

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

ANDREWS VINÍCIUS TIBURTINO DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BEBIDA FUNCIONAL
LIOFILIZADA: UM ESTUDO COM KOMBUCHA DE UMBU (*Spondias tuberosa*
Arruda)**

Vitória de Santo Antão - PE

2024

ANDREWS VINÍCIUS TIBURTINO DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BEBIDA FUNCIONAL
LIOFILIZADA: UM ESTUDO COM KOMBUCHA DE UMBU (*Spondias tuberosa*
Arruda)**

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^a Christine Lamenha Luna Finkler.

Vitória de Santo Antão - PE

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Silva, Andrews Vinícius Tiburtino da.

Desenvolvimento e caracterização de bebida funcional liofilizada: um estudo com kombucha de umbu (*Spondias tuberosa* Arruda) / Andrews Vinícius Tiburtino da Silva. - Vitória de Santo Antão, 2024.

47 : il., tab.

Orientador(a): Christine Lamenha Luna Finkler

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, Nutrição - Bacharelado, 2024.

Inclui referências.

1. Nutrição. 2. Ciência e tecnologia de alimentos. 3. Biotecnologia. I. Finkler, Christine Lamenha Luna. (Orientação). II. Título.

610 CDD (22.ed.)

ANDREWS VINÍCIUS TIBURTINO DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BEBIDA FUNCIONAL DO TIPO
KOMBUCHA DE UMBU (*Spondias tuberosa* Arruda)**

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

Aprovado em: 28/06/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Drº Leandro Finkler (Examinador Interno)

Centro Acadêmico de Vitória - Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Drº Luís Gomes de Moura Neto (Examinador Externo)

Instituto Federal de Educação da Paraíba - IFPB

Profa. Drª Eduila Maria Couto Santos (Examinadora Interna)

Centro Acadêmico de Vitória - Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho à minha mãe, Damiana Almeida da Silva.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de agradecer a Deus, por todo esse acontecimento, diante de todas as adversidades, possibilitou-me enfrentar e conquistar este momento único na minha vida.

Todo homem forte tem uma grande mulher que o inspira, essa pessoa é minha mãe. Obrigado por ser minha força, minha guerreira, a pessoa que está comigo por tudo e todos os momentos.

No âmbito acadêmico, eu digo que o orientador é a pessoa que motiva profissionalmente. Eu tive a honra de trabalhar com a Prof^a Dr^a Christine Finkler, uma excelente pesquisadora e professora, sempre esteve me orientando e dando todo suporte necessário para o desenvolvimento do trabalho e formação profissional.

Tenho imenso agradecimento à assistência estudantil, onde tem um impacto social de inclusão aos estudantes que precisam de auxílio para sua permanência no curso.

Agradeço com um carinho especial à FACEPE, fundação que fomenta a pesquisa no Estado de Pernambuco e viabilizou o desenvolvimento da minha pesquisa.

Meu carinho especial a Emanuel Marques, pela inspiração, pela motivação e por sempre estar presente nos piores e melhores momentos.

Aos meus amigos Geany Menezes e Hebert Nogueira, que antes de eu viajar para fazer a matrícula, foram à minha casa prestar completo apoio. Minhas amigas de curso, Alessandra Barbosa, Raiane Flor, Yasmim Silva, Giullia Vasconcelos, Lais e Maria Renata.

Agradecimento especial à prof^a Denise Josino e prof^o Luís Gomes, profissionais excelentes e que abriram todas as portas possíveis para o meu crescimento.

Aos meus professores do curso. Aos técnicos, em especial ao Gabriel Locatelli por todo suporte e ensinamento durante o experimento.

A todos do Departamento de Antibióticos e Departamento de Farmácia da UFPE que contribuíram para o desenvolvimento do meu trabalho.

Agradeço à banca pelas contribuições sugestivas ao meu trabalho, Prof^a Eduila Couto, Prof^o Leandro Finkler e prof^o Luís Gomes.

Estudar não é gasto, é investimento. Aliás, é o melhor, o mais barato e o mais duradouro investimento. Quando você forma alguém, é para sempre. O Brasil vai poder deixar de ser apenas exportador de minério de ferro, de soja e vai virar exportador de conhecimento.

Luís Inácio Lula da Silva

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

*SCOB*Y - *Symbiotic Colony of Bacteria and Yeast*

UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

MRS - De Man, Rogosa e Sharpe

CAV – Centro Acadêmico de Vitória

UFC – Unidade Formadora de Colônia

LISTA DE SÍMBOLOS

cm – centímetro

g – grama

g/L - grama por litro

°C – graus Celsius

mL - mililitro

mg – miligrama

µL - microlitros

m/v - massa por volume

mT – millitorr

min – minuto

nm – nanômetros

% - percentual

pH – potencial hidrogeniônico

ppm - partes por milhão

p/v - peso por volume

PF – peso final da amostra após a liofilização

PI - peso inicial da amostra antes da liofilização

v/v - volume por volume

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Etapas de processamento da kombucha.....	26
Figura 2 - Aspecto visual da kombucha durante a etapa de respiração aeróbica:.....	29
Figura 3 - Cinética de fermentação com os resultados obtidos da acidez, pH, °Brix e álcool.....	30
Figura 4 - Concentração de compostos fenólicos totais durante a cinética de fermentação da kombucha.....	30
Figura 5 - Coloração das amostras durante a fermentação.....	31
Figura 6 - Concentração de células viáveis de bactérias lácticas e o consumo de açúcares redutores durante os cinco primeiros dias de fermentação.....	31
Figura 7 - Concentração de células viáveis de bolores e leveduras e o consumo de açúcares redutores durante os seis primeiros dias de fermentação.....	32
Figura 8 - Amostras da kombucha antes e após a liofilização nos ensaios preliminares.....	32
Figura 9 - Amostra de kombucha liofilizada e acondicionada em embalagem de polietileno (A). Amostra de kombucha após sua reconstituição em água (B).....	33
Figura 10 - Amostras liofilizadas logo após a secagem (A) e após 7 dias de armazenamento em dessecador à temperatura ambiente (B).....	33
Figura 11 - Concentração de compostos fenólicos totais antes e após a liofilização.....	34

Figura 12 - Concentração de flavonóides antes e após a liofilização.....	35
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados de acidez e pH da bebida antes e após a liofilização.....	34
---	----

RESUMO

A kombucha é uma das bebidas que vem ganhando popularidade nos últimos anos, sendo obtida pela respiração aeróbia e fermentação anaeróbia do mosto resultante da infusão ou extrato de *Camellia sinensis* e açúcares por cultura simbiótica de bactérias e leveduras microbiologicamente ativas (SCOBY). Objetiva desenvolver e caracterizar uma bebida funcional do tipo kombucha de umbu (*Spondias tuberosa* Arruda). Foi preparado um chá verde com 5 g/L de infusão, sendo este adoçado com 50 g/L de açúcar e submetido à fermentação aeróbica e posteriormente anaeróbica. A bebida foi saborizada com 15% v/v de polpa de umbu. Durante a fermentação foram avaliados parâmetros físico-químicos e microbiológicos por uma cinética de fermentação. Após a obtenção da bebida, foram realizados testes de liofilização de forma a avaliar a influência da adição do crioprotetor inulina sobre os parâmetros físico-químicos e microbiológicos da bebida liofilizada. A cinética de fermentação demonstrou o aumento da acidez, o crescimento celular de bactérias ácido-láticas e leveduras, além do declínio da concentração de compostos fenólicos e açúcares. Na bebida liofilizada foi observada a presença de compostos bioativos fenólicos e flavonóides, e a presença de inulina favoreceu a estabilidade da bebida em relação à absorção de umidade durante 7 dias de armazenamento à temperatura ambiente. Não foram observadas concentrações de células viáveis no pó liofilizado. A bebida mostrou-se promissora dentro dos parâmetros físico-químicos, mostrando sua potencialidade de mercado e possíveis benefícios à saúde pela presença de compostos bioativos. Como não ocorreu crescimento microbiano após a liofilização, são necessários novos estudos que aprofundem o conhecimento a respeito dos parâmetros de liofilização e da adição e/ou combinação de crioprotetores.

Palavras-chave: kombucha; umbu; cinética de fermentação; liofilização.

ABSTRACT

Kombucha is one of the drinks that has been gaining popularity in recent years, being obtained by aerobic respiration and anaerobic cultivation resulting from the infusion or extract of *Camellia sinensis* and sugars by symbiotic culture of microbiologically active bacteria and yeasts (SCOBY). Aims to develop and characterize a functional drink of the umbu kombucha type (*Spondias tuberosa* Arruda). Green tea was prepared with 5 g/L of infusion, sweetened with 50 g/L of sugar and subjected to aerobic and later anaerobic fermentation. The drink was flavored with 15% v/v umbu pulp. During the experiment, physicochemical and microbiological parameters were evaluated using fermentation kinetics. After obtaining the drink, freeze-drying tests were carried out to evaluate the influence of adding the cryoprotectant inulin on the physicochemical and microbiological parameters of the freeze-dried drink. The kinetics demonstrated the increase in acidity, the cellular growth of lactic acid bacteria and yeasts, and the decline in the concentration of phenolic compounds and sugars. In the freeze-dried drink, the presence of bioactive compounds from the phenolic and flavonoid classes was observed, and the presence of inulin favored the stability of the drink in relation to moisture absorption during 7 days of storage at room temperature. No concentrations of viable cells were observed in the lyophilized powder. The drink showed promise within the physical-chemical parameters, showing its market potential and possible health benefits due to the presence of bioactive compounds. As no microbial growth occurred after lyophilization, new studies are needed to evaluate lyophilization parameters and the addition and/or combination of cryoprotectants.

