

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

**AUREA BARBOSA DE MOURA**

**MONITORAMENTO DO PROCESSO FERMENTATIVO DA  
KOMBUCHA DE CHÁ MATE**

Vitória de Santo Antão

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

**AUREA BARBOSA DE MOURA**

**MONITORAMENTO DO PROCESSO FERMENTATIVO DA  
KOMBUCHA DE CHÁ MATE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Graduação em Nutrição do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco em cumprimento a requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição, sob orientação da Professora Dr<sup>a</sup> Christine Lamenha Luna Finkler.

Vitória de Santo Antão

2019

Catálogo na fonte  
Sistema de Bibliotecas da UFPE - Biblioteca Setorial do CAV.  
Bibliotecária Jaciane Freire Santana, CRB4-2018

M929m Moura, Aurea Barbosa de.  
Monitoramento do processo fermentativo da kombucha de chá mate /  
Aurea Barbosa de Moura. - Vitória de Santo Antão, 2019.  
47 folhas; il.: color.

Orientadora: Christine Lamenha Luna Finkler.  
TCC (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Bacharelado  
em Nutrição, 2019.  
Inclui referências.

1. Bebida fermentada. 2. Kombucha. 3. Erva mate. I. Finkler, Christine  
Lamenha Luna (Orientadora). II. Título.

664.024 CDD (23. ed.)

**BIBCAV/UFPE-100/2019**

AUREA BARBOSA DE MOURA

**MONITORAMENTO DO PROCESSO FERMENTATIVO  
DA KOMBUCHA DE CHÁ MATE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Graduação em Nutrição do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco em cumprimento a requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição

Data: 28/06/2019

**Banca Examinadora:**

---

Prof<sup>a</sup> Idjane Santana de Oliveira (Examinadora Interna)

Centro Acadêmico de Vitória – Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup> Wylla Tatiana Ferreira e Silva (Examinadora Interna)

Centro Acadêmico de Vitória – Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof. Gabriel Olivo Locatelli (Examinador Externo)

Centro Acadêmico de Vitória – Universidade Federal de Pernambuco

Aos meus pais e irmãos que sempre me apoiaram e não mediram esforços para que eu chegasse até essa etapa da minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais e irmão por sempre acreditarem em mim, por todo incentivo e por não medirem esforços em me ajudar a conquistar meus objetivos.

As minhas amigas Camila e Luana, por todo apoio, carinho, por sempre torcerem por mim e sempre estiveram próximas nos momentos em que precisei, vocês realmente são as melhores amigas que eu poderia ter.

A minha orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Christine Lamenha Luna Finkler, pela oportunidade de realizar a pesquisa, pelo apoio, confiança e orientação no decorrer de toda pesquisa.

Ao técnico Gabriel pela atenção, paciência e por toda ajuda nas realizações das análises.

A Cassandra, Ivone e Leticia por toda amizade ao longo desses anos de faculdade, por todo apoio e ajuda especialmente nessa reta final do curso.

Um agradecimento especial a Laís, um presente que ganhei neste último ano de faculdade, por todo companheirismo durante o período do estágio, nas noites em claro de análises no laboratório, por sua paciência em aturar a falta da minha. Por todas as risadas e sofrimentos compartilhados ao longo deste último período.

A todos que contribuíram de alguma forma para a concretização desse trabalho.

Aos membros da banca, por terem aceitado participar e pelas valiosas contribuições.

Muito obrigada!!

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

(ALENCAR, 1865)

## RESUMO

Kombucha é uma bebida fermentada de origem asiática que possui sabor adocicado, ligeiramente ácido e levemente gaseificado, proporcionando maior aceitação entre os consumidores. É resultante da fermentação do chá preto ou chá verde açucarado ao qual é adicionado um biofilme composto pela associação simbiótica de bactérias acéticas e leveduras, denominado SCOBY, capaz de sintetizar diversas reações durante o processo de fermentação. O presente trabalho teve como objetivo realizar o processo fermentativo para a produção de Kombucha utilizando o chá de erva-mate como substrato e monitorar o processo fermentativo pela análise de pH, acidez total titulável, concentração de sólidos solúveis, concentração de sólidos além de saborizar a bebida e caracteriza-la em relação aos parâmetros citados. As análises de acidez titulável da bebida não saborizada apresentaram resultado de 2,8 encontrando-se abaixo do recomendado pela legislação, porém após a saborização a bebida atingiu um valor de 7,29% atingindo os valores estabelecidos pela legislação. Este trabalho enfatiza a importância de realizar o monitoramento do processo fermentativo visando caracterizar a Kombucha em relação aos seus parâmetros físico-químicos de forma a serem estabelecidos padrões de produção para a obtenção de um produto final com as características sensoriais desejáveis.

Palavras-chave: Kombucha. Erva mate. SCOBY

## **ABSTRACT**

Kombucha is a fermented drink of Asian origin that has a sweet, slightly acid and slightly aerated flavor, providing greater acceptance among consumers. It is the result of the fermentation of black tea or sugary green tea to which is added a biofilm composed by the symbiotic association of acetic bacteria and yeasts, called SCOBY, capable of synthesizing several reactions during the fermentation process. The objective of the present work was to carry out the fermentation process for the production of Kombucha using yerba mate tea as a substrate and to monitor the fermentation process by pH analysis, titratable total acidity, soluble solids concentration, solids concentration and flavoring beverage and characterizes it in relation to the mentioned parameters. The titratable acidity analyses of the unstasted beverage had a result of 2,8, which is below the recommended by the legislation, however, after tasting the beverage reached a value of 7,29% reaching the values established by the legislation. This work emphasizes the importance of performing the fermentation process monitoring to characterize kombucha in relation to its parameters physicochemical products in order to establish production patterns for obtaining a final product with desirable sensory characteristics.

Key words: Kombucha. Matt herb. SCOBY

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Tubo Falcon contendo a amostra da Kombucha fermentado onde é possível observar a presença de gases.....	5
Figura 2 – Cubeta direita: Chá da Kombucha no início do processo fermentativo; Cubeta esquerda: Chá da Kombucha após 24h de fermentação.....	9
Figura 3 – Fluxograma de preparo da Kombucha artesanal.....	11
Figura 4 – Embalagem do produto contendo o SCOBY e o chá starter para o preparo da Kombucha.....	18
Figura 5 – Recipiente usado para a fermentação da Kombucha.....	19
Figura 6 – Cápsulas de alumínio usadas para a secagem da Kombucha. (A) Cápsulas vazias; (B) Cápsulas contendo as amostras após o processo de secagem.....	22
Figura 7 – Cinética do pH e da Acidez total titulável durante a fermentação da Kombucha.....	23
Figura 8 – Sólidos solúveis totais (SST%) e Concentração de sólidos Totais Secos (g/L) durante a fermentação da Kombucha .....	24

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados das análises da Kombucha saborizada e valores estabelecidos na legislação.....	25
--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CITRUS	Associação Nacional dos exportadores de suco cítrico
DHPP	Radical livre indicador de atividade antioxidante
EC	Epicatequinas
ECG	Epicatequinagalato
ECGC	Epigallocatequina-3-galato
EGCG	Epigalocatequina-3-galato
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HPLC	Cromatografia Líquida de alta eficiência
pH	Potencial hidrogeniônico
PM	Peso molecular
NaOH	Hidróxido de sódio
UFC	Unidade Formadora de Colônias

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	16
2.1 Objetivo geral .....	16
2.2 Objetivos específicos .....	16
<b>3 JUSTIFICATIVA</b> .....	17
<b>4 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	18
4.1 Kombucha .....	18
4.2 Ingredientes da Kombucha .....	19
4.2.1 Erva-mate .....	19
4.2.2 Açúcar .....	21
4.2.3 Microrganismos .....	21
4.3 Preparo artesanal da Kombucha .....	23
4.4 Composição química .....	25
4.5 Potenciais benefícios da Kombucha para a saúde .....	27
4.6 Efeitos toxicológicos e contra indicações .....	28
4.7 Legislação brasileira .....	29
4.8 Mercado consumidor brasileiro .....	30
<b>5 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	32
5.1 Obtenção da cultura da Kombucha .....	32
5.2 Preparo do substrato .....	32
5.3 Procedimento para fermentação .....	33
5.4 Segunda fermentação – Saborização da Kombucha .....	34
5.5 Análises físico-químicas .....	34
5.5.1 pH .....	34
5.5.2 Acidez total titulável .....	34

5.5.3 Sólidos solúveis totais .....	35
5.5.4 Concentração de sólidos Totais .....	35
<b>6 RESULTADOS</b> .....	<b>37</b>
6.1 pH e Acidez Total Titulável .....	37
6.2 Sólidos Solúveis Totais e Concentração de Sólidos Totais Secos .....	38
6.3 Resultados da Kombucha saborizada .....	38
<b>7 DISCUSSÃO</b> .....	<b>40</b>
<b>8 CONCLUSÕES</b> .....	<b>43</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>44</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a procura por uma alimentação saudável vem ganhando cada vez mais espaço, fazendo com que o consumidor priorize não apenas o aspecto sensorial de um produto, mas também os benefícios e funcionalidades que este pode acrescentar em sua rotina.

