



PPGCTA
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

VINICIUS COSTA BARROS

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA FERMENTADA ANÁLOGA A KOMBUCHA, À
BASE DE INFLORESCÊNCIAS DE JAMBU (*Acmella oleracea*), E
MONITORAMENTO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

BELÉM – PA, BRASIL

2023

VINICIUS COSTA BARROS

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA FERMENTADA ANÁLOGA A KOMBUCHA À
BASE DE INFLORESCÊNCIAS DE JAMBU (*Acmella oleracea*), E
MONITORAMENTO DE COMPOSTOS BIOATIVOS**

**DEVELOPMENT OF A FERMENTED BEVERAGE ANALOGUE KOMBUCHA
BASED ON JAMBU (*Acmella oleracea*) INFLORESCENCES, AND BIOACTIVE
COMPOUNDS MONITORING**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) da Universidade Federal do Pará (UFPA) como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Dissertation presented to the Graduate Program of Food Science and Technology (PPGCTA) of the Federal University of Pará (UFPA) in partial fulfilment of the requirements for the degree of Master in Food Science and Technology.

Orientador: RENAN CAMPOS CHISTÉ

Coorientadora: VANESSA ALBRES BOTELHO

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA.

BELÉM – PA, BRASIL

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B277d Barros, Vinicius Costa.
DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA FERMENTADA
ANÁLOGA A KOMBUCHA, À BASE DE INFLORESCÊNCIAS
DE JAMBU (*Acmella oleracea*), E MONITORAMENTO DE
COMPOSTOS BIOATIVOS / Vinicius Costa Barros. — 2023.
145 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Renan Campos Chisté
Coorientação: Profª. Dra. Vanessa Albres Botelho
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,
Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, Belém, 2023.

1. Kombucha. 2. Jambu (*Acmella oleracea*). 3. Compostos
Bioativos. I. Título.

CDD 664

Data da Defesa: 19/12/2023.

COMISSÃO EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **Renan Campos Chiste**
Data: 18/03/2024 18:44:14-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Renan Campos Chisté
Universidade Federal do Pará (PPGCTA/ITEC)
Orientador – Presidente da comissão

Documento assinado digitalmente
 **VANESSA ALBRES BOTELHO**
Data: 19/03/2024 01:56:04-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Vanessa Albres Botelho
Coorientadora

Documento assinado digitalmente
 **NELSON ROSA FERREIRA**
Data: 19/03/2024 15:56:32-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Nelson Rosa Ferreira
Universidade Federal do Pará (PPGCTA/ITEC) - Membro interno

Documento assinado digitalmente
 **ANA LUCIA FERNANDES PEREIRA**
Data: 18/03/2024 20:36:44-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Ana Lúcia Fernandes Pereira
Universidade Federal do Maranhão (PPGST/CCIM) - Membro externo

A ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros também encontra-se registrada no SIGAA e disponível na Secretaria do PPGCTA-UFPA.

Ao meu grande amor que permaneceu
comigo, a minha vizinha que antes de
partir me chamava de doutor.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por dar a sua graça, benevolência e misericórdia

Agradeço a minha mãe Sanderli, que continuou fazendo de tudo possível para que pudesse ter acesso à educação e pesquisa, que trabalhou para que fosse uma boa pessoa e um bom cidadão, que sei que do seu jeito, me ama, e que onde esteja, sente minha falta e que hoje olha para mim e diz que sou o seu orgulho. Ao meu pai, que sempre me mostrou o valor das coisas simples e ingênuas, que sempre de um jeito humilde cuidou e cuida de mim, me entendeu quando ninguém mais me entendeu em um ponto da minha vida, sou eternamente grato pelo sustento e pelo apoio dado a mim.

Ao meu amor, Jhonatan, como diria Chico Buarque “mas fica meu amor, quem sabe um dia, por descuido ou poesia, você goste de ficar”, você ficou, e me levou a lugares que não imagino ninguém me levar, te quero para a vida toda, onde estamos e onde podemos chegar só me leva a acreditar que fiz certo em lutar por você, por nós, ich liebe dich mehr.

Ao meu irmão e minha cunhada, Deus foi generoso em ter colocado vocês na minha vida do jeitinho que estamos, espero poder vê-los crescendo ainda mais de todas as formas. A Carolina Mandaji, o que vivemos e passamos foi com certeza, de longe, tão valioso que as recordações com certeza fazem a gente ir do choro ao riso em segundos, obrigado pelo apoio, por ter deixado eu entrar na sua vida e por ser suporte, você sempre vai ter um lugarzinho especial no meu coração por tudo que enfrentamos juntos.

Agradeço aos meus nobres amigos que a UFPA me deu, Clara, Bruno, Rayane, Junior, Tayane e Anna Paula cujos momentos ao longo dessa jornada estão gravados de forma eterna em minha memória e que me ajudaram sem tamanho para que tudo até aqui desse certo.