Keywords: kombucha; umbu; fermentation kinetics; freeze drying.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 Objetivo geral.....	17
2.2 Objetivos específicos.....	17
3 JUSTIFICATIVA.....	18
4 REVISÃO DA LITERATURA.....	19
4.1 Alimentos funcionais.....	19
4.2 Kombucha.....	20
4.3 Umbu.....	22
4.4 Liofilização.....	23
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
5.1 Materiais.....	25
5.2 Elaboração da kombucha e saborização.....	25
5.3 Avaliação da cinética de fermentação.....	27
5.4 Liofilização.....	28
5.5 Análises físico-químicas de microbiológicas da kombucha liofilizada...	28
6 RESULTADOS.....	29
6.1 Aspecto visual da bebida durante a fermentação aeróbica.....	29
6.2 Cinética de fermentação.....	29
6.3 Liofilização.....	32
6.4 Caracterização físico-química da bebida antes e após a liofilização.....	34
7 DISCUSSÃO.....	36
7.1 Aspecto visual da bebida.....	36
7.2 Cinética de fermentação.....	36
7.3 Liofilização.....	38
8 CONCLUSÕES.....	40
REFERÊNCIAS.....	41

1 INTRODUÇÃO

A kombucha é uma das bebidas que vem ganhando popularidade nos últimos anos, sendo originária da China (Massoud *et al.*, 2022). Conforme Brasil (2019), a kombucha é a bebida fermentada obtida através da respiração aeróbia e fermentação anaeróbia do mosto obtido pela infusão ou extrato de *Camellia sinensis* e açúcares por cultura simbiótica de bactérias e leveduras microbiologicamente ativas (SCOBY). Nesse processo, a sacarose é utilizada como fonte de carbono, sendo hidrolisada a glicose e a frutose, e a glicose é transformada em etanol e dióxido de carbono pelos microrganismos. Bactérias do gênero *Acetobacter* convertem o etanol em ácido acético, conferindo à bebida o sabor ácido característico (Abaci; Deniz; Orhan, 2022).

Devido às suas propriedades benéficas à saúde, vem ganhando destaque com a ampliação do seu consumo. A recente popularização da bebida também ocorre devido à facilidade de sua obtenção, pois a fermentação ocorre à temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), sem necessidade de controle, automação, agitação, tendo uma duração de fermentação de até 2 semanas (Coelho *et al.*, 2020).

A bebida destaca-se pelo seu alto valor nutricional, sendo rica em vitaminas B₁, B₂, B₃, B₆ e B₁₂ e C, além de vitamina E, produtos oriundos da fermentação como o ácido acético e ácido glucônico e a presença de polifenóis (catequinas, teaflavinas e flavonóides) (Kaashyap; Cohen; Mantri, 2021). É importante salientar que os componentes químicos da kombucha variam de acordo com alguns fatores, como a quantidade da cultura e o tempo de fermentação (Li *et al.*, 2022). A kombucha é rica em compostos bioativos, substâncias que estão interligadas a inúmeros benefícios para a saúde humana, principalmente pela ação antioxidante, auxílio no sistema imunológico, ações hipoglicemiantes e anti-inflamatória (Diez-Ozaeta; Astiazaran, 2022).

O uso de frutas para saborizar produtos fermentados é uma das formas mais econômicas para atribuir aspectos sensoriais característicos, como cores, sabores e aromas que agregam valor aos alimentos em que foram elaborados. Além disso, a utilização de frutas é uma opção viável, trazendo baixo custo na produção pelos aspectos supracitados e a presença de açúcares que em bebidas fermentadas, serviram de substratos para a cultura (Hübner, 2019). As frutas tropicais são muito

utilizadas para a saborização de alimentos, visto que apresentam alto valor nutricional e também propriedades sensoriais, além de vitaminas, minerais e bioativos.

Uma alternativa importante para a praticidade do consumo da kombucha é a liofilização, processo de secagem baseado na desidratação da amostra do estado sólido para o gasoso (Fissore *et al.*, 2019). Devido às baixas temperaturas e pressões durante a secagem, ocorre uma maior concentração dos compostos bioativos e a manutenção das suas propriedades sensoriais (Fan *et al.*, 2019). Este procedimento é importante para o aumento de vida útil do produto, devido à retirada de água do alimento e manutenção de suas propriedades físico-químicas e nutricionais (Abdelwahed *et al.*, 2006). Além disso, o produto liofilizado apresenta maior facilidade no manuseio, transporte e armazenamento.

Não há relatos de uma bebida do tipo kombucha saborizada com umbu, assim como não há disponível comercialmente um produto liofilizado de kombucha. Dessa forma, este trabalho tem caráter inovador e contribui para o desenvolvimento de alimentos funcionais como fontes de compostos bioativos para aplicações alimentícias.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver e caracterizar uma bebida funcional do tipo kombucha de umbu (*Spondias tuberosa* Arruda).

2.2 Objetivos específicos

- Elaborar a bebida com adição de polpa de umbu;
- Realizar a avaliação da cinética de fermentação da bebida;
- Liofilizar a bebida e avaliar a adição de inulina como agente crioprotetor;
- Realizar a constituição da bebida com água gaseificada e realizar as análises físico-químicas e microbiológicas.

3 JUSTIFICATIVA

O presente estudo justifica-se pela obtenção de um produto inovador e que possui inúmeros benefícios nutricionais. O desenvolvimento de uma bebida funcional e o aproveitamento de um fruto regional, além da obtenção de um pó liofilizado da bebida, contribui para a área de tecnologia de alimentos e para o desenvolvimento de novos produtos.

Estudos nessa área são considerados estratégicos, pois visam atender à uma forte demanda do mercado consumidor por alimentos e bebidas com propriedades funcionais.

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1 Alimentos funcionais

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), alimentos funcionais são alimentos ou ingredientes que alegam propriedades funcionais ou de saúde, que além de atribuírem funções nutricionais básicas, produzem efeitos metabólicos e ou fisiológicos, devendo ser seguros para o consumo humano sem supervisão médica (ANVISA, 1999). Dessa forma, os alimentos funcionais são definidos como alimentos que proporcionam benefícios à saúde que vão além de seu valor nutricional fundamental (Hammoudi *et al.*, 2023).

Em 2016, a legislação brasileira atualizou a lista das alegações de propriedade funcional ou de saúde e os requisitos específicos para utilização dos textos padronizados, estando citados os ácidos graxos, carotenoides, fibras alimentares, polióis, probióticos e proteína de soja (Brasil, 2016).

Os alimentos funcionais têm ganhado atenção nos últimos anos pelos seus potenciais benefícios à saúde, além da nutrição básica, servindo como fontes de proteínas, carboidratos, vitaminas e fibras alimentares. Enriquecidos com compostos bioativos como polifenóis, taninos, flavonóides e alcaloides, esses alimentos tem se mostrado promissores devido a seus atributos fisiológicos benéficos, possibilitando ação antioxidante, rejuvenescimento e ação anti-inflamatória. Dessa forma, a busca por esses alimentos ganha destaque no mercado consumidor (Emiljanowicz; Malinowska-Panczyk, 2020; Vignesh *et al.*, 2024).

De acordo com Vignesh *et al.* (2024), os ácidos graxos ômega-3 eliminam os radicais livres, reduzindo o risco de doenças crônicas; e os antioxidantes promovem a saúde cardiovascular e têm efeitos anti-inflamatórios. Estes são os principais componentes presentes nos alimentos funcionais, e têm ação de reagirem com os radicais livres, evitando o estresse oxidativo e a geração da inflamação (Singh *et al.*, 2023).

A compreensão dos mecanismos de ação desses compostos e a identificação das substâncias bioativas presentes nos alimentos são fundamentais para o entendimento do seu papel na prevenção de doenças e a obtenção de benefícios terapêuticos esperados. Também é importante salientar que as recomendações

dietéticas de compostos funcionais devem ser personalizadas, de forma a garantir que estejam alinhadas com os objetivos de saúde individuais.

A composição nutricional desses alimentos destaca-se pela sua variedade, principalmente pelos compostos bioativos (Akhtar *et al.*, 2023). Também são ricos em vitaminas, minerais e fitoquímicos, agregando funcionalidades que vão além da nutrição clássica. Dentre os alimentos funcionais que vêm sendo mais estudados e produzidos no mundo, destaca-se a kombucha.

4.2 Kombucha

A kombucha, originária do nordeste da China (Manchúria), é uma bebida proveniente da fermentação do chá (*Camellia sinensis*) por uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras que resulta em um sabor ácido e levemente doce (Chakravorty *et al.*, 2019). A fermentação ocorre através de um consórcio microbiano contendo uma diversidade de microrganismos (Tran *et al.*, 2020), incluindo bactérias acéticas, ácido-láticas e leveduras osmofílicas contidas na camada de celulose (SCOBY).

O biofilme de celulose produzido pelo consórcio microbiano, denominado SCOBY, desempenha um papel de proteção à bebida durante o período fermentativo, além de atribuir uma melhor qualidade ao produto final (Harrison; Curtin, 2021).

A bebida é constituída por ácidos orgânicos como acético, láctico, glucônico, glucurônico, succínico e pirúvico, além de vitaminas do complexo B, vitaminas C e E, aminoácidos, antibióticos e micronutrientes produzidos durante a fermentação (Kapp; Sumner, 2019).

O consumo de chá tem associações com propriedades funcionais, devido ao efeito benéfico dos antioxidantes que reduzem os riscos de doenças tais como polifenóis, flavonóides, catequinas, galatos de catequina, adenina, cafeína, teobromina, teofilina, ácidos gálicos, taninos e galotaninos (Aboulwafa *et al.*, 2019; Ohishi *et al.*, 2021; Rodak *et al.*, 2021), sendo as catequinas e taninos os polifenóis mais prevalentes. Esses componentes contribuem para o aspecto sensorial da bebida, devido ao amargor, adstringência e sabor adocicado. Outros compostos estão presentes, como aminoácidos, óxidos, carotenóides, lipídios e compostos

voláteis, que desempenham um papel importante no desenvolvimento do aroma (Dutta; Paul, 2019).

