *Tukey*.

Outros estudos na literatura reportaram resultados similares. Velasque (2022) utilizou suco de uva na segunda fermentação do kombucha de chá preto e observou um pH de 3,45 e acidez titulável de 3,86 g/100mL. Abuduaibifu e Tamer (2019) utilizaram gojiberry vermelho e gojiberry preto na segunda fermentação do kombucha de chá preto e observaram um pH de 3,60-3,76 e acidez titulável de 0,11 g/100mL em 24 h de fermentação. Crispino (2022) utilizou frutos amazônicos (cupuaçu, taperebá e bacuri) na segunda fermentação do kombucha do chá verde e obteve um pH de 2,98-3,18 e acidez titulável de 0,39-0,41 g/100mL.

No processo de fermentação do kombucha os microrganismos presentes transformam os açúcares da bebida em ácido lático, ácido acético e outrosácidos orgânicos. A sacarose, ao ser hidrolisada, gera duas moléculas, uma de glicosee outra de frutose. As leveduras presentes no SCOBY, transformam a glicose em etanol e na sequência, bactérias presentes metabolizam o etanol a ácidos orgânicos (Jayabalan *et al.*, 2014).

De acordo com Hur *et al*. (2014) o crescimento microbiano está diretamente relacionado a modificação do pH e acidez titulável do meio em qualquer tipo de fermentação. O baixo pH e alta acidez do kombucha só permitem o crescimento de microrganismos específicos capazes de sobreviverem nesse meio ácido, favorecendo uma proteção contra microrganismos patogênicos que não se desenvolvem em meios ácidos.

6.2 DETERMINAÇÃO DE SACAROSE E SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS (SST) DOS KOMBUCHAS

A tabela 2 apresenta os resultados das análises de sacarose e sólidos solúveis totais (SST) determinados nos três tipos de kombucha analisados.

Tabela 2 – Determinação de sacarose e sólidos solúveis totais (SST) nas amostras de kombucha sem adição de frutas e com adição de sucos de Cranberry e Blueberry

Amostras	**Sacarose (g/100 mL)**	**SST (°Brix)**
XM	N	$10,0 \pm 0,00^{a}$
KP	$2,5 \pm 0,90^{a}$	$7,2 \pm 0,10^{b}$
KC	$29,5 \pm 12,00^{c}$	$10,4 \pm 0,20^{a}$
KB	$10,9 \pm 1,70^{b}$	$11,7 \pm 0,30^{c}$

Fonte: elaboração própria. Valores descritos como média de análises em triplicata ± desvio padrão. XM= xarope de açúcar mascavo; KP = kombucha de chá preto; KC = kombucha + suco de cranberry; KB= kombucha + suco de blueberry. N = não quantificado. As médias na mesma coluna com letrasdiferentes são significativas a $p<0,05$ de acordo com o teste de *Tukey.*

Para a primeira fermentação, foi utilizado uma solução aquosa de açúcar mascavo com um teor de SST de 10ºBrix e após 7 dias de fermentação, o kombucha

de chá preto apresentou 2,5 g/100 mL de sacarose e 7,2ºBrix. Velasque (2022) obteve valor de SST de 4,5ºBrix no kombucha de chá preto após 7 dias de fermentação.

Abuduaibifu e Tamer (2019) obtiveram valor de SST de 5,8ºBrix no kombucha de chápreto após 2 dias de fermentação. E Crispino (2022) obteve valor de SST de apenas 1,0ºBrix no kombucha de chá verde após 7 dias de fermentação.

A adição das frutas Cranberry e Blueberry aumentou tanto o teor de SST quanto de sacarose nas bebidas. Assim, o KC apresentou 29,5 g/100 mL de sacarose e 10,4ºBrix e o KB apresentou 10,9 g/100 mL de sacarose e 11,7ºBrix. A partir desses resultados é possível inferir que a adição de frutas ao kombucha na segunda fermentação de 24 h., acrescentou açúcar às bebidas, pois essas frutas são ricas em glicose e frutose. Crispino (2022) observou um aumento do teor de SST de 1,0 para 4,0ºBrix no kombucha de cupuaçu, enquanto o teor de SST dos kombuchas de taperebá e bacuri foi de 2,0ºBrix.