É possível notar uma crescente demanda por alimentos ditos como funcionais, ou seja, aqueles que segundo a ANVISA, quando consumidos como parte de uma dieta usual, produzem efeitos metabólicos e/ou fisiológicos benéficos à saúde, sendo considerados seguros para consumo sem supervisão médica. Segundo Ferreira (2014) entre os alimentos funcionais destacam-se os probióticos, que tem como função principal manter a integridade intestinal dos indivíduos, podendo ser usados, por exemplo, nos casos em que se deseja restabelecer a microbiota em casos de disbiose intestinal.

Dentro desse seguimento de alimentos funcionais, um que vem ganhando cada vez mais espaço e se popularizando por estar dentro das tendências atuais de mercado é a Kombucha.

Kombucha é uma bebida fermentada de origem asiática que possui sabor adocicado, ligeiramente ácido e levemente gaseificado, proporcionando maior aceitação entre os consumidores. É resultante da fermentação do chá preto ou chá verde açucarado ao qual é adicionado um biofilme composto pela associação simbiótica de bactérias (prioritariamente produtoras de ácido acético) e leveduras, denominado de SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*), capazes de realizar diversas reações bioquímicas durante o período de fermentação, dentre elas: produção de ácidos orgânicos, etanol, vitaminas hidrossolúveis e uma diversidade de micronutrientes (JAYABALAN, 2016; SANTOS, 2018).

O chá preto ou chá verde são os substratos preferidos para a fermentação de Kombucha. Ambos são produzidos a partir da folha da *Camellia sinensis* e apresentam teor elevado de cafeína, sendo esta utilizada como substrato pelos microrganismos. Além disso, pesquisas realizadas afirmam que o consumo regular desses chás acarreta benefícios à saúde humana, os quais estão relacionados com a presença de compostos fenólicos, característicos do desenvolvimento de plantas e que quando presentes frequentemente na dieta, podem reduzir os riscos de doenças

cardiovasculares (RODRIGUEZ, 2018; PALUDO, 2017). Outros substratos alternativos podem ser utilizados para a produção de Kombucha em substituição ao chá preto ou verde, e dentre as opções o substrato escolhido para ser usado neste trabalho foi a erva-mate.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Realizar o processo fermentativo para a produção da bebida Kombucha utilizando o chá de erva-mate como substrato.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Desenvolver de forma artesanal a bebida Kombucha à base de chá de erva-mate;
- Monitorar o processo fermentativo pela análise de pH, acidez total titulável, concentração de sólidos solúveis e concentração total de sólidos antes e após saborização.

### **3 JUSTIFICATIVA**

A Kombucha está se tornando cada vez mais popular entre os consumidores que buscam um estilo de vida mais saudável. Por se tratar de uma bebida que pode ser elaborada em casa, de forma artesanal, é necessária a divulgação de informações científicas sobre sua produção visando informar a população sobre as corretas condições de preparo, fontes alternativas de substrato, bem como uniformizar sua produção em escala industrial.

Através do monitoramento do processo fermentativo é possível a obtenção de dados sobre os parâmetros envolvidos, de forma a contribuir para um melhor entendimento do processo de obtenção da bebida, possibilitando um melhor planejamento e controle das condições de fermentação para se obter uma bebida com as características sensoriais desejadas.

## 4 REVISÃO DA LITERATURA

### 4.1 Kombucha

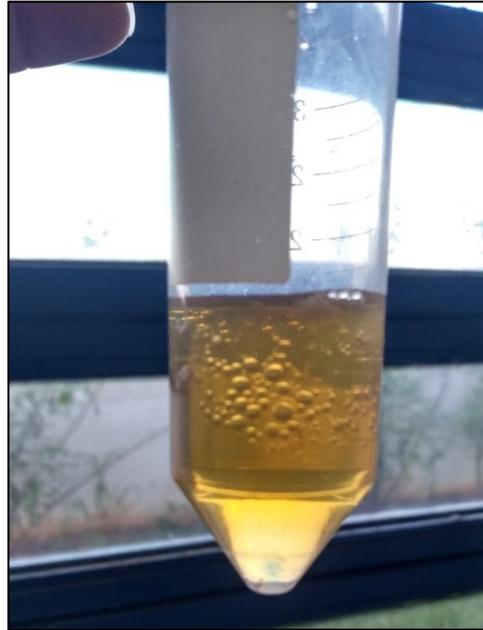
A Kombucha é uma bebida milenar de origem asiática, caracterizada pelo sabor agridoce, produzida originalmente com chá preto ou verde açucarado e fermentada em temperatura ambiente por um consórcio simbiótico de bactérias acéticas e leveduras denominado de SCOBY (PALUDO, 2017; SANTOS *et al.*, 2018; SANTOS, 2016).

Desde o seu descobrimento, existem relatos demonstrando que essa bebida pode auxiliar na redução do risco de doenças crônicas e também possui propriedades curativas, porém só na última década é que se observou uma explosão em sua popularidade principalmente em países como os Estados Unidos, que atualmente possui um mercado bem estabelecido para esse produto (SANTOS, 2016). Entretanto, ainda não existem comprovações científicas de seus reais benefícios, mas sabe-se que é uma bebida que apresenta grande potencial biotecnológico.

Segundo Jayabalan *et al.* (2010), o SCOBY é constituído majoritariamente por proteínas e fibras e ao final do processo de fermentação sempre será formado um novo SCOBY na superfície do recipiente, que deverá ser guardado na geladeira juntamente com um pouco do chá fermentado para ser utilizado em uma próxima fermentação.

Durante a fermentação, o chá começa a liberar aroma fermentado e também ocorre a produção de gás resultado do ácido carbônico produzido na reação, como pode ser observado na figura 1 (JAYABALAN, 2014).

Figura 1- Tubo Falcon contendo amostra da Kombucha fermentada, onde é possível observar a presença de gases.



Fonte: MOURA, A. B. de, (2019).

As características sensoriais e a composição química da Kombucha são dependentes de fatores como o tipo de chá e açúcar utilizado para o procedimento, dos microrganismos presentes no SCOBY (visto que a sua composição varia de produtor para produtor), além das condições de fermentação, como tempo e temperatura. O tempo de fermentação pode variar de 7 a 12 dias, considerando que quanto mais tempo o produto ficar fermentando mais ácido será o sabor, enquanto a temperatura pode variar de 22 a 30°C (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000 *apud* PALUDO, 2017).

Ao final do procedimento recomenda-se consumir a Kombucha refrigerada, podendo ser servida como um substituto do refrigerante devido ao seu alto grau de carbonatação.

## 4.2 Ingredientes da Kombucha

### 4.2.1 Erva-mate

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* StHil) é originária da América do Sul e se desenvolve de forma natural no Brasil, Argentina e no Paraguai. Estima-se que 80%

da sua área de ocorrência pertença ao Brasil, sendo a região sul a maior produtora, representando um papel socioeconômico e ambiental relevante, especialmente nas propriedades de pequeno porte (ESMELINDRO *et al.* 2002; RODIGUERI; SCHLOSSNACHER NETO; CICHACZEWSKI, 1995 *apud* PALUDO, 2017).

Os produtos comerciais derivados do processamento da erva-mate são usados na preparação de vários tipos de bebidas que são apreciadas pelo seu sabor amargo peculiar e suas propriedades funcionais (antioxidantes, estimulante, diurético, hipocolesterolêmico e hepatoprotetor). A maior parte das folhas colhidas de erva-mate é usada no preparo de chás (conhecido como chá de erva-mate), uma bebida de infusão com água quente (chimarrão), e uma bebida fria (tererê) (BERTÉ *et al.*, 2014). Apesar do grande percentual de produção nacional da erva-mate e de seus comprovados benefícios, ela ainda é pouco aproveitada em relação à sua versatilidade, sendo utilizada em sua maioria para o chimarrão, tererê ou para chá-mate.

Publicações recentes relatam que o consumo do chá da erva-mate foi capaz de reduzir a glicemia em jejum e hemoglobina glicada em pacientes com diabetes Mellitus tipo 2 (DM2). (KLEIN *et al.*, 2011). Boaventura *et al.* (2012) relatam que a ingestão de erva-mate aumentou a capacidade antioxidante e atividade sérica da enzima antioxidante paroxonase-1 em indivíduos com dislipidemias. Também apresenta a capacidade de reduzir os níveis de LDL- colesterol e aumentar os níveis de HDL – colesterol através do seu consumo (DE MORAIS *et al.*, 2009).