Ao meu orientador Renan Chisté que acreditou nesse projeto, disponibilizando tempo e um conhecimento grandioso, além de compreensão e cuidados que são de valia sem retribuições, uma vez falei que ele era um espelho para mim, bem, continua sendo e provavelmente vai continuar a ser, eu o desejo somente o melhor em sua vida e que sempre que eu buscar por um modelo de ser humano, jamais esquecerei de você, obrigado.

À minha coorientadora Vanessa Botelho e à banca, Professora Ana Lúcia e Professor Nelson, pelo tempo e disposição. A todos, meu muito OBRIGADO!

Agradecimentos às agências de fomento à pesquisa
(Acknowledgement to the research funding agencies)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. *(This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brazil (CAPES) - Finance Code 001).*

“Talvez sejamos apenas bactérias em um enorme corpo chamado Universo”

- Maurílio Martins Miranda

BIOGRAFIA DOS AUTORES



Vinicius Costa Barros (Autor da tese)

Possui graduação em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal do Maranhão (2021). Atualmente é operador de produção e estudante pesquisador (mestrando) da Universidade Federal do Pará. Tem experiência na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos, atuando principalmente nos seguintes temas: fermentações, enzimologia e alimentos funcionais. Membro do Laboratório de Bioprocessos (UFMA) e Laboratório Amazônia de Compostos Bioativos (LAMPBIO).

IDLATTES: <http://lattes.cnpq.br/9069898685173531>



Orientador: Dr. Renan Campos Chisté

Prof. Dr. Renan Campos Chisté é Professor Adjunto da Universidade Federal do Pará (FEA/ITEC). Obteve seu título de Doutor em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP (2011). Desenvolve pesquisas relacionadas ao estudo de processos de extração, via Química Verde, aplicação de compostos bioativos com propriedades antioxidantes e de cor em formulações alimentícias, além de métodos de identificação e quantificação de compostos bioativos.

IDLATTES: <http://lattes.cnpq.br/3452623210043423>



Coorientadora: Dra Vanessa Albres Botelho

Dra Vanessa Albres Botelho possui Graduação (2001), Mestrado (2003) e Doutorado (2010) em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). De 2010 a 2022, foi Professora do Magistério Superior na Universidade Federal do Pará (UFPA), atuando na direção da Faculdade de Engenharia de Alimentos, na coordenação do Laboratório de Bioprocessos, e atuando em atividades de extensão.

IDLATTES: <http://lattes.cnpq.br/0992385832433182>

RESUMO

A kombucha é um produto fermentado que está em crescente expansão em relação ao seu consumo e no avanço de suas pesquisas devido as alegações de seus benefícios correlacionados a saúde, provenientes de seus compostos gerados na fermentação. Sendo assim, a seguinte pesquisa visou corroborar com esses avanços ao elaborar um análogo ao fermentado utilizando o jambu (*Acmella oleracea*) como substrato. Foram desenvolvidas três formulações da bebida fermentada, em que na primeira etapa, foram monitorados durante 7 dias os valores de pH, acidez total, sólidos solúveis totais, açúcares totais e redutores, capacidade antioxidante, além dos compostos fenólicos e flavonoides. Após o produto pronto, foi monitorados os mesmos parâmetros da primeira fermentação, adicionados de acidez volátil, fixa, densidade, perfil de compostos fenólicos, análises microbiológicas e sensoriais. Os produtos elaborados apresentaram o padrão regulamentado para kombuchas, de acordo com a IN 41 do MAPA, e os produtos foram microbiologicamente seguros, sendo a formulação contendo 75% de jambu a de maior preferência sensorial e potencial de compra. De maneira geral, durante a primeira etapa da fermentação, a formulação contendo 50% de jambu apresentou os melhores resultados para compostos fenólicos, flavonoides e capacidade antioxidante, sendo necessário novos estudos mais aprofundados sobre a estabilidade desses compostos para serem disponíveis nos produtos prontos.

Palavras-Chaves: Kombucha, Jambu , Compostos Bioativos.

ABSTRACT

Kombucha is a fermented product that is increasingly expanding in relation to its consumption and the advancement of its research due to claims of its correlated health benefits, arising from its compounds generated in fermentation. Therefore, the following research aimed to corroborate these advances by developing an analogue to the fermented one using jambu (*Acmella oleracea*) as substrate, three formulations of the drink were developed in which in the first stage the pH values, total acidity were monitored for 7 days, total soluble solids, total and reducing sugars, antioxidant capacity, in addition to total phenolic compounds and flavonoids. After the product was ready, the same parameters, as in the first fermentation, were observed with the addition of volatile and fixed acidity, density, profile of phenolic compounds, microbiological and sensory analyses. The final products agreed with the regulated standard for kombuchas (IN 41 – MAPA, Brazil), being microbiologically safe, and the formulation with 75% of jambu addition was the one with the highest sensorial preference as well as purchasing potential. In general, during the first fermentation, the formulation with 50% of jambu addition showed the best performance for phenolic compounds, flavonoids, and antioxidant capacity, requiring new future stability studies of these compounds to be available in ready-made products.