6.3 6.3 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS KOMBUCHA

A tabela 3 apresenta os valores de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante das matérias primas (xarope de açúcar mascavo e chá preto) utilizadas na elaboração do kombucha.

Tabela 3 – Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante das matérias primas utilizadas na elaboração da bebida kombucha

Amostras	**Compostos fenólicos totais**	**DPPH**	**ABTS**
	(mg GAE/mL)	**Trolox EQ mM/100mL**	
XM	5,69 ± 0,19[a]	316,19 ± 20,01[a]	569,76 ± 19,03[a]
CP	16,69 ± 0,21[b]	459,10 ± 16,09 [b]	1668,67 ± 20,68 [b]

Fonte: elaboração própria. Valores descritos como média de análises em triplicata ± desvio padrão.XM= xarope de açúcar mascavo; CP = chá preto. DR% = % de descoloração do radical. As médias na mesma coluna com letras diferentes são significativas a $p<0,05$ de acordo com o teste de *Tukey.*

Nesse estudo, o xarope de açúcar mascavo apresentou um teor de compostos fenólicos de 5,7 mg GAE/mL enquanto o chá preto apresentou 16,7 mg GAE/mL. Barrera *et al.* (2020) identificaram compostos fenólicos como ácidos hidroxicinâmicos

(clorogênico, cafeico, cumárico, ferúlico) e flavonas (apigenina, tricina, luteolina) no açúcar mascavo. Cardoso *et al*. (2020) analisaram a presença de compostos fenólicos no kombucha de chá preto e de chá verde e observaram que o teor de compostos fenólicos do kombucha de chá preto foi de 109 mg GAE/100 mL, 55,7% superior ao do chá verde com 70 mg GAE/100 mL.

O chá preto deste estudo apresentou valores de atividade antioxidante de 459,10 mM/100 mL no teste de DPPH e 1668,67 mM/100 mL no teste de ABTS e 51,2% de descoloração do radical pelo método DPPH. Pure e Pure (2016) analisaram o chá preto e observaram 26,2% de descoloração do radical pelo método DPPH. Carloni *et al.* (2013) obtiveram no chá preto um valor de atividade antioxidante de 340 mM/100mL pelo método ABTS.

Para o xarope de açúcar mascavo foi obtido atividade antioxidante de 316,19 mM/100mL pelo método DPPH e 569,76 mM/100mL pelo método ABTS. Asikin *et al.* (2016) reportaram valores de atividade antioxidante entre 149,5 e 169,8 mM/100 mL no teste de DPPH para amostras de açúcar mascavo.

A tabela 4 apresenta os resultados dos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante dos kombuchas de chá preto, Blueberry e Cranberry.

Tabela 4 – Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante nas amostras de kombucha sem adição de frutas e com adição de sucos de Blueberry e Cranberry

Amostras	**Compostos fenólicos totais**	**DPPH**	**ABTS**
	(mg GAE/mL)	**Trolox EQ mM/100mL**	
KP	5,88 ± 0,04^{a}	312,29 ± 6,68^{a}	512,83 ± 38,44^{a}
KB	12,65 ± 0,45^{b}	502,43 ± 16,07^{b}	1006,10 ± 70,31^{b}
KC	7,33 ± 0,09^{c}	403,14 ± 15,42^{c}	766,31 ± 63,35^{c}

Fonte: elaboração própria. Valores descritos como média de análises em triplicata ± desvio padrão.KP= kombucha de chá preto; KC = kombucha + suco de cranberry; KB = kombucha + suco de blueberry.As médias na mesma coluna com letras diferentes são significativas a $p<0,05$ de acordo com o teste de *Tukey.*