Outras propriedades que se destacam na erva-mate é seu efeito estimulante, anticonvulsivo e neuroprotetor do sistema nervoso central, sendo estas atribuídas ao seu alto teor de cafeína e fenólicos (BASTOS *et al.*, 2007 *apud* PALUDO, 2017). Outras propriedades funcionais, incluindo efeitos diuréticos e antifúngicos associadas aos compostos bioativos presentes na erva-mate, também foram relatadas (FILIP; DAVICINO; ANESINI, 2010; KIM *et al.*, 2015; PANG; CHOI; PARK, 2008). Efeitos benéficos da erva mate no metabolismo de lipídios, glicose e antioxidantes também foram demonstrados em estudos realizados *in vitro*, *ex vivo* e em modelo animal (BRACESCO *et al.*, 2011).

Sua composição foi parcialmente caracterizada na literatura. Inclui uma variedade de fitoquímicos ativos, cujos compostos mais altos são os polifenóis (ácido clorogênico) e xantinas (cafeína e teobromina), seguidos por alcalóides de purina (ácido cafeico, ácido 3,4-dicico-quinílico e 3, ácido 5-dicaffeoylquinico),

flavonóides (quercetina, kaempferol e rutina), aminoácidos, minerais (P, Fe e Ca) e vitaminas (C, B1 e B2). Estes são os constituintes principais relevantes para a capacidade antioxidante da erva-mate (BASTOS *et al.*, 2007a; BRAVO; GOYA; LECUMBERRI, 2007; FILIP *et al.*, 2001).

#### 4.2.2 Açúcar

O açúcar é essencial na produção da Kombucha, visto que é o substrato para a simbiose de bactérias e leveduras que o transformarão nas substâncias que a caracterizam. De acordo com a RDC nº 271 de 22 de setembro de 2005, o açúcar é definido como a sacarose obtida do caldo de cana de açúcar ou de beterraba (BRASIL, 2005).

Segundo Reiss (1994), o açúcar é considerado o melhor substrato para a fermentação da Kombucha. Durante o processo de fermentação a sacarose é degradada através de enzimas, produzidas por leveduras presentes no SCOBY, e convertida em glicose e frutose. Posteriormente, as leveduras transformam a glicose em dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e álcool etílico, que são as principais fontes para a produção de ácidos responsáveis pelas características sensoriais do produto.

Além disso, as bactérias acéticas utilizam a sacarose 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* (JAYABALAN, 2014).

Segundo Reis (1994), o melhor açúcar para ser utilizado na produção da Kombucha é o açúcar branco. Quando fontes diferentes de sacarose são utilizadas, como o melaço por exemplo, o teor dos ácidos produzidos durante o processo fermentativo é consideravelmente menor (JAYABALAN *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2018; SANTOS 2016).

#### 4.2.3 Microrganismos

Os microrganismos presentes na Kombucha encontram-se tanto no líquido como no SCOBY. O SCOBY é a película gelatinosa que se forma na superfície do líquido e, a cada fermentação, são formadas novas camadas de película na parte

superior que está em contato com o ar, sendo sempre essa a mais recente (JARRELI; CAL; BENNETT, 2000).

Estudos que buscam identificar os microrganismos na Kombucha podem apresentar certa dificuldade visto que algumas espécies podem ser difíceis de isolar; além disso, a dependência exclusiva de traços fenotípicos pode levar a erros de identificação (RASPOR e GORANOVIC, 2008). Assim como outras associações de microrganismos, como o kefir, derivado do leite, a definição exata da composição da Kombucha não está bem definida, pois depende da sua origem, substratos e condições de produção (JAYABALAN *et al.*, 2014).

Dentre os microrganismos identificados na Kombucha as bactérias acéticas são predominantes. As principais são *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Acetobacter acetie* e *Acetobacter pasteurianus*. *Acetobacter xylinum* é a espécie mais recorrente, e tem a capacidade de sintetizar uma rede de celulose flutuante (SCOBY) que melhora a associação formada entre bactérias e fungos (BALENTINE; WISEMAN; BOUWENS, 1997 *apud* PALUDO, 2017).

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

Devido à produção de ácidos orgânicos, o pH da Kombucha reduz ao longo do processo fermentativo. A cor do líquido vai ficando mais clara, em relação à cor original do chá, devido às alterações que ocorrem na conformação dos complexos fenólicos resultantes da ação de enzimas microbianas sobre os polifenóis (LIU *et al.*, 1996). Essa degradação do pigmento também foi observada durante este experimento, como pode ser notado na Figura 2.

Figura 2 - Cubeta direta: Chá da Kombucha no início do processo fermentativo; Cubeta esquerda: Chá da Kombucha após 24h de fermentação.



Fonte: MOURA, A. B. de, (2019).

### 4.3 Preparo artesanal da Kombucha

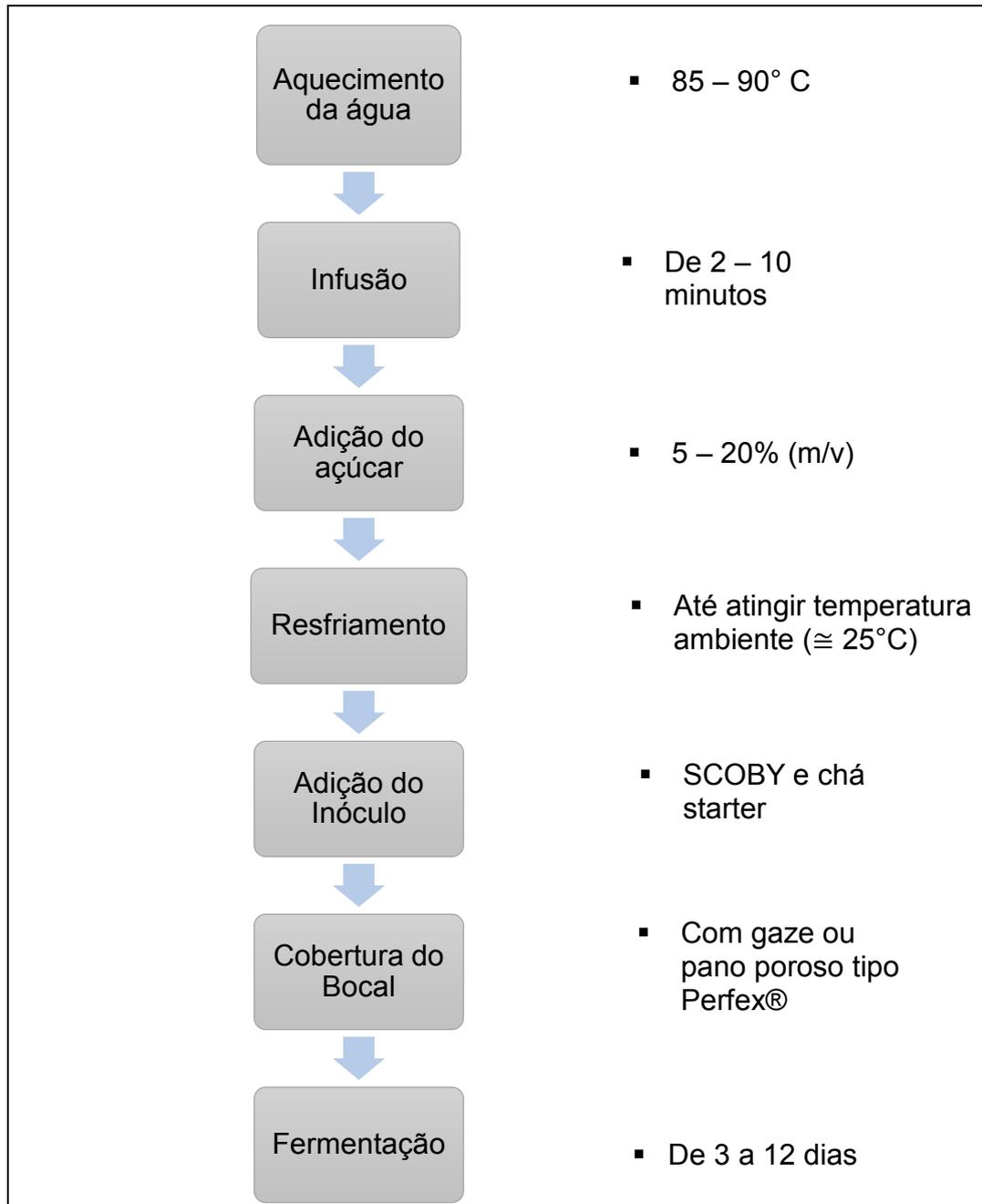
O chá preto e o chá verde, adicionados de açúcar, podem ser utilizados como substrato tanto em sua forma isolada como em mistura. As proporções de chá e açúcar variam de acordo com a literatura. O teor recomendado de açúcar varia de 5 a 20% do volume, enquanto o teor de erva varia de acordo com a intensidade do sabor desejado. Pure e Pure (2016) utilizaram 20g/L de sacarose e 10g/L de ervas secas na infusão, enquanto Kallel *et al.* (2012) utilizaram 100g de açúcar e 12g/L de chá seco na preparação de seu substrato. O tempo de infusão do chá varia de acordo com cada tipo de chá e do produtor, podendo variar de 2 a 10 minutos (PALUDO, 2017).