Keywords: Kombucha, Jambu, Bioactive Compounds.

SUMÁRIO

1. CONTEXTO E JUSTIFICAVA.....	14
2. OBJETIVOS	19
CAPÍTULO 1.....	20
1. REVISÃO DE LITERATURA	21
1.1. Características gerais da Kombucha	21
1.2. SCOBY (<i>Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast</i>)	22
1.3. Tecnologia da produção da kombuchas	24
1.4. Efeitos benéficos à saúde associados ao consumo da kombucha.....	26
1.4.1. Compostos bioativos presentes na kombucha	26
1.4.2. Efeitos biológicos associados ao consumo de kombucha	28
1.5. Substratos alternativos para a produção de kombuchas	30
1.5.1. Potencial da Amazônia como fonte de substratos alternativos	30
1.5.2. Jambu: características gerais, compostos bioativos e potencial de aplicação no desenvolvimento de novos produtos alimentícios.....	32
CAPÍTULO 2.....	48
Alternative substrates and applied technologies to the development of kombucha-type beverages: an Integrative Review	49
1. Introduction.....	49
2. Kombucha Popularization and Commercialization.....	53
3. Strategies Adopted for Gathering Information in the Available Literature	54
4. Results and Discussion.....	55
5. Conclusion.....	70
References.....	71
CAPÍTULO 3.....	76
Desenvolvimento de bebida fermentada análoga a kombucha à base de inflorescências de jambu (<i>Acmella oleracea</i>), e monitoramento de compostos bioativos.....	77
RESUMO	77
1. INTRODUÇÃO	78
2. MATERIAL E MÉTODOS	79
2.1. Coleta do material	79
2.2. Produção das diferentes formulações de kombucha e bebida análoga à kombucha	79
2.3. Determinação das características físico-químicas das infusões e das bebidas fermentadas.....	81
2.3.1. pH.....	81

2.3.2. Acidez total titulável	82
2.3.3. Sólidos solúveis totais	82
2.3.4. Densidade	82
2.3.5 Determinação da Acidez Volátil	82
2.3.6 Determinação da Acidez Fixa	82
2.3.7. Determinação de açúcares totais, redutores e não redutores	83
2.4 Determinação dos compostos bioativos das infusões durante a fermentação	83
2.4.1 Compostos fenólicos totais.....	83
2.4.2 Flavonoides Totais	83
2.4.3 Determinação do perfil de compostos fenólicos das bebidas fermentadas	83
2.5 Determinação da capacidade antioxidante	84
2.5.1. Desativação do radical ABTS (ABTS ^{•+})	84
2.5.2 Desativação do radical DPPH (DPPH [•]).....	84
2.6 Análises microbiológicas	85
2.7 Análises sensoriais	85
2.7.1 Focus Group	85
2.7.2 Análise Sensorial com testes hedônicos, idealidade e intenção de compra.....	85
2.8. Análise estatística	86
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
3.1. Monitoramento do processo de fermentação das infusões	87
3.1.1. pH, acidez total, sólidos solúveis e teor de açúcares	87
3.1.2 Monitoramento dos compostos bioativos.....	99
3.1.3 Monitoramento da Capacidade Antioxidante.....	103
3.1.4. Aspectos gerais da bebida finalizada após a segunda fermentação (Focus Group)	106
3.2. Características físico-químicos das formulações desenvolvidas	107
3.3. Determinação de compostos bioativos das formulações desenvolvidas	111
3.4. Capacidade antioxidante das bebidas desenvolvidas	114
3.5. Aspectos Microbiológicos.....	115
3.6. Avaliação Sensorial das bebidas	116
3.7. Monitoramento qualitativo (ilustrativo) do perfil de compostos fenólicos	121
CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	133
ANEXOS.....	134

1. CONTEXTO E JUSTIFICAVA

A kombucha é uma bebida fermentada de origem asiática, cujas características sensoriais e os efeitos benéficos associados à saúde vem sendo alvo crescente de investigações ao longo dos anos. A procura por essa bebida fermentada por consumidores desde o começo de sua popularização nos anos 90 nos Estados Unidos estimulou o aumento do número de pesquisas sobre a sua caracterização e os seus benefícios atingindo estudos *in vitro* e ensaios *in vivo* (Zubaidah et al., 2018).

Esta bebida é elaborada através de processo fermentativo realizado por um consórcio simbiótico de bactérias e leveduras, utilizando tradicionalmente a infusão de *Camellia sinensis* adicionada de açúcar. Países como os Estados Unidos e o Brasil tiveram a introdução da kombucha por países europeus, como Portugal e Holanda, que trouxeram a prática de seu país de origem (China) (Barros & Freitas, 2020).