Estudos *in vivo* e *in vitro* relatam propriedades antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e antitumoral, estimulação imunológica, benefícios ao sistema gastrointestinal e funções hepáticas, inibição do desenvolvimento de doenças cardiovasculares, câncer e doenças neurodegenerativas (Baschali, 2017), efeitos antidiabéticos e anti-hipercolesterolêmicos (Aboulwafa *et al.*, 2019; Cavicchia; Almeida, 2022; Kitwetcharoen *et al.*, 2023).

A fermentação da kombucha, a presença de componentes bioativos e a composição química da bebida variam consideravelmente dependendo dos substratos de fermentação e dos parâmetros fermentativos. Outros fatores incluem a adição de açúcar, o contato com o oxigênio na primeira etapa do cultivo, a temperatura e o tipo de cultura inoculante (Bishop *et al.*, 2022). A variedade de microrganismos presentes, como *Saccharomyces*, *Komagataeibacter*, *Acetobacter* e *Gluconobacter*, é modificada após cada fermentação, além das condições de realização do cultivo que irá interferir no produto final (Nyhan *et al.*, 2022). O processo de fermentação da kombucha é complexo, e vários fatores podem influenciar a concentração da cultura simbiótica de bactérias e leveduras e a composição físico-química (Landis *et al.*, 2022), com a ocorrência de diversas alterações no perfil físico-químico e sensorial ao longo da fermentação (Barakat *et al.*, 2023).

Tradicionalmente, a sacarose e o chá são os componentes mais utilizados para a produção da kombucha; no entanto, novos substratos de fermentação têm sido estudados, com o objetivo de encontrar novos compostos bioativos que permitam benefícios adicionais à saúde. Como exemplos, podem ser citados substratos como ervas, frutas e vegetais, algas, resíduos agrícolas e substratos lácteos (Emiljanowicz; Malinowska-Panczyk, 2020).

Sua produção vem ganhando espaço no mercado, essa popularização é proveniente do conhecimento das pessoas sobre os benefícios da bebida e o interesse por um estilo de vida saudável, fazendo com que os consumidores busquem cada vez mais esses produtos para serem incluídos na sua alimentação (Kapp; Sumner, 2019).

Em termos de regulamentação legal, apenas alguns países aprovaram os regulamentos sobre a bebida. No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e

Abastecimento (MAPA) aprovou a Instrução Normativa IN nº 41 para processamento de kombucha, análise de composição, classificações e rotulagem em 2019 (Brasil, 2019).

Considerando suas propriedades benéficas à saúde e características sensoriais (Vitas *et al.*, 2018), o preparo da Kombucha vem sendo cada vez mais diversificado visando buscar a inovação da bebida como estratégia competitiva de mercado. Dados da empresa Global Market Insights indicam que a bebida deve movimentar mais de cinco bilhões de dólares até 2025, com taxa de crescimento anual composta de 16% (Vegazeta, 2020). Um diferencial para o seu desenvolvimento é a diversificação dos sabores da bebida. A escolha de matérias-primas regionais, a exemplo dos frutos da região Nordeste, é uma alternativa para agregar valor aos frutos da região, além de reduzir o desperdício devido à sazonalidade ocasionada pelos curtos períodos de safra (Souza *et al.*, 2018).

4.3 Umbu

As frutas cítricas destacam-se pelo seu alto teor de vitamina C, composto importante que atua na neutralização de radicais livres e proteção contra estresse oxidativo (Konstantinidi; Koutelidakis, 2019). Também são fontes de compostos bioativos, como fenólicos e flavonoides, que também apresentam atividade antioxidante (Butu; Rodino, 2019).

A fruta umbu (*Spondias tuberosa* Arruda) se destaca pelo seu perfil nutricional, contendo macronutrientes, além de fibras, minerais, vitamina C e carotenoides (Ribeiro *et al.*, 2019). É nativa do semiárido brasileiro e possui uma excelente adaptação climática, decorrente da falta de água (Ribeiro *et al.*, 2018). Essa adaptação tem grande relevância no contexto socioambiental para a região, atendendo a grande demanda extrativista (Macêdo *et al.*, 2023). A colheita do umbu é interligada pela demanda, todavia também os aspectos sensoriais, que condizem com essa produtividade (Santos *et al.*, 2020).

A comercialização desse fruto pode ser tanto *in natura* como processada, como polpa, sorvetes, geleia e licor (Santos *et al.*, 2021). O uso desse fruto na preparação de bebidas fermentadas é promissor, pelo alto interesse dos produtores e consumidores (Merlino *et al.*, 2021). Além disso, os compostos voláteis estão

relacionados à aceitação do produto, pela sua atração sensorial, no qual há o destaque do umbu pelo seu aroma característico que agrega ao produto (Welke *et al.*, 2021).

4.4 Liofilização

A liofilização difere de outros métodos de desidratação porque a água é primeiramente congelada e, em seguida, convertida diretamente em vapor por sublimação, em vez de ser removida da superfície do alimento por evaporação (Fellows, 2019). É um processo de secagem que tem ganhado espaço e interesse na área de alimentos pela sua capacidade de preservação e transporte do material (Ward; Matejtschuk, 2021), além de um melhor controle de armazenamento dos produtos (Buahom *et al.*, 2023; Tian *et al.*, 2023).

A liofilização passa por três fases: inicialmente a amostra é congelada, posteriormente ocorre a secagem primária e o processo é finalizado com a secagem secundária (Sitongi *et al.*, 2024).

Na primeira etapa, a amostra é congelada rapidamente de forma a reduzir o dano à estrutura celular do alimento. O papel desse congelamento é a formação estrutural do produto e a imobilização dos componentes da amostra, assim evitando a formação de espuma durante a pressurização. A temperatura aplicada é até -80°C em congelamento rápido, assim evitando a formação de cristais de gelo (Sitongi *et al.*, 2024).

A secagem primária, responsável pela retirada de 70-90% de gelo em forma gasosa (Sintong *et al.*, 2024), ocorre pela sublimação do gelo - fase em que a água está no estado sólido e passa para o gasoso sem passar pela fase líquida. Esta etapa é fundamental para determinar as condições finais da amostra, e o tempo desse procedimento irá variar conforme alguns fatores, como a espessura da amostra e a sua composição (Tchessalov *et al.*, 2023). Nesta fase, a pressão ao redor do alimento é reduzida e o aquecimento é aplicado lentamente ao alimento congelado, levando o gelo a sublimar a vapor d'água. É formado um gradiente de pressão de vapor d'água porque a pressão no liofilizador é menor do que a pressão de vapor na superfície do gelo. O vapor d'água se move, portanto, através do

alimento desidratado para a câmara de desidratação e é removido pela sua condensação nas bobinas de refrigeração (Fellows, 2019).

A secagem secundária pode remover a água ligada, com composição variando de 5% a 30% (Jameel, 2023). A retirada dessa água é importante para dar a característica de uma amostra mais seca, e consequentemente, aumentar o tempo de vida útil do produto (Ward; Matejtschuk, 2021). É importante analisar as condições adversas à amostra para reduzir danos celulares, entre eles a formação dos cristais de gelo, interferindo diretamente na permeabilidade da membrana celular por dano mecânico (Sang *et al.*, 2023).

Para melhorar a viabilidade das células microbianas após o estresse do congelamento e secagem, podem ser usados agentes crioprotetores para evitar um maior dano às células durante o processo de liofilização. A sua ação será a criação de uma camada densa nas células, melhorando o processo e sobrevivência dos probióticos (Bodzen *et al.*, 2021).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Materiais

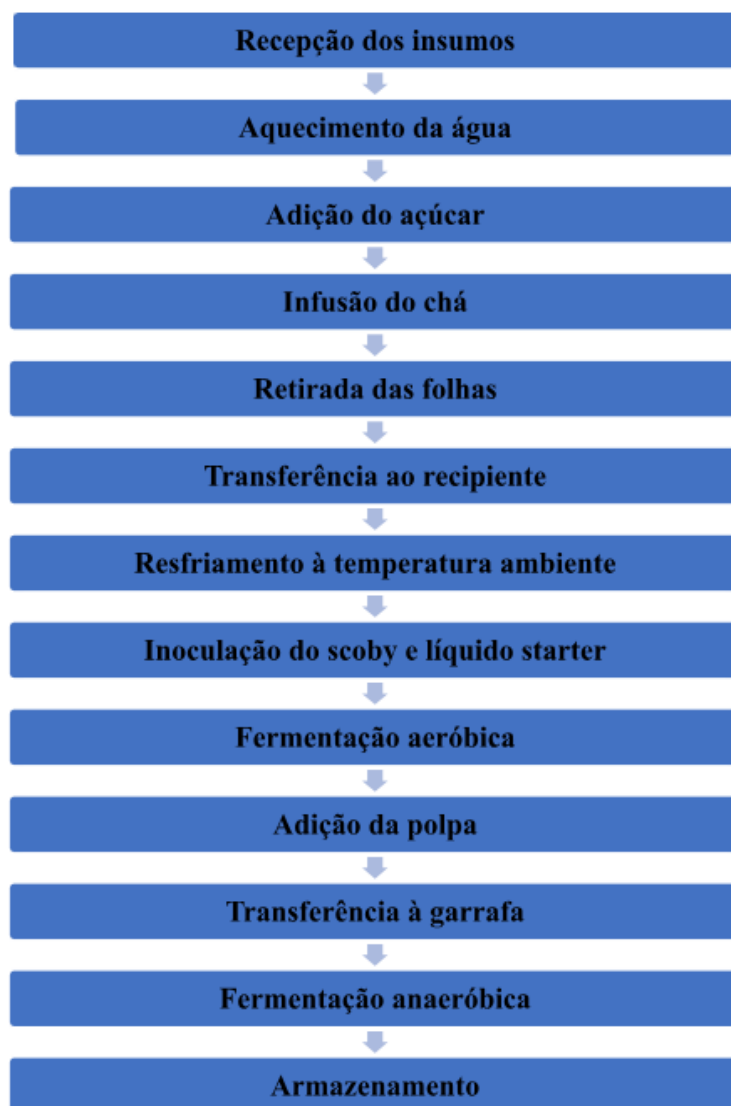
Foi utilizada a polpa de umbu que foi adquirida no comércio local de Recife - PE. A Kombucha (Scoby 8 cm + 150 mL de Starter) foi adquirida na loja Probióticos Brasil, o chá verde e o açúcar foram adquiridos no comércio local da cidade de Vitória de Santo Antão (PE, Brasil). Todos os demais insumos e vidrarias encontravam-se disponíveis nos Laboratórios de Bioprocessos, Tecnologia de Alimentos e Técnica e Dietética do Centro Acadêmico de Vitória da UFPE.