O kombucha de Blueberry apresentou o maior teor de compostos fenólicos (12,65 mg GAE/mL) e a maior atividade antioxidante (1006,10 e 502,43 mM/100 mL nos métodos de ABTS e DPPH, respectivamente). Em seguida, o kombucha de Cranberry apresentou teor de compostos fenólicos de 7,33 mg GAE/mL e atividade antioxidante de 766,31 e 403,14 mM/100 mL nos métodos de ABTS e DPPH,

respectivamente. E por fim, o kombucha de chá preto apresentou o menor teor de compostos fenólicos (5,88 mg GAE/mL) e a menor atividade antioxidante (512,83 e 312,29 mM/100 mL nos métodos de ABTS e DPPH, respectivamente). Assim, a adição dos sucos de Cranberry e Blueberry ao kombucha contribuiu para o aumento do teor de compostos fenólicos e da atividade antioxidante das bebidas.

Abuduaibifu e Tamer (2019) obtiveram teor de compostos fenólicos de 10,79 mg GAE/mL para o kombucha de chá preto, 5,77 mg GAE/mL para o kombucha de gojiberry preto e 3,53 mg GAE/mL para o kombucha de gojiberry vermelho. Crispino (2022) analisou quatro amostras de kombucha e obteve teor de compostos fenólicos de 34,92 mg GAE/L para a kombucha de chá verde, 30,60 mg GAE/L para a kombucha de cupuaçu, 33,40 mg GAE/L para a kombucha de taperebá e 38,30 mg GAE/L para a kombucha de bacuri.

Abuduaibifu e Tamer (2019) obtiveram atividade antioxidante de 9,40 mM/100 mL para o kombucha de chá preto, 9,46 mM/100 mL para o kombucha de gojiberry preto e 9,27 mM/100 mL para o kombucha de gojiberry vermelho no método de DPPH. Crispino (2022) analisou quatro amostras de kombucha e obteve atividade antioxidante de 32,06 mM/100 mL para a kombucha de chá verde, 29,50 mM/100 mL para a kombucha de cupuaçu, 29,54 mM/100 mL para a kombucha de taperebá e 30,80 mM/100 mL para a kombucha de bacuri.

Assim, observa-se que os tipos de frutas utilizadas na saborização do kombucha influenciam diretamente no teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante das bebidas. O tipo de chá utilizado, tempo e temperatura de fermentação também influenciam na composição da bebida (Antolak; Piechota; Kucharska, 2021).

7 CONCLUSÃO

Este estudo avaliou as propriedades físico-químicas e a atividade antioxidante das bebidas de kombucha saborizadas com suco de Cranberry e de Blueberry. A adição dos sucos de Cranberry e de Blueberry ao kombucha contribuiu para o aumento do teor de compostos fenólicos e da atividade antioxidante das bebidas. O kombucha de Blueberry apresentou os maiores valores de compostos fenólicos e atividade antioxidante quando comparado ao kombucha de Cranberry e ao kombucha de chá preto.

Assim foi possível observar que a fermentação do kombucha com suco de frutas influenciou positivamente nas suas propriedades antioxidantes. Para estudos futuros, pretende-se realizar a análise sensorial das bebidas para verificar a aceitação dos consumidores em relação ao kombucha de Cranberry e ao kombucha de Blueberry. Ainda, ressalta-se a importância de estudos adicionais para compreender melhor as variações desses compostos bioativos e seu impacto na saúde, garantindo a viabilidade e segurança no consumo desses produtos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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, p. e14077, 2019.

ANTOLAK, H.; PIECHOTA, D.; KUCHARSKA, A. Kombucha tea double power of bioactive compounds from tea and symbiotic culture of bacteria and yeasts (SCOBY). **Antioxidants**, v. 10, n. 10, p. 1541, 2021.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. v. 2, ed. 15, Washington, 2006.

ASIKIN, Y. *et al.* Effects of different drying–solidification processes on physical properties, volatile fraction, and antioxidant activity of non-centrifugal cane brown sugar. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 340–347, 2016.