O consórcio contendo a população microbiana em um mosaico gelatinoso denominado SCOBY (*Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast*), é composto por bactérias acéticas, bactérias lácticas e leveduras, e é capaz de metabolizar os açúcares contidos nas infusões. Os compostos formados durante a fermentação desempenham propriedades biológicas relevantes, como por exemplo, as atividades inibitórias de microrganismos patogênicos, antioxidantes e hipolipidêmica (Chakravorty et al., 2016; Dufresne; Farnworth, 2000; Mo, Zhu & Chen, 2008; Yang et al., 2009).

Tradicionalmente, para a elaboração da kombucha devem ser utilizados três componentes principais: infusão de chá verde ou preto, sacarose e SCOBY. Contudo, com o aumento do consumo e a popularização do produto, surgiu a necessidade de variações na formulação da bebida, como por exemplo, a saborização das infusões tradicionais, que se adaptaram à aceitação dos consumidores de diferentes regiões, climas, levando em consideração a sazonalidade e a oferta de matérias-primas (Jayabalan et al., 2014).

A inclusão de novos substratos estudados é de alta relevância para a bioeconomia local pois o aumento contínuo da disponibilidade e variedade de produtos com características nacionais e acessíveis retornam uma movimentação efetiva no mercado. Assim, deixa estável a oferta de produtos com uma gama de compostos bioativos para serem incorporados na dieta dos consumidores, promovendo a promoção da saúde (Vitas et al., 2013). Um dos exemplos é a bebida de soja como substrato para a produção de kombucha, em que o aumento na disponibilização de compostos bioativos em relação as kombuchas tradicionais amplia os

potenciais efeitos benéficos à saúde, como a ação anti-inflamatória e a reduções dos níveis de colesterol (Abuduaibifu & Tamer, 2019; Xia et al., 2019).

No Brasil, a Amazônia, um dos biomas mais ricos em biodiversidade no planeta, oferece inúmeras possibilidades de vegetais a serem explorados para a obtenção de substrato para a elaboração de um produto fermentado análogo à kombucha. Dentre as possibilidades, podemos destacar o jambu (*Acmella oleracea*). O uso regional do jambu é bem cultural e popular na região Norte do Brasil e está relacionada aos apelos gastronômicos e potencialmente aos medicinais populares (Moreno et. al, 2012).

Resultados positivos corroboram na elaboração de novos produtos com avaliação satisfatória dos compostos bioativos de jambu, como o uso do extrato do jambu para o aumento do potencial antioxidante de cervejas com percentual de álcool (da Silva et al, 2023). Alguns outros estudos com jambu englobam o estudo anti-hipertensivo e seu desempenho farmacológico do extrato hidroetanólico (Rodrigues et. al., 2023) e Souza et al. (2019) reportou o desempenho fármaco em relação ao seu potencial anti-inflamatório.

A área de cosméticos também apresentou aumento na incorporação do jambu recentemente, durante os anos de 2015 a 2020 houve a elaboração de 26 patentes, entre os países que se destaca está a China, e entre as aplicações de produtos, podemos citar os clareadores, hidratantes, antienvelhecimento, dentifrício e compilado de fórmulas (Batista, Costa & Mota, 2022).

A caracterização da bebida com sabores das ervas do cerrado, tropicais e da Amazônia como o jambu podem agregar valor a este produto e torná-lo atrativo aos consumidores. De acordo com as prévias buscas em bases de dados pesquisas, até o presente momento não foram reportados estudos sobre o desenvolvimento de uma bebida fermentada análoga à kombucha desenvolvida com a infusão de flores de jambu. Destacamos aqui a importância da utilização do jambu em substituição ou, em mistura com a *Camellia sinensis*, em kombucha devido à formação de novos compostos e aplicações bioativas e potencial biotecnológico.

Portanto, neste trabalho, diferentes formulações de uma bebida fermentada análoga à kombucha foram desenvolvidas utilizando infusões de flores de jambu como fonte de compostos bioativos com potencial funcional como os composto fenólicos, que foram monitorados durante todo o processo de produção da bebida. Além disso, as formulações desenvolvidas foram submetidas à testes afetivos de aceitação sensorial, e uma patente de invenção foi depositada com a reivindicação do processo de produção e produto bebida fermentada à base de inflorescências desidratadas de jambu (BR 10 2023 016051 4 – Instituto Nacional da Propriedade Intelectual - INPI).