5.2 Elaboração da kombucha e saborização

Para realizar a elaboração da bebida, foi utilizado o fluxograma mostrado na Figura 1.

Inicialmente, foi medido um volume de 2700 mL de água mineral numa proveta e pesado 150 g de açúcar cristal numa balança semi-analítica. Em seguida, os ingredientes foram adicionados a uma panela para serem submetidos ao cozimento durante 5 minutos em fogo alto. Depois do cozimento, foi adicionado o chá verde e o recipiente foi coberto, realizando-se a infusão com duração de 5 minutos. Posteriormente, as folhas foram retiradas com o auxílio de uma peneira e o chá foi transferido para um recipiente de vidro previamente esterilizado na autoclave, no qual aguardou-se a queda da temperatura para realizar a inoculação do líquido *starter* e *Scoby*. Depois de inocular a cultura, o recipiente foi coberto com um pano previamente sanitizado com 200 ppm de hipoclorito por 15 minutos e este foi amarrado com uma liga, para ser procedida a primeira etapa de fermentação, que ocorre pela respiração aeróbica. Esta etapa teve a duração de 6 dias.

Figura 1 - Etapas de processamento da kombucha.



Fonte: o autor (2024).

Após este período de fermentação, a bebida foi saborizada pela adição de 15% (v/v) de polpa de umbu e depois envasada em duas garrafas plásticas, previamente lavadas e sanitizadas com 200 ppm de hipoclorito por 15 minutos, para o início da fase de fermentação anaeróbica, que teve a duração de 2 dias. Após esse período, a bebida foi armazenada em refrigerador a 6 °C.

5.3 Avaliação da cinética de fermentação

Foram retiradas alíquotas diárias para a realização de análises físico-químicas e contagem de microrganismos viáveis. Os parâmetros acidez, pH, °Brix e álcool foram determinados de acordo com a metodologia do Instituto Adolpho Lutz (2008).

Os compostos fenólicos totais foram realizados conforme a metodologia descrita por Mokrani e Madani (2016), pelo método de Folin-Ciocalteu. Um volume de 200 µL da amostra foi adicionado a tubos contendo 1 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (previamente diluído 10x em água). Após adição de 0,8 mL de solução de carbonato de sódio (7,5% p/v), os tubos foram imediatamente agitados em vórtice. A reação foi mantida por 30 min no escuro e a absorbância foi medida a 765 nm, contra um branco de etanol 95% (v/v). A concentração de compostos fenólicos foi determinada a partir de uma curva de calibração empregando-se ácido gálico como padrão. Os valores de fenólicos totais foram expressos como equivalentes de ácido gálico (mg de ácido gálico/g de amostra). As análises foram realizadas em triplicata.

Para a determinação da concentração de flavonoides, foi empregado o método relatado por Phjimulyani *et al.*, (2012). Um volume de 0,5 mL da amostra, bem como o padrão (quercetina), foi misturado com 1 mL de solução de tricloreto de alumínio/etanol a 2%. O volume da mistura foi então completado para 25 mL com água em um balão volumétrico e deixado em repouso durante 40 minutos a 23°C. A absorbância da amostra foi então medida a 415 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de quercetina por 100 g de peso seco. As análises foram realizadas em triplicata.

A determinação da concentração de açúcares redutores, expressos em concentração de glicose, foi realizada de acordo com a metodologia de Miller (1959).

Para análise microbiológica foram avaliadas as concentrações celulares de bolores e leveduras e bactérias lácticas, por meio da técnica *spread-plate* de contagem de células viáveis. Para a análise das bactérias lácticas, as amostras foram submetidas a diluições decimais seriadas em solução salina (NaCl 0,85% m/v) e alíquotas foram semeadas em placas de Petri contendo meio caldo MRS acrescido de ágar e glicose (20 g/L). As placas foram incubadas a 37 °C por 48 h. Para a

análise de bolores e levedura, a mesma técnica foi empregada mas utilizando-se o meio de cultura Rosa Bengala, por um tempo de incubação de 5 dias a 30 °C.

5.4 Liofilização

a) Avaliação sem adição de inulina

Inicialmente foi realizado um ensaio preliminar de liofilização da bebida de forma a avaliar o período de secagem e a concentração de células viáveis após o processo. A bebida foi liofilizada no Laboratório de Bioprocessos do CAV de acordo com o seguinte procedimento: a amostra foi distribuída em recipientes de vidro e congeladas em freezer a - 80°C por 24 h. Em seguida, foi realizado o procedimento de liofilização a -80°C por 8 dias sob vácuo (1,720 mT) no liofilizador (Virtis SP scientific, Sentry 2.0). A amostra liofilizada foi armazenada em sacos de polietileno de baixa densidade e acondicionadas à temperatura ambiente.

O rendimento do produto obtido após o ensaio de secagem foi determinado de acordo com a Equação 1:

$$\frac{PF}{PI} \times 100$$

onde PF é o peso final da amostra após secagem e PI é o peso inicial da amostra líquida.

b) Adição de inulina

Foram realizados ensaios adicionais de liofilização empregando-se inulina como agente crioprotetor, sendo elaboradas 4 formulações: Amostra 1 (controle, sem adição de inulina); Amostras 2 e 3 (adição de inulina nas concentrações de 2 e 4% p/v, respectivamente, antes da fermentação anaeróbica); Amostra 4 (adição de inulina na concentração de 2% p/v, após a fermentação anaeróbica). As amostras foram congeladas a -80°C por 24 h e submetidas à liofilização a -50°C por 6 dias sob vácuo (1,720 mT) no liofilizador (Virtis SP scientific, Sentry 2.0) no Departamento de Farmácia da UFPE.

5.5 Análises físico-químicas de microbiológicas da kombucha liofilizada

A umidade do pó liofilizado foi determinada de acordo com a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008).

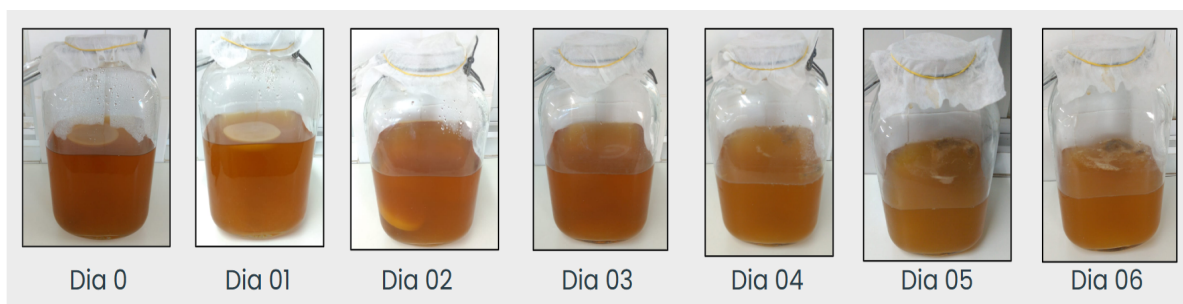
Foram avaliadas as concentrações de compostos fenólicos totais e flavonoides e a contagem de bactérias ácido lácticas e bolores e leveduras, de acordo com os métodos descritos anteriormente.

6 RESULTADOS

6.1 Aspecto visual da bebida durante a fermentação aeróbica

Os resultados da cinética de fermentação possibilitaram analisar o comportamento da bebida durante o processo fermentativo de acordo com alterações no seu aspecto visual. Na Figura 2, pode-se observar o aspecto visual da bebida durante a respiração aeróbica, havendo alteração da coloração durante o período e a formação da camada de celulose na superfície. Entretanto, conforme a retirada de amostras diárias, ocorria a perturbação da formação do *Scooby*, assim não completando a formação uniforme dessa camada.

Figura 2 - Aspecto visual da kombucha durante a etapa de respiração aeróbica.

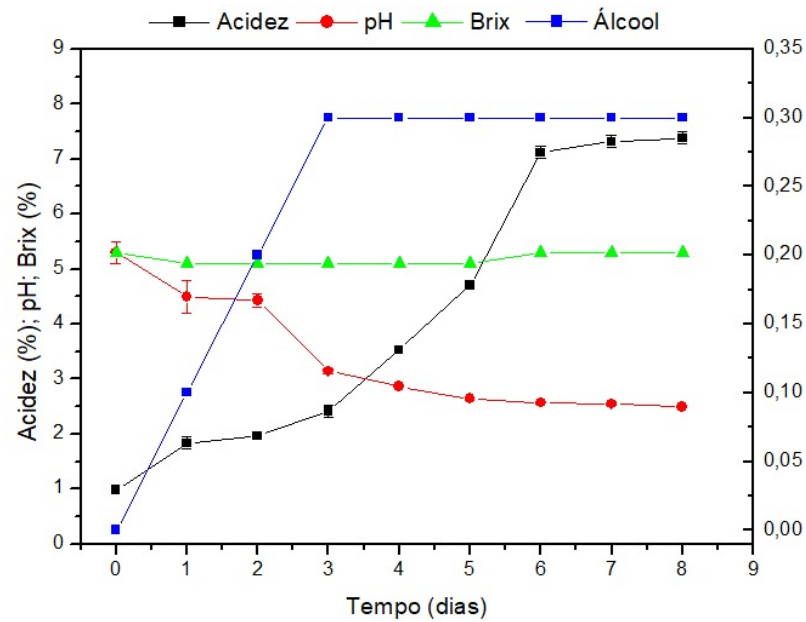


Fonte: o autor (2024).