Após a preparação do novo substrato, espera-se que o líquido atinja a temperatura ambiente para então adicionar o inóculo, composto pelo SCOBY e pela Kombucha previamente fermentada em um volume de 10 a 20% do recipiente o qual ocorrerá a fermentação. Ao escolher o recipiente para a fermentação é importante optar por um que apresente o bocal largo para facilitar a troca de ar com o ambiente, visto que é nessa superfície que será formada a nova película acima da antiga. A cobertura deve ser feita com gaze limpa ou pano poroso para que ocorra a passagem de ar e para que possíveis contaminações com insetos ou sujidades sejam evitadas (PALUDO, 2017).

Durante o processo de fermentação o sabor da Kombucha varia de agradavelmente doce e frutado para “avinagrado”, devido à produção de altos níveis de ácidos orgânicos (JAYABALAN *et al.*, 2014). Para Loncar *et al.* (2016), que

avaliaram a cinética da sacarose na fermentação da Kombucha, a melhor faixa de temperatura para a fermentação é de 22 a 30°C com um tempo de fermentação de 3,5 a 5 dias. Após a fermentação, pode ser realizada uma nova fermentação em recipiente fechado para facilitar a formação de gás carbônico, adicionando sucos ou pedaços de fruta e/ou ervas para a saborização. Quanto maior a quantidade de açúcar dos insumos maior será o tempo de carbonatação. Depois da bebida pronta, costuma-se guardá-la em ambiente refrigerado, melhorando seu aspecto sensorial e reduzindo a velocidade da fermentação com a redução da temperatura. As etapas de preparo da Kombucha são descritas na Figura 3.

Figura 3- Fluxograma de preparo da Kombucha artesanal.



Fonte: MOURA, A. B. de, 2019.

#### 4.4 Composição química

A composição química da Kombucha é muito variável, pois depende de diversos fatores como a duração da fermentação, o tipo de microrganismos presentes no SCOBY selecionado e das características do chá escolhido como substrato (água usada, concentração de chá e de açúcar) (SANTOS, 2016).

Ensaio químicos da Kombucha indicaram uma variedade de ácidos orgânicos presentes na bebida, incluindo ácido acético, glucônico, glucurônico, láctico, málico, cítrico, tartárico, fólico, malônico, oxálico e pirúvico. Preparações com base em chá verde apresentam um maior teor de ácido láctico quando comparadas a preparações com base em chá preto, por exemplo (SANTOS, 2016).

O ácido glucurônico é um dos mais importantes ácidos para a saúde presente na Kombucha e é o resultado de um processo microbiológico de oxidação da glicose. No corpo humano, este ácido é produzido pelo fígado e apresenta efeitos desintoxicantes, pois tem a capacidade de se ligar a xenobióticos, incluindo também fenóis presentes no fígado, permitindo que essas substâncias sejam excretadas pelos rins de forma mais eficiente. Além disso, também é um precursor na biossíntese de vitamina C (JAYABALAN *et al.*, 2014; NGUYEN *et al.*, 2015; PALUDO, 2017).

De acordo com Chen e Liu (2000), a concentração de etanol no Kombucha aumenta com o tempo de fermentação, atingindo valor máximo aproximado de 5,5 g/L no vigésimo dia de fermentação, seguida de uma redução lenta. Sua produção ocorre através da fermentação da glicose, e posteriormente sofre uma segunda oxidação para produzir ácido acético. O teor de etanol presente no Kombucha não a classifica como bebida alcoólica. (MURPHY; WALIA; FARBER, 2018).

Os benefícios que foram atribuídos ao Kombucha são, principalmente devido ao conteúdo de catequinas, que são derivadas dos polifenóis. Essas substâncias agem como potentes antioxidantes e protegem contra o desenvolvimento de doenças. Quando metais como ferro e cobre são encontrados em um estado livre ou não ligado a proteínas, eles possuem um efeito pró-oxidante, que pode danificar lipídios, proteínas e ácidos nucleicos quando oxidado. A propriedade quelante dos antioxidantes no chá, ou seja, sua combinação com metais livres diminui sua probabilidade de moléculas vitais danosas que participam de reações dos processos fisiológicos (VALENZUELA, 2004 *apud* LEAL *et al.*, 2018). Além disso, os polifenóis do chá demonstraram grande potencial de proteção contra o desenvolvimento de alguns tipos de câncer, exibindo enzimas e interrompendo processos que resultam no crescimento de células cancerígenas (LEAL *et al.*, 2018).

#### 4.5 Potenciais benefícios da Kombucha para a saúde

A Kombucha tem sido intensivamente consumida em todo o mundo por suas propriedades profiláticas e terapêuticas. A maioria das alegações de suas propriedades foi baseada em observações pessoais e depoimentos, e apenas alguns efeitos foram demonstrados cientificamente. Relatórios provenientes da Rússia durante a Primeira Guerra Mundial afirmavam que o “remédio caseiro secreto russo”, como era nomeada a Kombucha, auxiliava em dores de cabeça, doenças gástricas e, especialmente, na regulação do trânsito intestinal muitas vezes desequilibrado pelo estilo de vida no exército. Entretanto, nos últimos 15 anos, tem havido maior atenção sobre os possíveis benefícios para a saúde decorrentes do consumo de kombucha (VINA *et al.*, 2014).

Um dos benefícios já estudados é a sua atividade antioxidante, correlacionada com o aumento da imunidade, alívio de inflamações e artrites. Jayabalan *et al.* (2008) relataram a potencial habilidade de eliminação de radicais livres pelo chá de Kombucha preparado a partir de chá verde e chá preto. Segundo os autores, os compostos fenólicos, a atividade de reação com radical DPPH e o radical superóxido foram aumentados ao longo do tempo de fermentação, enquanto o poder de redução, a capacidade de eliminação de radicais hidroxílicos e a capacidade de peroxidação antilipídica foram reduzidos. Neste trabalho, os polifenóis foram analisados em HPLC por 18 dias desde seu inóculo. O motivo do aumento da concentração de polifenóis no chá em seu 12º dia foi deduzido pela biotransformação de epigallocatequina-3-galato (ECGC) para epigalocatequinas (EGC) e epicatequinagalato (ECG) para epicatequinas (EC) por enzimas excretadas por microrganismos presente na Kombucha juntamente com a liberação de catequinas sensíveis ao ácido presente.

Uma das atividades mais relatadas por consumidores de Kombucha, porém ainda com pouca informação científica disponível, é o fator antiobesidade. De acordo com Danielian (2005), a bebida tem capacidade de harmonizar e equilibrar o metabolismo em geral e limita a acumulação de gordura. Outro estudo mostrou que houve perda de peso causada pelo consumo de Kombucha quando analisado o efeito hipolipidêmico, o qual foi conectado à interação da bebida com a inibição da lipase e, como resultado, uma restrição na ingestão de calorias (YANG *et al.*, 2009).

Aloulou *et al.* (2012) avaliaram a inibição do efeito da enzima  $\alpha$ -amilase (secretada pelo epitélio intestinal e necessária para digestão de carboidratos) em ratos diabéticos (induzidos por aloxano), que foram administrados com 5 mL/kg de Kombucha ou chá preto diariamente durante 30 dias. Os resultados mostraram que os ratos que bebiam Kombucha tiveram um melhor efeito supressor da enzima  $\alpha$ -amilase em pâncreas e plasma, bem como glicose pós-prandial em comparação aos ratos que bebiam chá preto.

Alguns pesquisadores identificaram a presença de algumas bactérias lácticas na composição da Kombucha, fato que promoveu a divulgação do seu possível caráter probiótico. Porém, como a composição exata do SCOBY ainda não foi identificada, não se pode afirmar essa propriedade. Além disso, segundo a Portaria nº 398 da Secretaria da Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, para atribuir o caráter probiótico é necessário que a Kombucha contenha organismos vivos que conferiram benefícios à saúde do indivíduo quando administrado em quantidades adequadas ( $10^8$  - $10^9$  UFC), o que ainda não foi comprovado (KOZYROVSKA *et al.* 2012, *apud* PALUDO, 2017).