BARANOWSKA, M.; BARTOSZEK, A. Antioxidant and antimicrobial properties of bioactive phytochemicals from cranberry. **Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej**, v. 70, p. 1460- 1468, 2016.

BARRERA, C. *et al.* Phenolic profile of cane sugar derivatives exhibiting antioxidant and antibacterial properties. **Sugar Technology**, 2020.

BAYAZID, A. B. *et al*. Anthocyanins profiling of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extract that elucidates antioxidant and anti-inflammatory effects. **Food and Agricultural Immunology**, v. 32, n. 1, p. 713-726, 2021.

BHATTACHARYA, D. *et al.* Anti-virulence activity of polyphenolic fraction isolated from Kombucha against *Vibrio cholerae*. **Microbial Pathogenesis**, v. 140, p. 103927, 2020.

BOYANOVA, L. *et al.* Honey and green/black tea consumption may reduce the risk of *Helicobacter pylori* infection. **Diagnostic Microbiological Infection Disease**, v. 82, n. 1, p. 85-6, 2015.

BRASIL. Instrução Normativa nº 41, de 17 de setembro de 2019. Seção. In: Brasília, D.F. Resolve: **Estabelecer o Padrão de Identidade e Qualidade da Kombucha em todo o território nacional, na forma desta Instrução Normativa e do seu anexo.** Diário Oficial da União, Poder Executivo, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2019.

BRUSCHI, J.S.; SOUSA, R.C.S.; MODESTO, K.R. O ressurgimento do chá de kombucha. **Revista de Iniciação Científica e Extensão**, 2018.

CÂMARA, G. B. *et al*. Potencial de aplicabilidade de coproduto de frutas no desenvolvimento bebidas fermentadas do tipo kombucha: um estudo de revisão.

Research, Society and Development, v. 11, n. 5, p. e33811525846-e33811525846, 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.

CARLONI, P. *et al.* Antioxidant activity of white, green and black tea obtained from the same tea cultivar. **Food Research International**, v. 53, p. 900-908, 2013.

CRISPINO, A. C. **Desenvolvimento e avaliação de compostos bioativos em kombuchas saborizadas com frutas amazônicas**. Trabalho de conclusão de curso, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2022.

DA SILVA JÚNIOR, J. C. *et al*. Kombucha: Formulation, chemical composition, and therapeutic potentialities**. Current Research in Food Science**, 2022.

FOLIN, O.; DENIS, W. On phosphotungstic-phophomolybdic compounds as color reagents. **The Journal of Biological Chemistry**, v. XII, p. 239-243, 1912.

FU, C. *et al*. Antioxidant activities of kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotics during storage. **Food Science and Technology**, v. 34, n. 1, p. 123-126, 2014.

GOMES, R. J. *et al.* Acetic acid bacteria in the food industry: Systematics, characteristics and applications. **Food Technology and Biotechnology University**, v. 56, n. 2, p. 327-345, 2018.

HAYAT, K. *et al.* Tea and its consumption: benefits and risks. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 7, p. 939-954, 2015.

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

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. ed. 4, São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.

JAYABALAN, R. *et al*. A review on kombucha tea – microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 4, p. 538-550, 2014.

JURIKOVA, T. *et al*. Bioactive compounds, antioxidant activity, and biological effects of European cranberry (*Vaccinium oxycoccos*). **Molecules**, v. 24, n. 1, p. 24, 2018.

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

KIM, J.; ADHIKARI, K. Current trends in kombucha: Marketing perspectives and the need for improved sensory research. **Beverages**, v. 6, n. 1, p. 15, 2020.

LAAVANYA, D.; SHIRKOLE, S.; BALASUBRAMANIAN, P. Current challenges, applications and future perspectives of SCOBY cellulose of Kombucha fermentation. **Journal of Cleaner Production**, v. 295, p. 126454, 2021.

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

LLANO, D. G.; MORENO-ARRIBAS, M. V.; BARTOLOMÉ, B. Cranberry polyphenols and prevention against urinary tract infections: relevant considerations. **Molecules**, v. 25, n. 15, p. 3523, 2020.