Referências

- Abuduaibifu, A., & Tamer, C. E. (2019). Evaluation of physicochemical and bioaccessibility properties of goji berry kombucha. **Journal of Food Processing and Preservation**, 43(9), e14077.
- Barros, V. C., Freitas, A. C. **Biología alimentaria: Desarrollo de nuevos productos**. 1. ed. Beau Bassin: Editorial Académica Española. v. 1. 84p ., 2021
- Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International journal of food microbiology*, 220, 63-72, 2016.
- Dufresne C., Farnwoth E. *Tea, Kombucha, and health: a review*. **Food Research International**, 33(6): 409-21, 2000
- Jayabalan R., Malbasa R.V., Loncar E.S., Vitas J.S., Sathiskumar M. (2014). *A Review on Kombucha Tea – Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus*. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 13(4): 538-50.
- Mo, H., Zhu, Y., & Chen, Z. Microbial fermented tea—a potential source of natural food preservatives. *Trends in food science & technology*, 19(3), 124-130, 2008.
- Moreno, S. C., Carvalho, G. A., Picanço, M. C., Morais, E. G., & Pereira, R. M. (2012). Bioactivity of compounds from *Acmella oleracea* against *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae) and selectivity to two non-target species. *Pest Management Science*, 68(3), 386-393.

Rodrigues, E. T., Peretti, P., Bezerra, R. M., Biancardi, M. F., Sousa, F. F., Mendes, E. P., ... & Pinheiro, M. T. (2023). Pharmacological Characteristics of the Hydroethanolic Extract of *Acmella oleracea* (L) RK Jansen Flowers: ADME/Tox In Silico and In Vivo Antihypertensive and Chronic Toxicity Evaluation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2023.

Da Silva, Suelem Paixão Fernandes, José Augusto Lacerda ; Santos, Alberdan Silva; Ferreira, Nelson Rosa . Jambu Flower Extract (*Acmella oleracea*) Increases the Antioxidant Potential of Beer with a Reduced Alcohol Content. *PLANTS*, v. 12, p. 1581, 2023.

DE SOUZA BATISTA, Daniel et al. Prospecção de Patentes de Cosméticos com a Presença de *S. Acmella* e Similares dos anos 2015-2020. **Cadernos de Prospecção**, v. 16, n. 3, p. 813-830, 2023.

Souza, G.; Dias Ribeiro da Silva, I.; Duarte Viana, M.; Costa de Melo, N.; Sánchez-Ortiz, B.; Maia Rebelo de Oliveira, M.; Ramos Barbosa, W.; Maciel Ferreira, I.; Tavares Carvalho, J. Acute Toxicity of the Hydroethanolic Extract of the Flowers of *Acmella Oleracea* L. in Zebrafish (*Danio Rerio*): Behavioral and Histopathological Studies. *Pharmaceuticals* 2019, 12, 173, doi:10.3390/ph12040173.

Vitas, J. S., Malbaša, R. V., Grahovac, J. A., & Lončar, E. S. (2013). The antioxidant activity of kombucha fermented milk products with stinging nettle and winter savory. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 19(1), 129-139.

Xia, X., Dai, Y., Wu, H., Liu, X., Wang, Y., Yin, L., ... & Zhou, J. (2019). Kombucha fermentation enhances the health-promoting properties of soymilk beverage. *Journal of Functional Foods*, 62, 103549.

Yang, Z. W., Ji, B. P., Zhou, F., Li, B., Luo, Y., Yang, L., & Li, T. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of kombucha tea in high-cholesterol fed mice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(1), 150-156, 2009.

Zubaidah, E., Dewantari, F. J., Novitasari, F. R., Srianta, I., & Blanc, P. J. (2018). Potential of snake fruit (*Salacca zalacca* (Gaerth.) Voss) for the development of a beverage through fermentation with the Kombucha consortium. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *13*, 198-203.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Desenvolver kombuchas e bebidas fermentadas análogas à kombucha (substituição total da *Camellia sinensis*) utilizando as inflorescências de jambu (*Acmella oleracea*) como substrato alternativo para a incorporação de compostos bioativos na bebida.

2.2. Objetivos específicos

Os seguintes objetivos específicos foram definidos para atingir o objetivo geral da tese:

- Elaborar bebidas fermentadas com diferentes concentrações de inflorescências de jambu que atendam características de padrão de identidade e qualidade (PIQ) estabelecidos para a Kombucha;
- Monitorar as características físico-químicas de todas as formulações elaboradas durante a primeira fermentação, e das bebidas prontas para o consumo;
- Monitorar os compostos bioativos de todas as formulações produzidas no estudo durante a primeira fermentação e das bebidas prontas para o consumo;
- Determinar a capacidade antioxidante de todas as formulações produzidas durante a primeira fermentação, e das bebidas prontas para o consumo;
- Determinar o tempo e as condições dos processos de fermentação mais adequados para a produção de uma nova bebida fermentada;
- Monitorar as características microbiológicas e sensoriais de todas as formulações desenvolvidas prontas para o consumo contendo inflorescências de jambu, sendo o comparativo objeto de estudos futuros.