Alguns dos efeitos relatados da Kombucha a partir do testemunho dos consumidores do chá e pesquisadores russos (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000 *apud* JAYABALAN, 2016) são: desintoxicação do sangue, redução do nível de colesterol, redução da aterosclerose pela regeneração da parede celular, redução de problemas inflamatórios, alívio dos sintomas de artrite, reumatismo e gota, promoção das funções do fígado, equilíbrio da flora intestinal, redução da calcificação renal, estímulo dos sistemas glandulares, proteção contra o diabetes, efeito antibiótico, melhora do sistema imunológico, alívio da bronquite e asma e alívio de dores de cabeça.

Contudo, apesar dos depoimentos dos consumidores alegando os benefícios do consumo da Kombucha, vale ressaltar que muitos ainda não são comprovados cientificamente, sendo necessárias mais pesquisas para avaliar se de fato esses benefícios realmente existem ou não.

#### **4.6 Efeitos toxicológicos e contra indicações**

Leal *et al.* (2018) reportou uma possível toxicidade causada pelo Kombucha, quando pessoas descreveram os sintomas de tonturas e náuseas após o seu

consumo. O envenenamento por chumbo e toxicidade gastrointestinal foi encontrado em dois indivíduos depois de beberem a bebida fermentada durante um período de seis meses; no entanto, foi afirmado que o contaminante veio do pigmento do recipiente escolhido para a fermentação da Kombucha (JAYABALAN *et al.*, 2014).

Jayabalan *et al.* (2014) descreveram um caso de doença renal aguda com acidose láctica e hipertermia após a ingestão da bebida, bem como a presença de *Bacillus anthrax*, *Penicillium* e *Aspergillus* presentes na Kombucha preparada sob condições precárias de higiene. Dois casos foram relatados de acidose metabólica, sendo estes associados ao consumo excessivo da bebida. Posteriormente, foi esclarecido que os pacientes já sofriam de condições de saúde pré-existentes que os tornaram vulneráveis ao desenvolvimento de acidose (NUMMER, 2013), como HIV e insuficiência renal aguda (JAYABALAN, *et al.* 2016 apud SUNGHEEKOLE, JONES CHRISTENSEN e GLADSTEIN, 2009). Segundo o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC, 1994), o consumo diário de aproximadamente 120 mL da Kombucha não apresenta um risco para a saúde do consumidor.

Em relação às gestantes, a ingestão da Kombucha não é indicada por questões de segurança, isto devido ao possível conteúdo de heparina (componente glicosaminoglicano) no chá, uma vez que inibe proteínas do sistema de coagulação do sangue, sendo prejudicial durante o terceiro trimestre de gestação. Os autores afirmaram que a presença de heparina não foi provada em amostras analisadas; no entanto, o consumo da bebida pode favorecer sua produção no organismo (RUBIO, 2015).

#### **4.7 Legislação brasileira**

Em 2018 foi aberta uma consultoria pública, pelo prazo de 75 dias, para uma Instrução Normativa que visa estabelecer em todo o território nacional os Padrões De Identidade E Qualidade da Kombucha.

A Portaria n° 103, de 20 de setembro de 2018, traz a seguinte definição de Kombucha: “Bebida gaseificada, não pasteurizada, obtida através da respiração aeróbica e fermentação anaeróbica de um mosto composto de infusão de origem vegetal e açúcares por um consórcio de bactérias e leveduras simbióticas microbiologicamente ativas, resultando em uma bebida ácida e doce”.

Dentre os parâmetros físico-químicos, a Portaria estabelece que o pH esteja entre 2,5 e 3,5 e que o teor de acidez mínimo permitido seja de 6,0%, sendo expresso em % de equivalentes gramas de ácido acético, podendo ser adicionado suco, polpa de fruta, extrato vegetal, mel e outros aditivos permitidos pela ANVISA. (BRASIL, 2018).

A Kombucha deve ser designada por Kombucha de (seguido do nome do nome da espécie vegetal utilizada na infusão), com (seguido do ingrediente adicionado após a fermentação) suco, polpa, especiarias, extrato vegetal, mel, aroma, ou a combinação destes termos, de acordo com a composição final do produto (BRASIL, 2018).

A Kombucha que contiver vitaminas e minerais naturalmente produzidos no processo de fabricação e atenderem ao valor mínimo destes nutrientes, estabelecidos por legislação específica da ANVISA, podem utilizar as expressões “Fontes natural de (nome da vitamina ou mineral)” e “Naturalmente rico em (nome da vitamina ou mineral)” em sua rotulagem (BRASIL, 2018).

#### **4.8 Mercado consumidor brasileiro**

A Kombucha começou a ser consumida no Brasil de forma artesanal, por pessoas que se interessaram em desenvolver a bebida em casa, e só a cerca de 3 anos, indústrias de pequeno porte começaram a produzir a bebida para venda em mercados regionais. A Kombucha tem sido bem aceita pelos consumidores, especialmente como alternativa ao refrigerante por ser gaseificada, conter baixo teor de açúcar e poucas calorias (Associação Nacional dos exportadores de suco cítrico - CITRUS, 2018).

Um dos mais “antigos” fabricantes da Kombucha no Brasil (fundada a cerca de 3 anos) relata que após dois meses de produção industrial tiveram que mudar de local, pois a produção já tinha atingindo 2 mil garrafas, uma meta que a empresa só esperava atingir após 6 meses de operação. Para 2019, a estimativa da empresa é de uma produção mensal de 200 mil garrafas por mês (Associação Nacional dos exportadores de suco cítrico – CITRUS, 2018).

A rápida expansão do consumo da Kombucha não é um fator isolado; estima-se que as vendas cresçam anualmente 25% e que até o fim da década movimentem cerca de US\$1,8 bilhões mundialmente (Portal do agronegócio, 2018).

A produção industrial da bebida é feita com autorização da Agência Nacional de Vigilância Sanitária e o preço de uma garrafa de 300 mL varia entre R\$10 e R\$15 (Associação Nacional dos exportadores de suco cítrico – CITRUS, 2018).

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nos laboratórios de Bioprocessos e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), no Centro Acadêmico de Vitória (CAV).

### 5.1 Obtenção da cultura da Kombucha

O SCOBY foi adquirido através de comércio *online* de um produtor especializado da cidade de São Paulo (Brasil). O produto foi transportado e armazenado a temperatura ambiente ( $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) em embalagem com saco selado a vácuo, contendo 8 cm de diâmetro e acompanhado de 200 mL de chá *starter* (chá de arranque - Figura 4), considerado suficiente para a produção de 1,5 litros da Kombucha.

Figura 4 - Embalagem do produto contendo o SCOBY e o chá de Starter para o preparo da Kombucha.



Fonte: MOURA, A. B. de, (2019).

### 5.2 Preparo do substrato

Inicialmente foi preparado um chá de erva-mate. Para o preparo do chá, 1 litro de água mineral previamente fervida foi adicionado aos sachês do chá mate (1 sachê para cada 250 mL, conforme indicação do fabricante) e a mistura foi deixada

em infusão por cerca de 10 minutos. Após a retirada dos sachês, adicionou-se 50g de açúcar (5% p/v) e agitou-se até sua total dissolução. Em seguida, a amostra foi deixada em repouso até que atingisse a temperatura ambiente ( $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

### 5.3 Procedimento para fermentação

O chá em temperatura ambiente foi transferido para uma jarra de vidro com capacidade para 1,3 L e com abertura de 10,5 cm de diâmetro. Acrescentou-se o SCOBY juntamente com o chá starter e a superfície do recipiente foi protegida com um pano poroso “tipo Perfex®”, o que possibilita a passagem de ar sem que ocorra a contaminação por insetos, como formigas e moscas, e também protege contra sujeiras físicas (Figura 5). O recipiente ficou armazenado a temperatura ambiente ( $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ ) ao abrigo da luz, e o processo fermentativo foi monitorado, através de análises físico-química, ao longo de 10 dias de cultivo.

Figura 5 - Recipiente usado para a fermentação da Kombucha.



Fonte: MOURA, A. B. de, 2019.

Um dos objetivos do presente trabalho foi o de produzir a Kombucha de forma mais semelhante possível ao preparo realizado por um consumidor comum (que tem como objetivo apenas consumir a bebida) realizaria ao adquirir o SCOBY. Dessa forma, foi seguida a recomendação de preparo contida no Manual de Instruções de

Fermentação, disponibilizado pelo produtor do SCOBY, onde continha a informação de que o processo fermentativo duraria aproximadamente 3 dias.

Dessa forma, a retirada de amostras foi inicialmente planejada de forma a serem realizadas coletas a cada 8 h, totalizando 3 amostras diárias. Entretanto, após o terceiro dia, observou-se que a fermentação não havia sido concluída, e a retirada das amostras subsequentes foi então realizada coletando-se uma amostra por dia. Essa decisão foi tomada para evitar a coleta de amostras acima de 20% do volume de líquido do produto.