MENDONÇA, G. R. *et al*. Propriedades antioxidantes e efeitos antimicrobianos da kombucha: revisão da evidência científica. **Revista Contexto & Saúde**, v. 20, n. 40, p. 244-251, 2020.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MOURA, A. B. **Monitoramento do processo fermentativo da kombucha de chá mate.** 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia em Alimentos) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, 2019.

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, 2017.

NG, K.W. *et al*. Oolong tea: A critical review of processing methods, chemical composition, health effects, and risk. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.58, n. 17, p 2957-2980, 2018.

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

ORTIZ, A. L. P. P. *et al*. Análise das propriedades físico-químicas de kombuchas comerciais. **Revista Científica Multidisciplinar**, v. 3, n. 12, p. e3122396-e3122396, 2022.

PERVIN, M. *et al*. Beneficial effects of green tea catechins on neurodegenerative diseases. **Molecules**, v. 23, n. 6, p. 1297, 2018.

PURE, A. E.; PURE, M. E. Antioxidant and antibacterial activity of kombucha beverages prepared using banana peel, common nettles and black tea infusions. **Applied Food Biotechnology**, v. 3, n. 2, p. 125-130, 2016.

RUFINO, M. *et al*. Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS+. **Comunicado Técnico. Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n. 128, p. 1- 4, 2007.

SHARMA, A.; LEE, H-J. Anti-Inflammatory activity of bilberry (*Vaccinium myrtillus L*.). **Current Issues in Molecular Biologoly**, v. 44, n. 10, p. 4570-4583, 30 set. 2022.

SILVA, F. F. *et al.* Bebida de kombucha: processamento, composição e potencial terapêutico. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 12, n. 2, p. 57-72, 2018.

SILVA, K. A. *et al*. Kombucha beverage from non-conventional edible plant infusion and green tea: characterization, toxicity, antioxidant activities and antimicrobial properties. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 34, p. 102032, 2021.

SILVEIRA, A. *et al*. Método de DPPH adaptado: uma ferramenta para analisar atividade antioxidante de polpa de frutos da erva-mate de forma rápida e reprodutível. **Comunicado Técnico. Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n. 421, p. 1-11, 2018.

ȘTEFĂNESCU, R. *et al*. An updated systematic review of Vaccinium myrtillus leaves: phytochemistry and pharmacology. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 1, p. 16, 2022.

VELASQUE, J. C. **Elaboração e avaliação físico-química e sensorial de kombucha de chá preto (*Camellia sinensis*) saborizado com sucos de uva**. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, 2022.

VILLARREAL-SOTO, S. A. *et al*. Understanding Kombucha tea fermentation: A review. **Journal of Food Science**, v. 84, n. 3, p. 487-501, 2019.

WATAWANA, M. I. *et al*. Health, wellness, and safety aspects of the consumption of kombucha. **Journal of Chemistry**, v. 2015, p. 1-11, 2015.

YOCCA, Alan E. *et al*. Blueberry and cranberry pangenomes as a resource for future genetic studies and breeding efforts. **Horticulture Research**, v. 10, n. 11, p. uhad202, 2023.

ZIEMLEWSKA, A. *et al*. Evaluation of cosmetic and dermatological properties of kombucha-fermented berry leaf extracts considered to be by-products. **Molecules**, v. 27, n. 7, p. 2345, 2022.