6.2 Cinética de fermentação

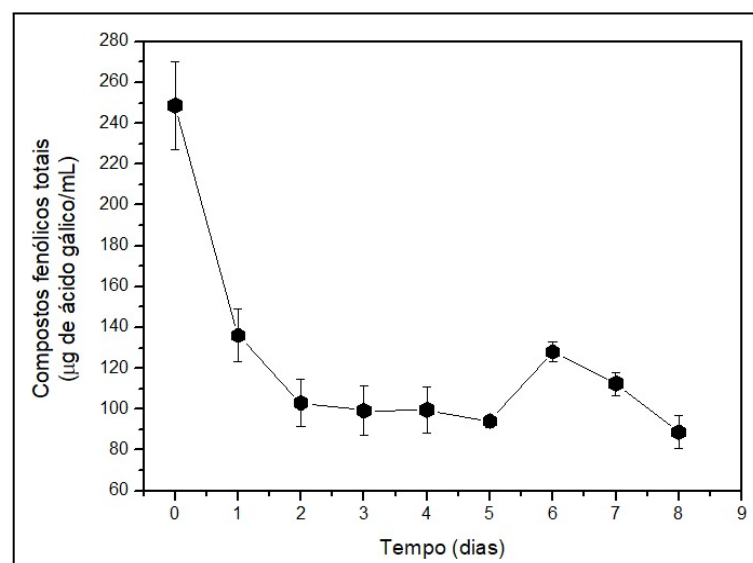
Os dados apresentados na Figura 3 referem-se à cinética de fermentação, com os resultados obtidos da acidez, pH, °Brix e álcool durante os 8 dias de cultivo. A Figura 4 mostra os resultados obtidos para a concentração dos compostos fenólicos totais durante o período, e a Figura 5 ilustra a coloração das amostras coletadas diariamente durante a fermentação.

Figura 3 - Cinética de fermentação com os resultados obtidos da acidez, pH, °Brix e álcool.



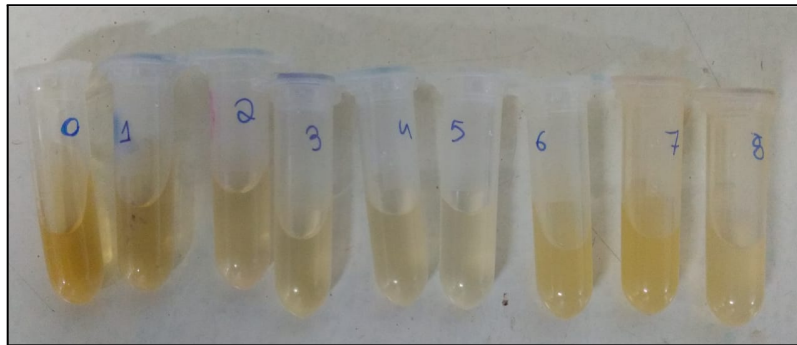
Fonte: o autor (2024).

Figura 4 - Concentração de compostos fenólicos totais durante a cinética de fermentação da kombucha.



Fonte: o autor (2024).

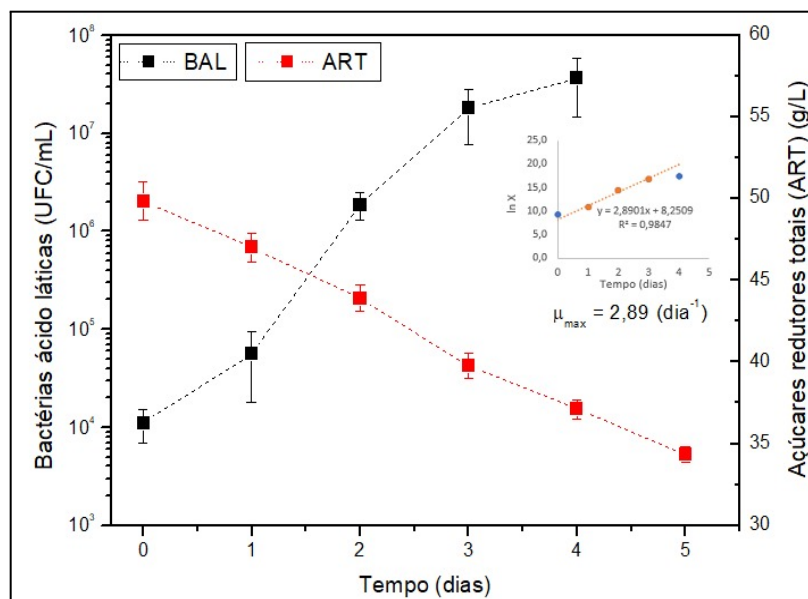
Figura 5 - Coloração das amostras durante a fermentação.



Fonte: o autor (2024).

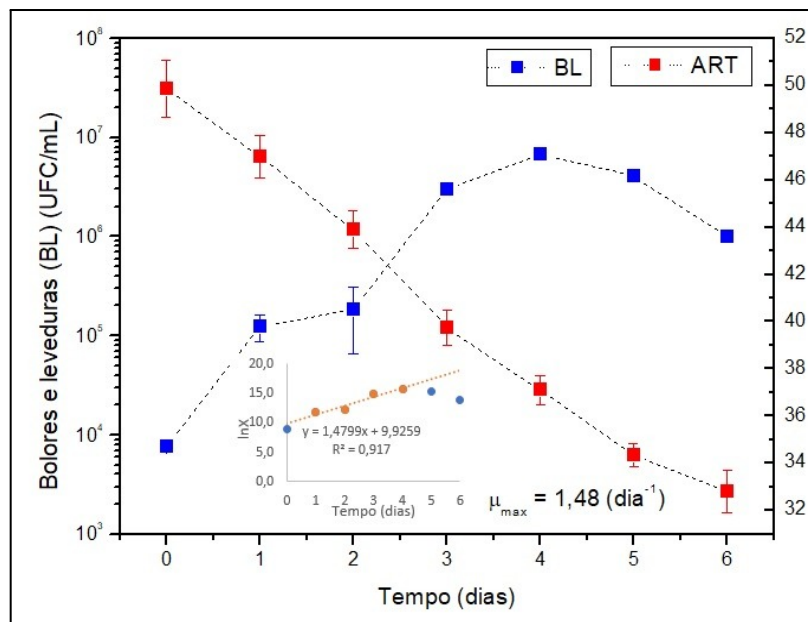
A Figura 6 mostra a concentração de células viáveis de bactérias lácticas e o consumo de açúcares redutores durante os cinco primeiros dias de fermentação, e a Figura 7 mostra a concentração de células viáveis de bolores e leveduras e o consumo de açúcares redutores durante os seis primeiros dias de fermentação.

Figura 6 - Concentração de células viáveis de bactérias lácticas e o consumo de açúcares redutores durante os cinco primeiros dias de fermentação.



Fonte: o autor (2024).

Figura 7 - Concentração de células viáveis de bolores e leveduras e o consumo de açúcares redutores durante os seis primeiros dias de fermentação.



Fonte: o autor (2024).

6.3 Liofilização

A Figura 8 mostra as amostras da bebida antes e após a liofilização nos ensaios preliminares. Neste ensaio, a liofilização foi realizada durante 8 dias.

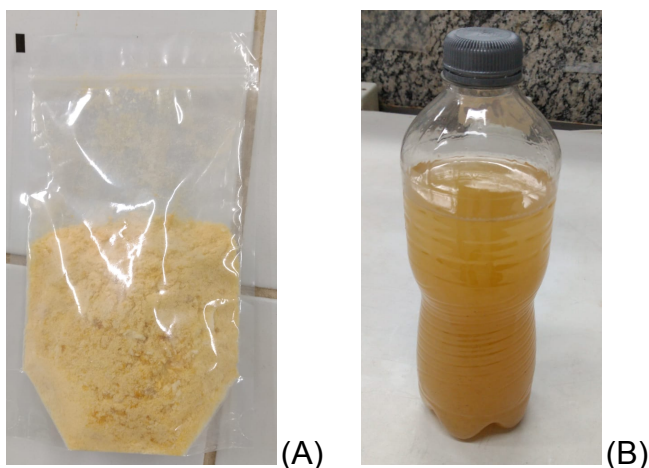
Figura 8 - Amostras da kombucha antes e após a liofilização nos ensaios preliminares.



Fonte: o autor (2024).

Após o processo de liofilização, a amostra foi acondicionada em embalagem plástica à temperatura ambiente (Figura 9A), sendo observado um rendimento de 6,80 % e um percentual de umidade de $5,73 \pm 0,73$ %. A Figura 9B mostra o aspecto visual da bebida após realizada a sua reconstituição em água gaseificada gelada numa proporção de 1 g para 50 mL.