Foram retirados volumes correspondentes a 13 mL por amostra. A retirada de cada amostra foi realizada de maneira estéril e com o auxílio de uma pipeta automática. As amostras foram transferidas para tubos tipo Falcon de 50 mL de capacidade para posterior realização das análises físico-químicas.

#### **5.4 Segunda fermentação – Saborização da Kombucha**

Depois de finalizada a primeira fermentação, o SCOBY foi retirado da Kombucha e o líquido transferido para um recipiente com tampa onde foram adicionados os ingredientes desejados para saborizar o produto.

Os insumos escolhidos para saborizar a bebida foram maçã, gengibre e limão, sendo preparado um suco com estes ingredientes. O suco foi adicionado e o recipiente foi tampado e deixado em temperatura ambiente por 24 horas. Em seguida, a bebida foi levada a geladeira.

#### **5.5 Análises físico-químicas**

##### *5.5.1 pH*

As análises de pH foram realizadas conforme metodologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). As leituras foram medidas diretamente do potenciômetro digital previamente calibrado (pHmetro TEC – 3MP- TECNAL).

##### *5.5.2 Acidez total titulável*

Com o auxílio de uma pipeta automática foram coletados 5 mL da amostra e esta foi adicionada em um Erlenmeyer, juntamente com 25 mL de água destilada.

Em sequência, foram adicionadas 3 gotas do indicador fenolftaleína e em seguida titulou-se a amostra com uma solução de NaOH 0,1 mol/L até a obtenção de coloração rósea, seguindo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). A Acidez Total Titulável foi calculada conforme a Equação 1.

$$\text{Acidez total titulável (A\%)} = \left[ \frac{V \times F \times M \times PM}{10 \times P \times n} \right] \times 10$$

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.

### 5.5.3 Sólidos solúveis totais

Para determinar a concentração de sólidos solúveis totais foi coletado um volume de 1 mL da amostra da Kombucha, sendo posteriormente adicionado em tubo tipo eppendorf e centrifugado por 15 minutos (Micro centrifuga HT Modelo: CM-610). Após coleta do sobrenadante, foi realizada a leitura do °Brix em refratômetro digital portátil (Modelo HL 96801).

### 5.5.4 Concentração de sólidos Totais

Para determinar a concentração de sólidos foram preparadas cápsulas com papel alumínio (Figura 6A). Cada uma das cápsulas recebeu um código de identificação e foram levadas para estufa a 80°C por 30 minutos. Logo após, foram coletadas com auxílio de pinça e colocadas em dessecador para esfriar. Com o auxílio da pinça era retirada uma cápsula por vez do dessecador, sendo pesadas em balança analítica e, após registro do peso, um volume de 1 mL da amostra foi adicionado na cápsula (Figura 6B).

Posteriormente, as cápsulas foram levadas novamente para a estufa, permanecendo a 105°C durante 4 horas ou até peso constante. Os experimentos foram realizados em triplicata.

Figura 6 - Cápsulas de alumínio usadas para a secagem da Kombucha. (A) cápsulas vazias; (B) cápsulas contendo as amostras após o processo de secagem



(A)



(B)

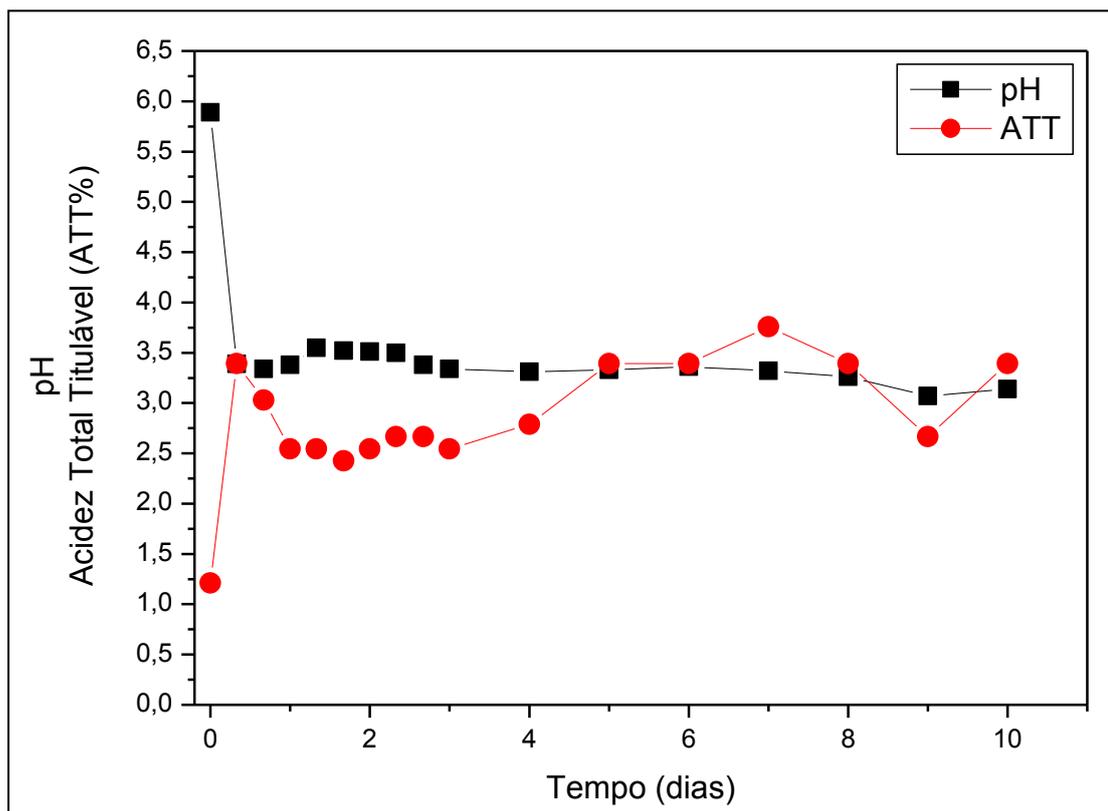
Fonte: MOURA, A. B. de, 2019.

## 6 RESULTADOS

### 6.1 pH e Acidez Total Titulável

A Figura 7 mostra a cinética de acompanhamento do pH e da Acidez Total Titulável durante a fermentação da Kombucha. Nas primeiras horas de fermentação ocorreu uma rápida redução do pH, havendo um decréscimo dos valores de 5,89 (tempo 0) para 3,39 nas primeiras 8 horas. Esse resultado pode ser confirmado também pelo aumento da acidez nas primeiras horas do processo fermentativo, que aumenta de 1 para 2,8 % nas primeiras 8 horas de fermentação.

Figura 7 - Cinética do pH e da Acidez Total Titulável durante a fermentação da Kombucha.



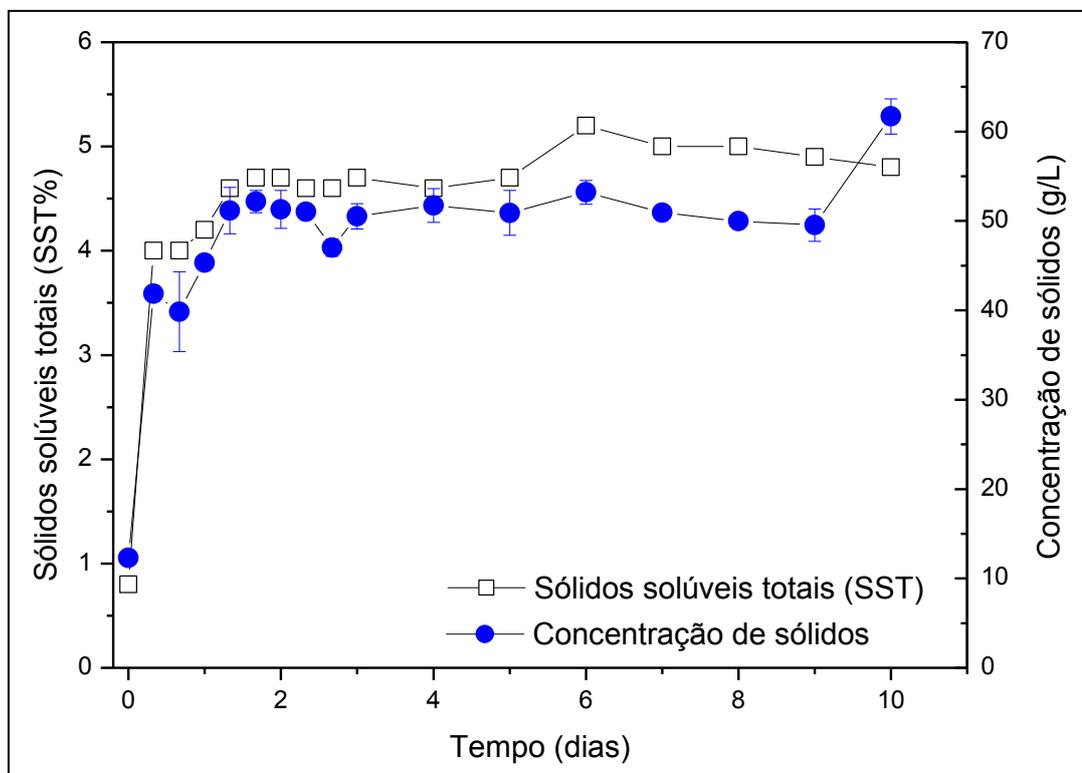
Fonte: MOURA, A. B. de, 2019.