CAPÍTULO 1

REVISÃO DE LITERATURA

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Características gerais da Kombucha

A kombucha é um produto com características marcantes e singulares que consiste em um produto descrito popularmente como pungente, cítrico, espumante e refrescante. Tais características são adquiridas após a fermentação de uma infusão açucarada por um consórcio de leveduras e bactérias, resultando em uma bebida carbonatada e com sabor ácido, muitas vezes descrito como “avinagrado” (Schroeder, 2019).

A Instrução Normativa (IN) Nº 41 (Brasil, 2019) regulamenta um Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) para Kombuchas. O produto é descrito como uma infusão açucarada ou extrato de *Camellia sinensis* sendo adicionada de outra erva, ou não, produzida pela respiração aeróbica e fermentação anaeróbica de uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras, sendo esses ingredientes obrigatórios no processamento. Demais ingredientes são opcionais.

A regulamentação da bebida de forma mundial começou em 2013, por um Guia de Procedimentos e Análise de Riscos com Boas Práticas de Fabricação de kombuchas, que em seu corpo expressa que é terminantemente proibido a presença de contaminantes microbiológicos, presença de resíduos, contaminantes orgânicos e inorgânicos, componentes nocivos ou não permitidos pelos órgãos de fiscalização de alimentos, além de ácidos voláteis sintéticos e exógenos não inerentes ao processo fermentativo (Silva et. al., 2021).

Ainda segundo a IN Nº 41, o pH das kombuchas deve estar no intervalo de 2,5 a 4,2. Para serem consideradas kombuchas alcólicas, o percentual de etanol deve estar na faixa entre 0,6% e 8% (v/v), e para serem consideradas não-alcólicas, esse percentual deve estar abaixo de 0,5% (v/v), sendo que o percentual de etanol pode ser alterado de acordo com o tempo de fermentação para cada kombucha. A acidez volátil deve estar na faixa entre 30 e 130 mEquivalente de NaOH/L, e por fim, por se tratar de uma bebida carbonatada, a pressão da bebida envasada deve estar na faixa entre 1,1 e 3,9 atm (Brasil, 2019).

A bebida fermentada pronta para o consumo apresenta um aspecto límpido, e coloração brilhante, devido a alteração nos compostos de cor, como alguns compostos fenólicos e outros pigmentos. As bebidas prontas ainda apresentam um corpo de fundo

proveniente do SCOBY ou da própria fermentação anaeróbia que ainda acontece, o que pode causar algum estranhamento no consumidor e o que leva as embalagens a pedirem para não realizarem a agitação do produto (Barros & Freitas, 2021).

Durante a etapa de fermentação da kombucha, os aspectos sensoriais da infusão inoculada alteram-se devido ao consumo dos sólidos solúveis presentes no processo e na geração de seus metabólitos. Dependendo dos ingredientes opcionais, ou dos novos substratos em fermentados tipos kombucha, os consumidores podem associar às características sensoriais não tão afetivas como “algo podre”, “estragado” e “velho”. O sabor da kombucha pode variar entre uma bebida mais doce e uma mais ácida, sendo os fermentados mais doces os que frequentemente possuem maior aceitação sensorial (Barros & Freitas, 2021).

Recentemente, os avanços com kombuchas podem ser demonstrados através da inclusão das saborizações das infusões tradicionais, da difusão, da industrialização do produto, além da sua regulamentação. O número de elaborações de kombuchas que englobam em sua formulação substratos alternativos visando a substituição da *Camellia sinensis* aumentaram, como por exemplo, a erva-mate, a erva-cidreira, bioresíduo de acerola, seda de milho, bagas de goji, mostarda africana, entre outros (Mendonça, 2020; Miranda et al., 2022). Tais avanços na esfera de desenvolvimento de novas kombucha estimularam pesquisas que avaliaram tanto o potencial antimicrobiano da bebida fermentada em relação a patogênicos, quanto o potencial antioxidante e a aceitabilidade sensorial (Kim; Adhikari, 2020).

1.2. SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*)

Os microrganismos que fazem parte da cultura simbiótica do produto estão presentes em todas as partes do sistema fermentativo. Parte dos microrganismos utilizados na fermentação da kombucha não está fixa no biofilme, uma carga do consórcio microbiano vem do líquido *starter* ou “chá de arranque”, e outra parte está no biofilme.

O SCOBY, uma massa celulósica tridimensional gelatinosa (zoogleico), é caracterizado como um complexo de populações microbianas e alguns dos microrganismos encontrados comumente são do gênero *Gluconobacter*, *Acetobacter*, *Zygosaccharomices*, *Saccharomyces* e *Schizosaccharmyces* (Laavanya, Shirkole, & Balasubramanian, 2021).

Outros microrganismos como os *Lactobacillus* e *Lactococcus* também estão presentes no biofilme e esses microrganismos presentes dependem de vários fatores como a fonte, o substrato fornecido para a fermentação, os metabólitos produzidos durante a fermentação e o clima e a geografia do cultivo (Laavanya, Shirkole, & Balasubramanian, 2021).