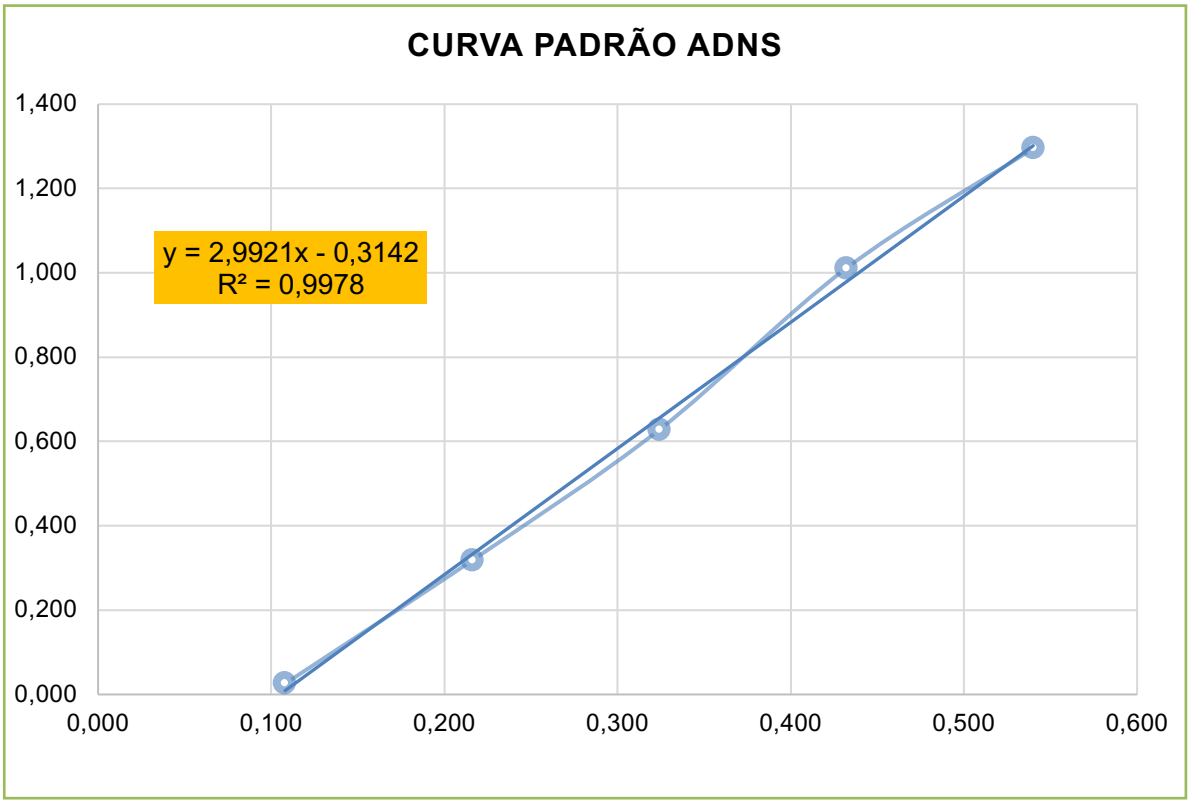
ZHOU, T. *et a*l. The effect of Chinese wild blueberry fractions on the growth and membrane integrity of various foodborne pathogens. **Journal of food science**, v. 85, n. 5, p. 1513-

ANEXOS

Anexo 1 - Tabela da determinação da curva padrão para ADNS

Água (mL)	Glicose (mL)	ADNS (mL)	Glicose (mg)	Absorbância (540 nm)
2,0	0,2	2	0,108	0,026
1,8	0,4	2	0,216	0,318
1,6	0,6	2	0,324	0,628
1,4	0,8	2	0,432	1,011
1,2	1,0	2	0,540	1,295