Nota-se que após o decréscimo do pH nas primeiras 8 horas de fermentação, este parâmetro se mantém constante ao longo de todo o processo. As alterações obtidas do pH foram similares às encontradas por Kallel *et al.* (2012). Em relação à acidez, após o tempo de 8 h os valores oscilam ao longo do período fermentativo, obtendo-se um valor máximo de 3,75 % e o mínimo de 2,42 %.

## 6.2 Sólidos Solúveis Totais e Concentração de Sólidos Totais Secos

A Figura 8 mostra os valores de sólidos solúveis totais (SST) e da Concentração de Sólidos Totais Secos durante a fermentação da Kombucha. É possível observar que ambos os valores aumentam nas primeiras 8 horas do processo fermentativo.

Figura 8 - Sólidos solúveis totais (SST%) e Concentração de sólidos Totais Secos (g/L) durante a fermentação da Kombucha.



Fonte: MOURA, A. B. de, 2019.

## 6.3 Resultados da Kombucha saborizada

A Tabela 1 apresenta os valores obtidos das análises realizadas com a bebida saborizada e os resultados que a ANVISA dá como referência. Nota-se que alguns dos parâmetros obtiveram um valor elevado, como a acidez titulável, concentração de sólidos e sólidos solúveis totais, enquanto o pH praticamente se mantém estável em relação à bebida não saborizada.

Tabela 1 - Resultado das análises da Kombucha saborizada e valores estabelecidos na legislação.

<b>Parâmetro avaliado</b>	<b>Resultado</b>	<b>ANVISA</b>
pH	3,13	2,5 – 3,5
Acidez Total titulável	7,29%	Mínimo de 6%
Sólidos solúveis totais (SST%)	7,1%	
Concentração de sólidos (g/L)	73,23 g/L	

Fonte: MOURA, A. B. de, 2019.

## 7 DISCUSSÃO

O comportamento dos parâmetros observados na cinética de fermentação foi similar ao observado por Chakravorty (2016) e Kallel *et al.* (2012). Contudo, outros trabalhos relatam uma diminuição contínua do pH ao longo dos primeiros 5 dias.

Santos *et al.* (2018), ao analisarem o pH da Kombucha de chá de hibisco, relataram que houve uma redução contínua do pH até o 5º dia do processo fermentativo e após o 6º dia as alterações não foram consideradas significativas.

As análises de pH evidenciaram um decréscimo nas primeiras 8 horas de cultivo; após este período e até o final do processo, o pH obteve pequenas oscilações consideradas estatisticamente irrelevantes, atingindo um pH final de 3,14. O mesmo comportamento foi analisado por Kallel *et al.* (2012), que ao produzirem a Kombucha a base de chá preto observaram um pH inicial de 5,5 e que diminuiu imediatamente para 3,8 após a inoculação. Essa redução no pH poder ser atribuída às características ácidas do substrato fornecido, o que pode ser confirmado pela rápida elevação no teor de acidez total titulável nas primeiras horas.

O pH é um fator que controla o curso correto de fermentação e é usado para determinar o fim do processo (MALBAŠA; LONČAR; DJURIĆ, 2008). Segundo Jayabalan (2010), um pH final de 2,5 sinaliza o fim do processo fermentativo. Chu e Chen (2006) afirmam que o baixo pH pode contribuir para a redução da qualidade sensorial geral da bebida em decorrência da produção de ácidos orgânicos, especialmente o ácido acético.

Mesmo após a saborização da bebida o pH se mantém estável, sendo obtido um valor de 3,13. Kallel *et al.* (2012) afirmam que os valores de pH não devem ser considerados significativos, uma vez que o dióxido de carbono produzido durante a fermentação pode ocasionar efeitos de tamponamento. Entretanto, o baixo pH para este tipo de produto é um parâmetro desejável, pois associado com as bactérias acéticas e as leveduras pode inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis.

O aumento significativo da acidez total titulável nas primeiras horas é um comportamento esperado, devido à produção de ácidos característicos do processo fermentativo e do metabolismo das bactérias acéticas. Entretanto, as oscilações constatadas neste experimento podem ser decorrentes da rápida volatilização do ácido acético que pode ter ocorrido durante a coleta das amostras ou até mesmo durante o período fermentativo devido à porosidade do tecido usado para a

cobertura do bocal, o que pode ter facilitado a volatilização dos ácidos. Um teor de acidez total titulável entre 0,4 e 0,45 % tem sido relatado como indicativo do término do processo fermentativo (CVETKOVIC, 2008; VELICANSKI *et al.*, 2013).

O valor final da Acidez Total Titulável foi de 3,39%, encontrando-se abaixo do valor recomendado pela ANVISA, que estabelece um teor mínimo de acidez de 6,0 %. Todavia, ao compararmos o valor da acidez após a saborização do produto, visto que normalmente ele é consumido saborizado por ser mais palatável, foi obtido um valor de 7,29%, se enquadrando dentro do teor estabelecido pela legislação.

Os sólidos solúveis totais (SST) da Kombucha correspondem aos compostos solúveis presentes no chá somados ao açúcar adicionado. O comportamento observado no acompanhamento cinético da fermentação do chá foi semelhante ao comportamento observado por Santos *et al.* (2018), onde durante o processo fermentativo ocorreu um aumento no teor de acidez e redução do pH e dos SST.

Rodrigues *et al.* (2018) afirmam que a produção de ácidos durante o processo de fermentação justifica a variação dos SST, visto que as bactérias acéticas presentes no SCOBY consomem o açúcar do chá, convertendo-os em ácidos orgânicos.

Em relação aos teores de SST é possível observar que durante a fermentação ocorrem pequenas oscilações nos valores obtidos indicando que não houve consumo significativo do açúcar pelas bactérias e leveduras do SCOBY, o que pode sugerir a utilização de outros compostos como fonte de carbono para a produção de ácidos, como por exemplo, a cafeína que está presente em pequena quantidade no chá. Paludo (2017) afirma que a Kombucha de chá mate apresenta uma velocidade inferior de conversão da sacarose quando comparada a de chá verde.

O resíduo seco (concentração de sólidos totais secos) corresponde ao conjunto dos compostos não voláteis. É possível verificar que nas primeiras 8 horas de cultivo ocorre um aumento deste parâmetro, o que corresponde a uma expressiva produção de exopolissacarídeos pelas células microbianas. Após este período, observam-se pequenas variações ao longo do processo fermentativo. De modo geral, a concentração de sólidos se mantém estável do segundo ao nono dia de cultivo, apresentando no último dia de fermentação um valor elevado em relação aos dias anteriores, alcançando um resultado final em torno de 62 g/L.

A Kombucha saborizada apresenta teores de SST de 7,1% enquanto que a concentração de sólidos apresenta um valor de 73,23 g/L. Esse aumento dos parâmetros em relação ao produto não saborizado pode ser explicado pelo acréscimo do suco e do açúcar na bebida.

## 8 CONCLUSÕES

A Kombucha produzida neste estudo demonstrou resultados satisfatórios. Nas análises da bebida não saborizada apenas a acidez titulável apresentou resultados inferiores ao estabelecido na legislação. Contudo, os resultados obtidos para este parâmetro foram semelhantes ao de outros autores. Portanto, podemos considerar a bebida adequada aos parâmetros fermentativos encontrados na literatura.

Em relação às análises da bebida saborizada, todos os parâmetros avaliados estavam de acordo com os estabelecidos na legislação e encontrados na literatura. Demonstrando que o chá mate pode ser uma boa alternativa de substituição ao chá preto ou verde.

Com os resultados obtidos fica evidente a importância de monitorar o processo fermentativo da Kombucha tanto para encontrar substratos alternativos para a fermentação, como para se estabelecer padrões no processo fermentativo, visando uniformizar sua produção em escala industrial.

Ressalta-se ainda a importância da realização de novos estudos para uma melhor padronização da produção da Kombucha, bem como a identificação de sua microbiota.

## REFERÊNCIAS

ABREU, L. **Estudo do poder antioxidante em infusões de ervas utilizadas como chás**. 2013. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS, 2013.