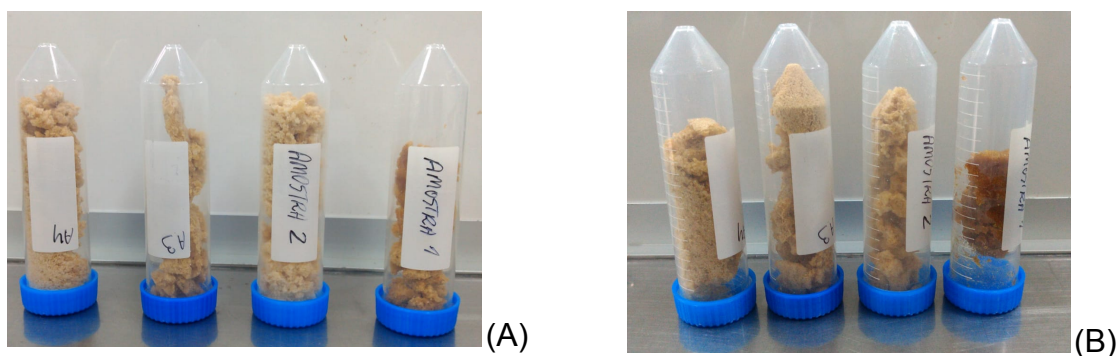
Figura 9 - Amostra de kombucha liofilizada e acondicionada em embalagem de polietileno (A). Amostra de kombucha após sua reconstituição em água (B).



Fonte: o autor (2024).

Para os ensaios de liofilização na presença de inulina, foram obtidas 4 amostras liofilizadas e o aspecto visual das amostras logo após a secagem é mostrado na Figura 10A. Após armazenamento em dessecador à temperatura ambiente durante 7 dias, o aspecto visual das amostras é observado na Figura 10B.

Figura 10 - Amostras liofilizadas logo após a secagem (A) e após 7 dias de armazenamento em dessecador à temperatura ambiente (B)



Amostra 1: controle, sem adição de inulina; Amostras 2 e 3: adição de inulina nas concentrações de 2 e 4% p/v, respectivamente, antes da fermentação anaeróbica; Amostra 4: adição de inulina na concentração de 2% p/v, após a fermentação anaeróbica.

Fonte: o autor (2024).

6.4 Caracterização físico-química da bebida antes e após a liofilização

A Tabela 1 apresenta os resultados de acidez e pH da bebida antes e após a liofilização.

Tabela 1 - Resultados de acidez e pH da bebida antes e após a liofilização.

Amostra	Bebida		Pós liofilizados	
	Acidez (%)	pH	Acidez (%)	pH
Controle	7,45 ± 0,00 ^a	4,60 ± 0,04 ^b	67,59 ± 0,00 ^a	2,66 ± 0,07 ^a
Fermentação com inulina 2%	6,96 ± 0,00 ^a	4,53 ± 0,05 ^b	65,60 ± 0,00 ^a	3,20 ± 0,18 ^a
Fermentação com inulina 4%	7,95 ± 0,00 ^a	4,56 ± 0,04 ^b	57,65 ± 0,00 ^b	2,90 ± 0,06 ^a
Inulina 2% após fermentação	7,45 ± 0,00 ^a	4,43 ± 0,04 ^b	67,59 ± 0,00 ^a	2,88 ± 0,06 ^a
Inulina 4% após fermentação	7,45 ± 0,00 ^a	4,65 ± 0,03 ^b	nd	nd

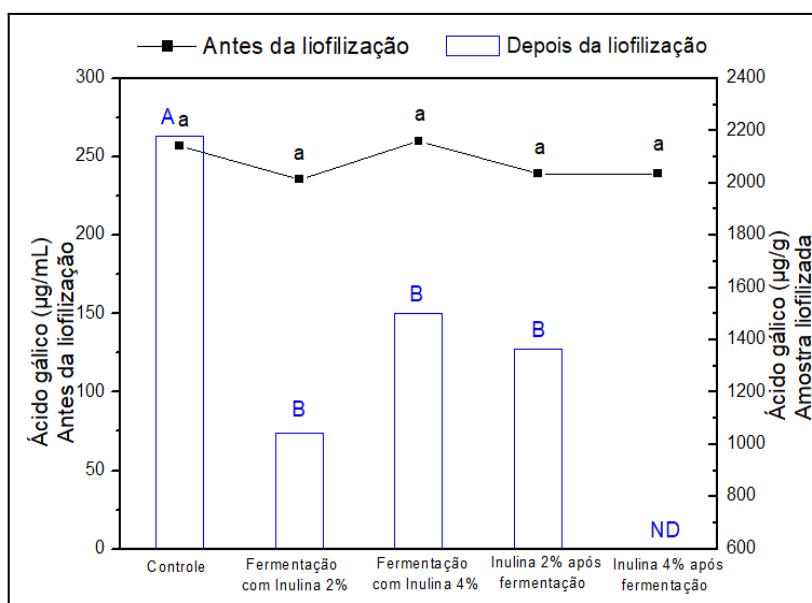
*letras iguais na mesma coluna: amostras não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,01$);

*nd: Não determinado.

Fonte: o autor (2024).

As Figuras 11 e 12 mostram, respectivamente, os resultados dos compostos fenólicos totais e dos flavonóides, antes e depois das amostras serem submetidas ao processo de liofilização.

Figura 11 - Concentração de compostos fenólicos totais antes e após a liofilização.

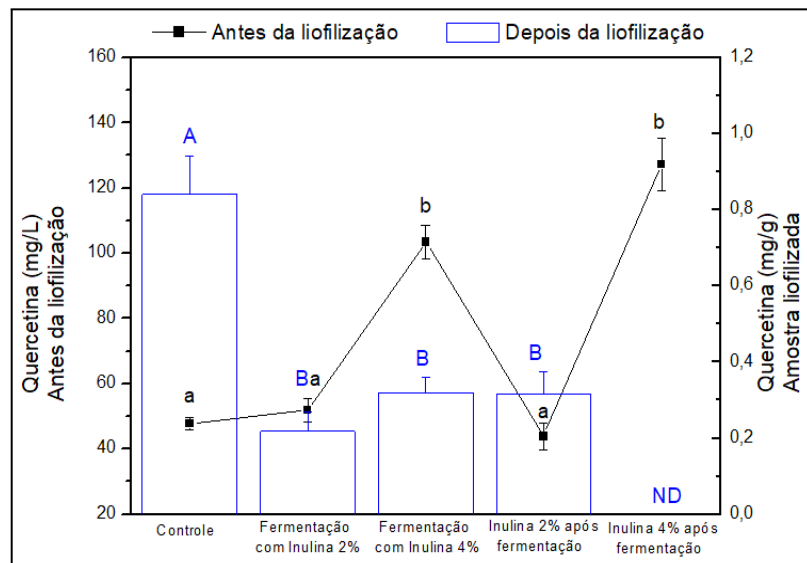


*Letras iguais para o mesmo tipo de amostra: não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$)

*ND: Não determinado.

Fonte: o autor (2024).

Figura 12 - Concentração de flavonóides antes e após a liofilização



*Letras iguais para o mesmo tipo de amostra: não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$)

*ND: Não determinado.

Fonte: o autor (2024).

7 DISCUSSÃO

7.1 Aspecto visual da bebida

A análise do aspecto visual da bebida é importante para observar as mudanças visuais durante o período de fermentação aeróbica. Foi observada uma alteração da coloração, com perda da intensidade conforme o decorrer do cultivo. Observou-se ainda a formação de uma nova camada de celulose, sendo esta perceptível no terceiro dia de fermentação, com uma leve formação do biofilme. É importante evidenciar que devido à homogeneização diária e retirada da amostra, aconteceu uma perturbação do sistema, consequentemente prejudicando a formação uniforme dessa camada de celulose.

7.2 Cinética de fermentação

Em relação à acidez, a amostra inicial apresentou um valor de 0,98%, valor predominante da acidez do inóculo. No primeiro dia de fermentação aeróbica, a acidez aumentou para 1,83%, atingindo 4,7% no quinto dia de fermentação. Após a adição da polpa de umbu no sexto dia de fermentação, foi observado um aumento significativo da acidez, atingindo 7,12%. Em seguida, os valores permanecem estáveis durante o sétimo e o oitavo dia de cultivo, período em que ocorre a fermentação anaeróbica. O aumento da acidez é resultante da produção de ácidos orgânicos durante a fermentação (Jayabalan *et al.*, 2014).

O pH inicial da bebida foi de 5,3, e os valores caem até o quinto dia de cultivo, atingindo 2,64, e permanecem estáveis até o final do período, com pH final de 2,5. De acordo com a legislação (Brasil, 2019), o pH da bebida deve estar entre 2,5 e 4,2, estando dessa forma dentro do limite estabelecido.

Quando analisados os Sólidos Solúveis Totais (°Brix), os valores mostram-se estáveis durante todo o processo, havendo um pequeno aumento do valor de 5,1 até 5,3 após a adição da polpa de umbu no sexto dia de cultivo. A produção alcoólica ocorreu nos três primeiros dias de fermentação aeróbica, atingindo 0,3% e permanecendo neste valor até o fim da fermentação. De acordo com a legislação (Brasil, 2019), a graduação alcoólica (% v/v) para a Kombucha sem álcool deve ser

no máximo de 0,5%. No entanto, a normativa exige que o produto deve conter a especificação “contém álcool”.

Com relação à concentração de compostos fenólicos, observa-se um decréscimo nos valores até o quinto dia. Apesar dessa diminuição, pode-se notar uma estabilidade nos valores de concentração entre o segundo e o quinto de cultivo. No sexto dia de cultivo, observa-se um aumento na concentração desses compostos, proveniente da adição da polpa de umbu. Em seguida, os valores voltam a diminuir durante a fermentação anaeróbica. A diminuição da concentração de fenólicos pode ocorrer pela produção de enzimas como β -xilosidase, β -galactosidase, α -amilases e celulasas, que irão atuar na quebra das ligações de éteres entre fenólicos. Apesar de acontecer essa hidrólise, essa alteração química pode aumentar a atividade antioxidante (Silva *et al.*, 2023).

Na figura que compara a coloração durante o período fermentativo, é possível analisar a perda de cor durante a fermentação, sendo resultado dessa degradação estrutural dos compostos fenólicos e demais componentes bioativos presentes na bebida. As enzimas liberadas pelos microrganismos presentes no *SCOB*Y e no líquido fermentado podem biodegradar os polifenóis, diminuindo sua quantidade, mas também são capazes de biotransformar vários fitoquímicos presentes no chá em compostos fenólicos, resultando numa diminuição da intensidade de cor da bebida (Chakravorty *et al.*, 2016; Watawana *et al.*, 2017).