Os microrganismos dominantes presentes no SCOBY, e na infusão inoculada, quase permanecem os mesmos. Algumas mudanças na comunidade de leveduras são observadas de acordo com o progresso dos dias de fermentação, porém a população de bactérias não se altera (Chakravorty et al., 2016).

A cepa de *Acetobacter xylinum* que está presente principalmente no biofilme contribui para a formação de celulose, sendo um metabólito secundário do processo. Além disso, atua na fixação de nitrogênio (De Roos & De Vuyst, 2018).

Já as cepas de leveduras hidrolisam a sacarose e as convertem em monossacarídeos, como a glicose e a frutose, além disso, esses monossacarídeos são utilizados pelas bactérias na síntese do biofilme, além de também serem utilizados na produção de etanol. O uso dos SCOBYS são facultativos, porém o uso do *starter* e do SCOBY em conjunto é importante para evitar um desequilíbrio da colônia a longo prazo (Jayabalan et al., 2014).

O SCOBY possui algumas propriedades como a estrutura básica, o processo de sua formação e o objetivo de seu crescimento externo análogos ao funcionamento de uma única cepa bacteriana. Contudo, os gêneros bacterianos são os únicos responsáveis pela produção de celulose para o biofilme (Villarreal-Soto et al., 2018).

O biofilme produzido pelas bactérias ajuda a fixar e proteger as células de condições bastante desfavoráveis, como a radiação ultravioleta ou alta pressão hidrostática ou quaisquer outros fatores extrínsecos. Também ajuda na exposição constante das bactérias a um ambiente aeróbico que é imprescindível na etapa de fermentação (Ross et al., 1991).

A celulose produzida pela bactéria é composta por microfibrilas 100 vezes menores se comparadas à celulose vegetal, sendo utilizado como seu substituto sempre que possível. Estruturalmente, a celulose bacteriana é mais fina e não ramificada quando comparada à celulose vegetal, e isso contribuiu para várias propriedades, como elevada área de superfície, aumento da capacidade de absorção de água e melhor resistência mecânica no estado úmido (Chawla et. al,2009; Gayathry & Gopalaswamy, 2014).

Outras propriedades comuns a toda celulose proveniente de uma cepa bacterina como a alta cristalinidade, a biocompatibilidade, a não toxicidade, e a alta porosidade as tornam um material adequado para aplicações tecnológicas em bioplásticos, bioenergia, fortificação de alimentos e embalagens (Chawla et al., 2009).

Na kombucha, as células viáveis de leveduras e bactérias, quando inoculadas, geralmente podem aumentar o número de suas populações em até 14 dias de fermentação, e após esse tempo de fermentação, o número de células tende a decair, e mesmo com esse decréscimo a kombucha apresentará uma elevada carga microbiana. De acordo com a literatura, as bactérias acéticas desenvolvem-se na parte superior do SCOBY, que é a zona mais exposta ao oxigênio, enquanto as leveduras desenvolvem-se no fundo (Chen & Liu, 2000).

Os biofilmes possuem forma de cultivo manipuladas de acordo com o uso, suas dimensões e espessura, e assumem a forma do recipiente ou biorreator em que se encontram e o tempo de cultivo, respectivamente. (Chan et al., 2018).

O SCOBY originalmente de coloração branca, e ao decorrer das fermentações o disco é percebido em diferentes tons de marrom, dependendo da concentração de sacarose, da infusão e do tempo de fermentação. Esses tons devem-se à reação de Maillard que ocorre durante o ciclo fermentativo entre monossacarídeos redutores e os grupos aminoácidos presentes no meio, sendo a cor característica obtida pela celulose formada (Wang et. al, 2011). As melanoidinas são os pigmentos responsáveis pela coloração advinda da reação de Maillard, e não são necessariamente compostos indesejados, já que ajudam na intensificação de aromas e possuem propriedades antioxidantes (Andriot et al., 2004; Delgado Andrade & Morales, 2005).

1.3. Tecnologia da produção da kombuchas

A tecnologia do processamento de kombucha tradicional é descrita no fluxograma a seguir (Figura 1):

Figura 1: Fluxograma geral para a produção de kombucha.

Fonte: Morales et al. (2021), adaptado.

Inicialmente, a água aquecida (60-100 °C) recebe a sacarose e a(s) erva(s) escolhida(s). Esse processo de extração a quente é a infusão realizada a fim de obter o substrato pronto para o início da fermentação. Após a obtenção da infusão, o líquido é arrefecido até temperatura ambiente, adicionado de uma cultura *starter*, iniciando assim a inoculação da infusão realizada. Após essa etapa, a inoculação é finalizada com a adição do SCOBY (Kim & Adhikari, 2020; Greewalt, Steikraus & Ledford, 2000).