ALOULOU, A. *et al.* Hypoglycemic and antilipidemic properties of Kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats. **BMC Complement. Altern. Med.**, London, v.12, p. 63-71, 2012.

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS EXPORTADORES DE SUCOS CÍTRICOS. **Produção de Kombucha se multiplica no Brasil**. São Paulo: CITRUS, 23 out. 2018. Disponível em: <http://www.citrusbr.com/noticias/?id=312621>. Acesso em: 3 jun. 2019.

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

BASTOS, D. H. M. *et al.* Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from yerba maté (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camelia sinensis*) extracts. **Molecules**, Basel, v. 12, n. 3, p. 423-432, 2007a.

BATTIKH, H.; BAKHROUF, A.; AMMAR, E. Antimicrobial effect of Kombucha analogues. **LWT – Food Science and Technology**, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 71-77, Jun. 2012.

BATTIKH, H. *et al.* Antibacterial and antifungal activities of black and green Kombucha teas. **Journal of Food Biochemistry**, Hoboken, v. 37, n. 2, p. 231-236, 2013.

BOAVENTURA, B. C. B. *et al.* Association of mate tea (*Ilex paraguariensis*) intake and dietary intervention and effects on oxidative stress biomarkers of dyslipidemic subjects. **Nutrition**, Burbank, v. 28, n. 6, p. 657-664, jun. 2012.

BRACESCO, N. *et al.* Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, Ireland, v. 136, n. 3, p. 378-384, 2011.

BRASIL **Food Trends 2020**. São Paulo: FIESP; ITAL, 2010. Disponível em: <http://www.brazilfoodtrends.com.br/>. Acesso em: 04 jun. 2019.

BRASIL. Portaria nº 103 de 20 de setembro de 2018. Instrução Normativa que visa estabelecer em todo território nacional o padrão de identidade e qualidade de kombucha. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 188, seção 1, p. 18, 28 set. 2018.

BRASIL. **RDC nº 271, de 22 de setembro de 2005**. Aprova o regulamento técnico para açúcares e produtos para adoçar. Brasília: ANVISA, 2005.

BRASIL. **Portaria nº 398 de 30 de abril de 1999**. Estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Brasília: ANVISA, 1999.

BRAVO, L; GOYA, E; LECUMBERRI. LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hill) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. **Food Research International**, Ottawa, v. 40, n. 3, p. 393-405, apr. 2007.

CHAKRAVORTY, S.; BHATTACHARYA, S.; CHATZINOTAS, A.; CHAKRABORTY, W.; BHATTACHARYA, D.; GACHHUI R. Kombucha tea fermentation: microbial and biochemical dynamics. **Int. J Food Microbiol**, Amsterdã, v. 220, p. 63–72, 2016.

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

DE MORAIS, E. C. *et al.* Consumption of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) improves serum lipid parameters in healthy dyslipidemic subjects and provides an additional LDL-cholesterol reduction in individuals on statin therapy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, München, v. 57, n. 18, p. 8316-8324, Sep. 2009.

DUFRESNE, C.; FARNWORTH, E. Tea, Kombucha, and health: a review. **Food Research International**, Ottawa, v. 33, n. 6, p. 409-421, Jul. 2000.

ESMELINDRO, M. C. *et al.* Caracterização físico-química da erva-mate: influência das etapas do processamento industrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.22, n. 2, p. 193-204, maio/ago. 2002.

FERNANDES, K. C. L. **Produção e caracterização de Kombucha à base de chá de hibisco**. 2017. 35f. Trabalho de conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB, 2017.

FILIP, R. *et al.* Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. **Fitoterapia**, Netherlands, v. 72, n. 7, p. 774-778, Nov. 2001.

FILIP, R.; DAVICINO, R.; ANESINI, C. Antifungal activity of the aqueous extract of *Ilex paraguariensis* against *Malassezia furfur*. **Phytherapy Research**, Chichester, v. 24, n. 5, p. 715-719, 2010.

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

JARRELL, J.; CAL, T.; BENNETT, J. W. The Kombucha consortia of yeasts and bacteria. **Mycologist**, Cambridge, v. 14, n. 4, p. 166-170, Nov. 2000.

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**, Chicago, v. 13, n. 4, p. 538-550, 2014.

JAYABALAN, R. *et al.* Biochemical characteristics of tea fungus produced during Kombucha fermentation. **Food Science and Biotechnology**, Seoul, v. 19, n. 3, p. 843-847, 2010

JAYABALAN, R. *et al.* Changes in free radical scavenging ability of Kombucha tea during fermentation. **Food Chemistry**, Barking, v. 109, n. 1, p. 227-234, 2008.

KALLEL, L. *et al.* Insights into the fermentation biochemistry of Kombucha teas and potential impacts of Kombucha drinking on starch digestion. **Food Research International**, Ottawa, v. 49, n. 1, p. 226-232, 2012.

KIM, S. I. *et al.* Anti-obesity effects of yerba mate (*Ilex Paraguariensis*): a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. **BMC Complement. Altern. Med.**, London, v. 15, p. 338, 2015.

KLEIN, G. A. *et al.* Mate tea (*Ilex paraguariensis*) improves glycemic and lipid profiles of type 2 diabetes and pre-diabetes individuals: a pilot study. **Journal of the American College of Nutrition**, Clearwater, v. 30, n. 5, p. 320-332, out. 2011.

KOZYROVSKA, N. O. *et al.* Kombucha microbiome as a probiotic: a view from the perspective of post-genomics and synthetic ecology. **Biopolymers and Cell**, Kyiv, v. 28, n. 2, p. 103-113, 2012.

LIU, C. -H. *et al.* The isolation and identification of microbes from a fermented tea beverage, Haipao, and their interactions during Haipao fermentation. **Food Microbiology**, London, v. 13, n. 6, p. 407-415, Dec. 1996.

LONCAR, E. *et al.* Influence of working conditions upon Kombucha conducted fermentation of black tea. **Food and Bioproducts Processing**, Basingstoke, v. 84, n. 3, p. 186-192, 2006.

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

MAYSER, P. *et al.* The yeast spectrum of the „tea fungus Kombucha“. **Mycoses**, Berlin, v. 38, n. 7-8, p. 289-295, Jul-Aug. 1995.

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

PANG, J.; CHOI, Y.; PARK, T. *Ilex paraguariensis* extract ameliorates obesity induced by high-fat diet: potential role of AMPK in the visceral adipose tissue. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, San Diego, v. 476, n. 2, p. 178-185, Aug. 2008.

PALUDO, Natália. **Desenvolvimento e caracterização de Kombucha obtida a partir de chá verde e extrato de erva-mate: processo artesanal e escala**

**laboratorial**. 2017. 46 f. TCC (Graduação em Engenharia dos Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. 2017.

PRODUÇÃO de Kombucha se multiplica no Brasil. *In*: PORTAL DO AGRONEGÓCIO. [s. l.]: Gigrô.com, 30 out. 2018. Disponível em: <https://www.portaldoagronegocio.com.br/noticia/producao-de-Kombucha-se-multiplica-no-brasil-177446>. Acesso em: 2 jun. 2019.

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**, Tehran, Iran, v. 3, n. 2, p. 125-130, 2016.

REISS, J. Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus. **Z. Lebensm. Unters. For.**, Berlin, v. 198, n. 3, p. 258-261, 1994.

RODIGHERI, H. R.; SCHLOSSNACHER NETO, L.; CICHACZEWSKI, I. F. **Custos, produtividade e renda da erva-mate cultivada na região de Guarapuava, PR**. Colombo: EMRAPA-CNPF, 1995. 21p. (Circular técnica, 24).

RODRIGUES, R. da S. *et al.* Características físicas e químicas de Kombucha à base de chá de hibisco (*Hibiscus sabdariffa*, L.). *In*: SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR, 6., 2018, Gramado. **Anais [...]** Gramado: **SBCTA Regional, RS**, 2018. p. 72 – 78.

SANTOS, Y. M *et al.* Caracterização química de Kombucha a base de chás de hibisco e preto. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**. Ipameri, v. 8, n. 3, p. 32-37, 2018.

SANTOS, M. J. **Kombucha**: caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração. 2016. 119 f. Tese para obtenção de grau de mestre (Faculdade de ciências e tecnologia) - Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal. Mar. 2016.

VINA, L. *et al.* Current evidence on physiological activity and expected health effects of Kombucha fermented beverage. **Journal of Medicinal Food**, Larchmont, EUA, v. 17, n. 2, p. 179-188, Feb. 2014.

YANG, Z. -W. *et al.* Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of Kombucha tea in high-cholesterol fed mice. **J. Sci. Food Agric.**, Chichester, UK, v. 89, n. 1, p. 150-156, Jan. 2009.