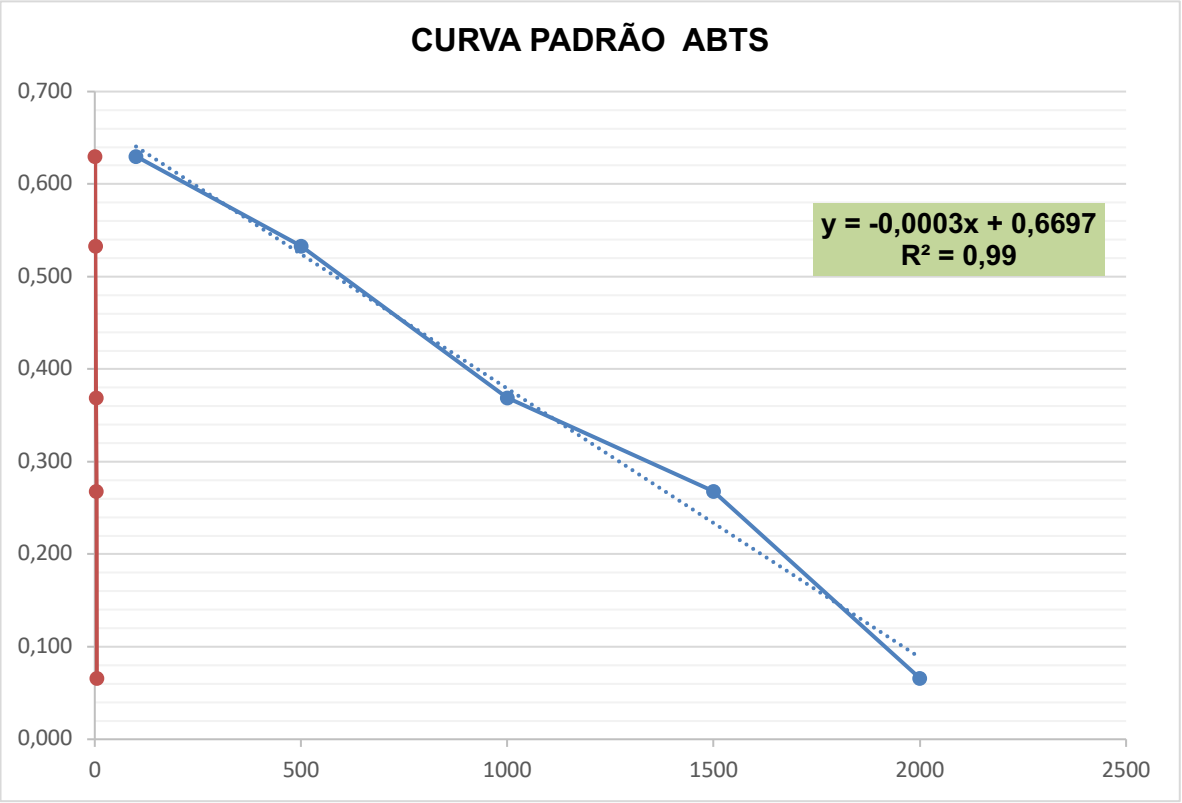
fonte: elaboração própria. Resultado [R] = Equação da reta [ER] X Fator de diluição [FD] ➤ Regra de 3 [1mL]. Valores expressos em g/100mL de amostra.



Anexo 2 - Tabela da determinação da curva padrão para ABTS

ABTS - 734nm - Abs: 0,7 - Trolox (30 µL) + ABTS (3000µL)				
Soluçã o Trolox 2mM. (µL)	**Álcoo l etílico (µL)**	**Concentraçã o Final (µM)**	**Absorbância (734 nm)**	
0,5	9,5	100	100	0,630
2,5	7,5	500	500	0,533
5,0	5,0	1000	1000	0,369
7,5	2,5	1500	1500	0,268
10,0	0,0	2000	2000	0,066