A bactérias ácido lácticas são probióticos relacionados a diversos benefícios associados à ingestão frequente de bebidas contendo essas bactérias. A kombucha é uma cultura protossimbiótica, caracterizada por uma diversidade de microrganismos. Nesse estudo, avaliou-se o crescimento dessas bactérias durante os 4 primeiros dias de fermentação, sendo observado um aumento gradual da sua concentração, atingindo 4×10^7 UFC/mL. A concentração celular de bolores e leveduras atinge o valor máximo no quarto dia de fermentação (6×10^6 UFC/mL), havendo uma diminuição da concentração celular até o sexto dia para 10^6 UFC/mL.

Foi observada uma diminuição da concentração de açúcares redutores totais durante todo período de fermentação, com valor inicial de 49,86 g/L e valor final de 33 g/L no sexto dia de cultivo. Isso decorre do consumo dos carboidratos como fonte de carbono pela cultura simbiótica para a produção de metabólitos como ácidos

orgânicos e álcool. De acordo com Villarreal-Soto *et al.* (2018), no processo fermentativo da kombucha, as leveduras oxidam açúcares simples a etanol e este, é oxidado a ácido acético pelas bactérias acéticas. A fonte de carbono também é utilizada para a síntese de celulose bacteriana.

7.3 Liofilização

Foi avaliado o rendimento da kombucha em pó, a umidade e a reconstituição do pó liofilizado em água gaseificada, além de ser investigada a concentração de células viáveis após a liofilização. O rendimento do pó de 6,8% foi considerado adequado, visto que se trata de uma bebida com grande quantidade de água. A umidade do produto final (5,7 %) caracteriza um produto desidratado de baixa umidade (< 10%), o que é importante para a manutenção das suas características de conservação. É importante ressaltar a baixa quantidade de pó que é necessária para a sua reconstituição em água gaseificada, sendo usado 1 g de pó para 50 mL de água.

A adição de inulina como agente crioprotetor conferiu uma melhor estabilidade ao pó liofilizado após 7 dias de acondicionamento à temperatura ambiente. Quando comparado com a amostra 1 (controle, sem adição de inulina), foi possível visualizar que as amostras que continham inulina não absorviam umidade, não sendo observadas alterações no seu aspecto visual. Por outro lado, a amostra controle absorveu muita umidade no período observado. Após a liofilização, a amostra está seca, e manter essa característica do produto final é importante para garantir a sua estabilidade, principalmente quando for destinado ao mercado consumidor.

Dentro dos parâmetros físico-químicos, é importante destacar que o pH da bebida antes de ser liofilizada estava acima do regulamentado pela Instrução Normativa nº 41 que estabelece como valor máximo 4,2. Mas quando diluído na proporção supracitada, observa-se que o pH esteve próximo de 3, atendendo ao valor da legislação.

Os pós liofilizados não apresentaram concentração de células viáveis em nenhuma das amostras testadas, mesmo na presença do crioprotetor inulina. Os resultados mostram a necessidade de mais estudos a respeito do processo de

liofilização e do emprego de crioprotetores, avaliando-se parâmetros de secagem como volume a ser liofilizado, tempo de liofilização e diferentes tipos de crioprotetores que possam conferir proteção durante o estresse celular causado pelo congelamento e liofilização.

Analizando os compostos fenólicos, pode-se observar que foram obtidas elevadas concentrações desses compostos nas amostras liofilizadas. A presença de inulina ocasiona uma diminuição da concentração de fenólicos; no entanto, ainda assim são observadas concentrações entre 100 e 1500 µg de ácido gálico por grama de amostra liofilizada. Os compostos fenólicos trazem inúmeros benefícios à saúde, como efeito cardioprotetor, antioxidante, ação anti-inflamatória e além de proteção contra doenças intestinais (Barbalho *et al.*, 2019; Shang *et al.*, 2021).

Também foi observada a presença de flavonoides nas amostras liofilizadas, com concentrações entre 0,2 e 0,3 mg de quercetina por grama de amostra liofilizada para as amostras que continham o crioprotetor.

No Brasil, não existe uma recomendação diária para o consumo de compostos fenólicos totais. Em estudo recente desenvolvido por Carnaúba (2021), considerando indivíduos da população brasileira com ≥ 10 anos de idade incluídos na Pesquisa de Orçamentos de Familiares (2008 – 2009), foi estimado um consumo diário de compostos fenólicos totais de 204 mg/dia. De acordo com o Guia Alimentar para a População Brasileira, o consumo mínimo recomendado de frutas, legumes e verduras é de 400 g/dia, o que garantiria a ingestão de no mínimo 1000 mg/dia de polifenóis. Dessa forma, a ingestão de fenólicos totais pela população brasileira pode ser considerada baixa, especialmente em razão do consumo insuficiente de frutas e hortaliças.

Considerando os resultados de concentração de bioativos no pó liofilizado da kombucha, observa-se que a bebida reconstituída em água é uma opção prática de consumo, além de ser fonte de compostos bioativos que trazem importantes benefícios à saúde.

8 CONCLUSÕES

A kombucha é uma bebida rica em diversidade de microrganismos e compostos nutritivos à saúde, entre eles os fenólicos e flavonóides. A aplicação tecnológica do processo de liofilização é inovadora e inclusive ainda não prevista pela Instrução Normativa que regulamenta os padrões de qualidade da kombucha, caracterizando um novo produto com grande potencial de mercado. Os resultados obtidos nesta pesquisa são promissores, considerando a obtenção de um pó liofilizado com alto teor de compostos fenólicos e flavonóides. Apesar de não ter sido observado crescimento microbiano, torna-se importante a realização de estudos complementares para avaliar a adição de diferentes agentes crioprotetores ou suas combinações para garantir a viabilidade microbiana.

REFERÊNCIAS

- ABACI, N.; DENIZ, F. S. S.; ORHAN, I. E. Kombucha—An ancient fermented beverage with desired bioactivities: A narrowed review. **Food Chemistry: X**, [s. l.], v. 14, p. 100302, 2022.
- ABDELWAHED, W *et al.* Freeze-drying of nanoparticles: formulation, process and storage considerations. **Advanced drug delivery reviews**, [s. l.], v. 58, n. 15, p. 1688-1713, 2006.
- ABOULWAFA, M. M. *et al.* A comprehensive insight on the health benefits and phytoconstituents of *Camellia sinensis* and recent approaches for its quality control. **Antioxidants**, Switzerlandv, 8, n. 10, p. 455, 2019.
- AKHTAR, Saamir *et al.* Comprehensive review of sustainable utilization of *Arenga obtusifolia* Griff. as a food. **Journal of Agriculture and Food Research**, [s. l.], v. 15, p. 100945, 2023.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 19, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos Para Registro de Alimento com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 03 maio 1999. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/727a7f004745792d8641d63fbc4c6735/RESOLUCAO_19_1999.pdf?MOD=AJPERES. Acesso em: 28 maio 2024.
- BARAKAT, N. *et al.* Kombucha analogues around the world: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Texas, v. 63, n. 29, p. 10105-10129, 2023.
- BARBALHO, S. M. *et al.* Green tea: A possibility in the therapeutic approach of inflammatory bowel diseases?: Green tea and inflammatory bowel diseases. **Complementary therapies in medicine**, Ohio, v. 43, p. 148-153, 2019.
- BASCHALI, A *et al.* BASCHALI, Aristeia *et al.* Traditional low-alcoholic and non-alcoholic fermented beverages consumed in European countries: A neglected food group. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 30, n. 1, p. 1-24, 2017.
- BISHOP, P. *et al.* Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the chemical and flavor profile. **Food Chemistry Advances**, [s. l.], v. 1, p. 100025, 2022.
- BODZEN, A. *et al.* Design of a new lyoprotectant increasing freeze-dried *Lactobacillus* strain survival to long-term storage. **BMC biotechnology**, [s. l.], v. 21, p. 1-10, 2021.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 41, de 17 de setembro de 2019. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, ed. 181, seção 1, p. 13, 2019. Disponível: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/instrucao-normativa-n-41-de-17-de-setembro-de-2019-216803534?inheritRedirect=true&redirect=%2Fweb%2Fguest%2Fsearch%3Fdata>

[%3D17-09-2019%26secao%3Ddo1%26qSearch%3DKombucha](#). Acesso em: 03 jan. 2024.

BUAHOM, J. *et al.* Survivability of freeze-and spray-dried probiotics and their effects on the growth and health performance of broilers. **Veterinary World**, Guzerate, v. 16, n. 9, p. 1849, 2023.

BUTU, M.; RODINO, S.. **Academic Press**, 2019. p. 303-338.

CARNAUBA, R. A. **Estimativa da ingestão de compostos bioativos pela população brasileira**. 2021. Tese (Doutorado em Ciência) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

CASTRO-LÓPEZ, C. *et al.* Key stress response mechanisms of probiotics during their journey through the digestive system: a review. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, [s. l.], v. 15, n. 5, p. 1250-1270, 2023.

CAVICCHIA, L. O. A.; ALMEIDA, M. E. F.. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 58, p. e20766, 2022.

CHAKRAVORTY, S.; BHATTACHARYA, S.; BHATTACHARYA, D.; SARKAR, S.; GACHHUI, R. **10 - Kombucha: A Promising Functional Beverage Prepared From Tea**. Non-Alcoholic Beverages, [s. l.], v. 6, p. 285-327, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815270-6.00010-4>. Acesso em: 03 jan. 2023.

COELHO, R. M. D. *et al.* Kombucha. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, [s. l.], v. 22, p. 100272, 2020.

DIEZ-OZAETA, I.; ASTIAZARAN, O. J. Fermented foods: An update on evidence-based health benefits and future perspectives. **Food Research International**, [s. l.], v. 156, p. 111133, 2022.