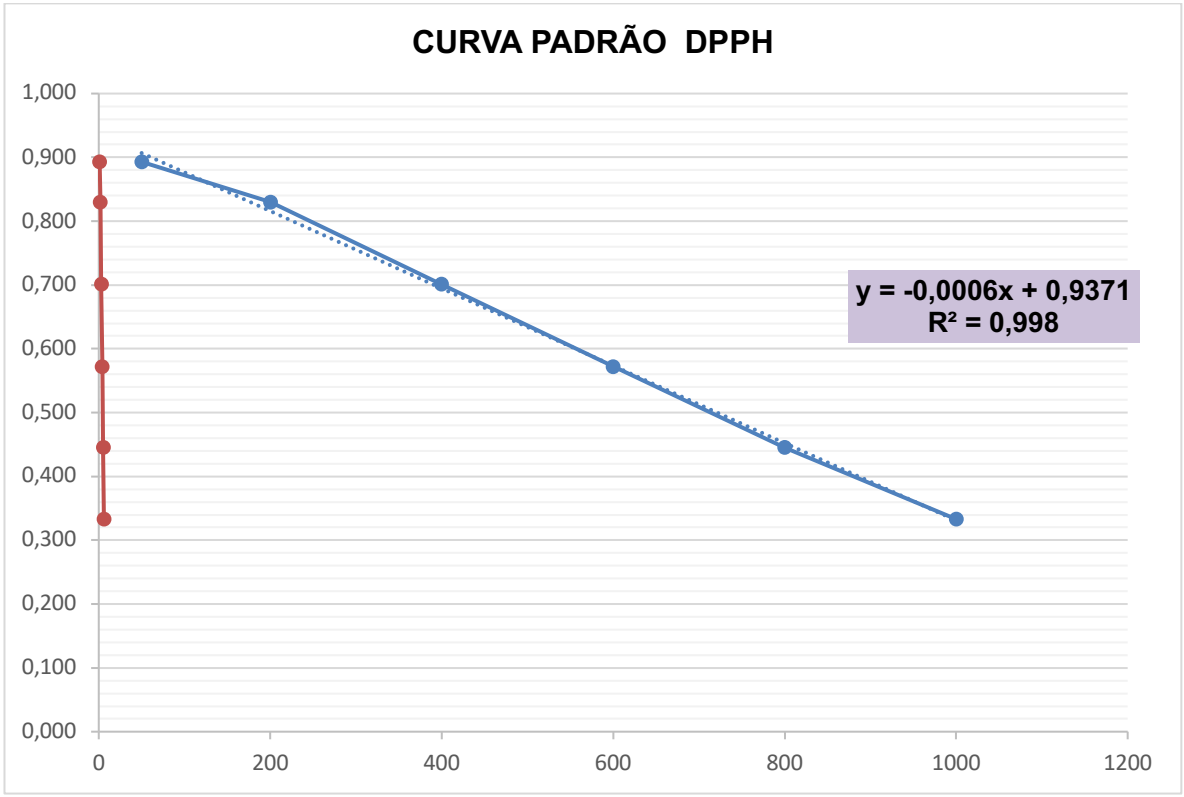
Fonte: elaboração própria. Resultado [R] = Equação da reta [ER] X Fator de diluição [FD] ➤ Regra de 3 [1mL]. Valores expressos em Trolox EQ mM/100mL de amostra.



Anexo 3 - Tabela da determinação da curva padrão para DPPH

DPPH 517nm - Abs: 1,1 a 0,9 - Trolox (100 µL) + DPPH (3900µL)				
Soluçã o Trolox 2mM. (µL)	**Álcoo l etílico (µL)**	**Concentraçã o Final (µM)**	**Absorbância (517 nm)**	
25	975	50	50	0,893
100	900	200	200	0,830
200	800	400	400	0,701
300	700	600	600	0,572
400	600	800	800	0,445
500	500	1000	1000	0,333

Fonte: elaboração própria. Resultado [R] = Equação da reta [ER] X Fator de diluição [FD] ➤ Regra de 3 [1mL]. Valores expressos em Trolox EQ mM/100mL de amostra.



Anexo 4 - Tabela da determinação da curva padrão para Fenólicos

FENÓLICOS - AC. TÂNICO 760nm				
Soluçã o Ácido Tânico 60µM. (µL)	**Águ a destilada (µL)**	**Concentraçã o Final (mg)**	**Absorbância (760 nm)**	
200	8300	0,02	0,02	0,008
400	8100	0,04	0,04	0,150
600	7900	0,06	0,06	0,294
800	7700	0,08	0,08	0,391
1000	7500	0,10	0,10	0,546
1200	7300	0,12	0,12	0,716

Fonte: elaboração própria. Resultado [R] = Equação da reta [ER] X Fator de diluição [FD] ➤ Regra de 3 [1mL]. Valores expressos em mg GAE/mL de amostra