DUTTA, H.; PAUL, S. K. Kombucha Drink: Production, Quality, and Safety Aspects. **Production and Management of Beverages**, [s. l.], v. 1, p. 259-288, 2019.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128152607000080>.

Acesso em: 03 de out. de 2024.

EMILJANOWICZ, K. E.; MALINOWSKA-PAŃCZYK, E. Kombucha from alternative raw materials—The review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 60, n. 19, p. 3185-3194, 2019.

FAN, K.; ZHANG, M.; MUJUMDAR, A. S. Recent developments in high efficient freeze-drying of fruits and vegetables assisted by microwave: A review. **Critical reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 59, p. 1357-1366, 2019.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2019.

FISSORE, D.; GALLO, G.; RUGGIERO, A. E.; THOMPSON, T. N. On the use of a micro freeze-dryer for the investigation of the primary drying stage of a freeze-drying process. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, v. 141, p. 121-129, 2019.

HAMMOUDI H. D. *et al.* Understanding and fostering mental health and well-being among university faculty: A narrative review. **Journal of clinical medicine**, Basel, v. 12, n. 13, p. 4425, 2023.

HARRISON, K.; CURTIN, C. Microbial composition of SCOBY starter cultures used by commercial kombucha brewers in North America. **Microorganisms**, Basel, v. 9, n. 5, p. 1060, 2021.

HÜBNER, D. **Produção de cerveja estilo catharina Sour com polpa de pitaia (*Hylocereus polyrhizus*) e gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe)**. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo: IAL, 2008. v.1.

JAMEEL, F. Overview of Freeze Drying. *In*: JAMEEL, F. (ed.). Principles and Practices of Lyophilization in Product Development and Manufacturing. Cham: **Springer International Publishing**, 2023. p. 1-19.

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.

KAASHYAP, M.; COHEN, M.; MANTRI, N. Microbial diversity and characteristics of kombucha as revealed by metagenomic and physicochemical analysis. **Nutrients**, Basel, v. 13, n. 12, p. 4446, 2021.

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

KITWETCHAROEN, H. *et al.* Kombucha healthy drink—recent advances in production, chemical composition and health benefits. **Fermentation**, Basel, v. 9, n. 1, p. 48, 2023.

KONSTANTINIDI, M.; KOUTELIDAKIS, A. E. Functional foods and bioactive compounds: A review of its possible role on weight management and obesity's metabolic consequences. **Medicines**, Basel, v. 6, n. 3, p. 94, 2019.

LANDIS, E. A. *et al.* Microbial diversity and interaction specificity in kombucha tea fermentations. **Msystems**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. e00157-22, 2022.

LI, R. *et al.* Enhancing the proportion of gluconic acid with a microbial community reconstruction method to improve the taste quality of Kombucha. **Lwt**, [s. l.], v. 155, p. 112937, 2022.

MACÊDO, E. L. C. *et al.* Effects of yeast fermented soursop and umbu-cajá pulps on the colonic microbiota of middle-aged hypertensive adults. **Food Bioscience**, [s. l.], v. 51, p. 102309, 2023.

MAIA, G. A. *et al.* Development of mixed beverages based on tropical fruits. **Non-alcoholic beverages**. [s. l.], v. 6, p. 129-162, 2019.

MASSOUD, R.; JAFARI-DASTJERDEH, R.; NAGHAVI, N.; KHOSRAVI-DARANI, K. All aspects of antioxidant properties of kombucha drink. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, Romania, v. 12, n. 3, p. 4018-4027, 2022.

MERLINO, V. M. *et al.* Is the consumer ready for innovative fruit wines? Perception and acceptability of young consumers. **Foods**, Basel, v. 10, n. 7, p. 1545, 2021.

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

MIRANDA, J. F. *et al.* Kombucha: A review of substrates, regulations, composition, and biological properties. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 87, n. 2, p. 503-527, 2022.

MOHAMMED S.; LANA, A.; HAYA, B.; RAHMA, B.; AMANI A.; REYASH, REHAM A.; JIHAD Q. Fruit By-Product Processing and Bioactive Compounds, **Journal of Food Quality**, [s. l.], v. 2021, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2021/5513358>. Acesso em 20 jun 2024.

MORALES, D. Biological activities of kombucha beverages: The need of clinical evidence. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.] v. 105, p. 323-333, 2020.

NYHAN, L. M. *et al.* Advances in kombucha tea fermentation: A review. **Applied Microbiology**, Basel, v. 2, n. 1, p. 73-103, 2022.

OHISHI, T. *et al.* The beneficial effects of principal polyphenols from green tea, coffee, wine, and curry on obesity. **Molecules**, Basel, v. 26, n. 2, p. 453, 2021.

PHJIMULYANI, S. D.; RAHARJO, Y.; MARSONO, U.; SANTOSO. The effect of blanching on antioxidant activity and glycosides of white saffron (*Curcuma mangga* Val.), **International Food Research Journal**, Glendale, v. 19, p. 617–621, 2012.

RIBEIRO, L. O. *et al.* Bioactive compounds and shelf life of clarified umbu juice. **International Food Research Journal**, Malaysia, v. 25, n. 2, 2018.

RIBEIRO, L. O. *et al.* Nutrients and bioactive compounds of pulp, peel and seed from umbu fruit. **Ciência Rural**, São Paulo, v. 49, p. e20180806, 2019.

RODAK, K.; KOKOT, I.; KRATZ, E. M. Caffeine as a factor influencing the functioning of the human body—friend or foe? **Nutrients**, Basel, v. 13, n. 9, p. 3088, 2021.

SANG, Y. *et al.* Influence of Temperature during Freeze-Drying Process on the Viability of *Bifidobacterium longum* BB68S. **Microorganisms**, Basel, v. 11, n. 1, p. 181, 2023.

SANTOS, C. A. F. *et al.* The potential of “umbuzeiro” genotypes for the development of preserves. **Ciência Rural**, São Paulo, v. 51, p. e20191008, 2021.

SANTOS, L. J. S. *et al.* Leaf contents and biochemical cycling of nutrients in accessions of umbu and umbu-caja. **Revista Caatinga**, São Paulo, v. 33, p. 690-701, 2020.

SARKAR, T. *et al.* Minor tropical fruits as a potential source of bioactive and functional foods. **Critical Reviews in: Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 63, n. 23, p. 6491-6535, 2023.

SHANG, *et al.* Molecular mechanisms underlying health benefits of tea compounds. **Free Radical Biology and Medicine**, [s. l.], v. 172, p. 181-200, 2021.

SILVA, L. C. *et al.* Influence of Fermentation Conditions by *Rhizopus Oryzae* on the Release of Phenolic Compounds, Composition, and Properties of Brewer's Spent Grain. **Composition, and Properties of Brewer's Spent Grain**, [s. l.], v. 61, p. 104591, 2024.

SILVA, N. L. **Desenvolvimento, avaliação física, físico-química e sensorial de licor de umbu (*Spondias tuberosa* Arruda)**, TCC - Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2022. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/xmlui/handle/riufcg/24506>. Acesso em: 03 de out. de 2024.

SINGH, A. K. *et al.* Development of “Smart Foods” for health by nanoencapsulation: Novel technologies and challenges. **Food Chemistry: X**, [s. l.], v. 20, p. 100910, 2023.

SITONG G. E. *et al.* Research progress on improving the freeze-drying resistance of probiotics: a review. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 147, p. 104425, 2024.

TCHESSALOV, S. *et al.* Practical Advice on Scientific Design of Freeze-Drying Process: 2023 Update. **Pharmaceutical Research**, [s. l.], v. 40, n. 10, p. 2433-2455, 2023.

TIAN, Y. *et al.* Effect of freeze-dried protectants on the survival rate and fermentation performance of fermented milk's directed vat set starters. **Cryobiology**, [s. l.], v. 114, p. 104811, 2024.

TRAN, T. *et al.* Microbiological and technological parameters impacting the chemical composition and sensory quality of kombucha. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 19, n. 4, p. 2050-2070, 2020.

BARCELOS, D. A. S. A. Kombucha deve movimentar mais de US\$ 5 bi até 2025. *In*: VEGAZETA. [S. l.: s. n.], 2020. Disponível em: <https://vegazeta.com.br/kombucha-deve-movimentar-mais-de-us-5-bi-ate-2025/amp/>. Acesso em: 24 maio 2024.

VIGNESH, A. *et al.* Unraveling the role of medicinal plants and Gut microbiota in colon cancer: Towards microbiota-based strategies for prevention and treatment. **Health Sciences Review**, [S. l.], v. 9, p. 100115, 2023.

VIGNESH, A. *et al.* A Review on the Influence of Nutraceuticals and Functional Foods on Health. **Food Chemistry Advances**, [S. l.], v. 5, p. 100749, 2024.

VILLARREAL-SOTO, S. A. *et al.* Understanding kombucha tea fermentation: a review. **Journal of food science**, Chicago, v. 83, n. 3, p. 580-588, 2018.

VITAS, J. S. *et al.* Chemical composition and biological activity of novel types of kombucha beverages with yarrow. **Journal of functional foods**, [S. l.], v. 44, p. 95-102, 2018.

WARD, K. R.; MATEJTSCHUK, P. The principles of freeze-drying and application of analytical technologies. **Cryopreservation and freeze-drying protocols**, [S. l.], v. 2180, p. 99-127, 2020.

WATAWANA, M. I., *et al.* Evaluation of the effect of different sweetening agents on the polyphenol contents and antioxidant and starch hydrolase inhibitory properties of Kombucha. **Journal of Food Processing and Preservation**, Chicago, v. 41, n. 1, 2017.

WELKE, J. E. *et al.* Role of gas chromatography and olfactometry to understand the wine aroma: Achievements denoted by multidimensional analysis. **Journal of separation science**, Chicago, v. 44, n. 1, p. 135-168, 2021.