Os recipientes utilizados para a fermentação das infusões são cobertos de forma que a primeira fermentação ocorra de forma semi-anaeróbia. O tempo da primeira fermentação e a temperatura em que ocorre o processo variam de acordo com a necessidade da cultura simbiótica utilizada e do substrato em questão.

A segunda fermentação é realizada de forma anaeróbia, com os recipientes totalmente fechados, podendo ou não serem adicionados de ingredientes opcionais para a savorização, como por exemplo, polpa de frutas e frutas como o mamão, abacaxi, cupuaçu, açaí, maracujá, entre outros; além de especiarias como a hortelã, canela, noz-moscada, menta, anis-estrelado, pimenta rosa, alecrim e gengibre (Jayabalan et al., 2014; Dufresne & Farnworth, 2000).

As fermentações podem ocorrer em frascos de vidros, dornas, ou em biorreatores. De acordo com Barros & Freitas (2020), em um levantamento geral em tecnologias de fermentação de kombucha, 60,7% dos estudos utilizam infusões produzidas com água acrescida de sacarose entre 90 °C e 100 °C, e 67,8% dos estudos utilizaram a glicose como fonte de carbono. Os mesmos autores citam que as condições

controladas são bastante heterogêneas, sendo as de maiores ocorrências: 14 dias de fermentação (28%), e as temperaturas de 25 °C e 28 °C as mais utilizadas para a condução do processo fermentativo.

A hidrólise da sacarose em glicose e frutose durante a fermentação é uma das transformações mais recorrentes devido ao metabolismo microbiano, e após a quebra da sacarose, tem-se a quebra de glicose e a frutose em etanol e gás carbônico. Adicionalmente, os microrganismos ainda aproveitam o etanol gerado para sua a quebra em acetaldeído; e por fim, as bactérias também realizam a quebra de acetaldeído a ácido acético. Todas essas transformações estão presentes no processo fermentativo, e a existência dessas rotas metabólicas decidem a continuidade ou a inibição microbiana (Saichana et al., 2015).

1.4. Efeitos benéficos à saúde associados ao consumo da kombucha

1.4.1. Compostos bioativos presentes na kombucha

Os efeitos benéficos da kombucha derivam, principalmente, de compostos bioativos presentes na matriz vegetal, a exemplo dos compostos fenólicos, e outros metabólitos produzidos durante a fermentação (Watawana et al., 2015). Durante o processo fermentativo, as condições ácidas do processo em meio aquoso induzem a formação de compostos fenólicos mais simples oriundos da quebra de ligações de estruturas mais complexas (Jayabalan et. al., 2008, Bhattacharya et al., 2016; Gamboa-Gómez et al., 2016).

O monitoramento da cinética de fermentação da kombucha é um processo complexo devido à variedade de microrganismos atuantes e suas interações, resultando na produção de vários compostos, entre os quais se destacam: os ácidos glucônico, glucurônico, láctico, acético, málico, tartárico, cítrico e oxálico. Além disso, há a produção de etanol, diversos aminoácidos, vitaminas hidrossolúveis e enzimas hidrolíticas (Kapp & Sumner, 2019; de Miranda et al., 2022).

O ácido ascórbico (vitamina C) é um dos compostos bioativos frequentemente presentes em kombuchas (Kaewkod, Bovonsombut & Tragoolpua, 2019). Este composto antioxidante normalmente está presente nos substratos utilizados para a produção das bebidas, tais como as folhas de chá verde, chá preto e outros substratos alternativos (Malbaša et al., 2011; Vitas et al., 2018). Como um agente redutor eficaz, o ácido

ascórbico apresenta reconhecida propriedade de desativação de espécies reativas oxidantes, a exemplo dos radicais livres (Vitas et al., 2013).

Em relação ao conteúdo de compostos fenólicos em kombuchas tradicionais, em estudos foram identificados que o conteúdo sofreu alterações, em todo o período de 18 dias de fermentação. Os autores desses estudos observaram um aumento no conteúdo de ácidos orgânicos e a degradação de isômeros de epicatequinas. As catequinas sofreram degradação por completo em até 9 dias de fermentação, e mostraram um aumento a partir do dia 12 devido a biotransformação desses compostos por enzimas liberadas pelos microrganismos que aumentaram a concentração de isômeros de epicatequina (Jayabalan, 2007; de Miranda et al., 2022).

Estudos conectam o efeito de desativação de radicais livres ao conteúdo dos compostos fenólicos. Os flavonoides encontrados nos substratos são os principais compostos que possuem essa propriedade. Em alguns estudos com kombuchas tradicionais, foram identificados 127 compostos fenólicos, sendo deles 70,2% flavonoides, 18,3% ácidos fenólicos, 8,4 % polifenóis, 2,3% lignanas e 0,8% de estilbenos (Cardoso et al., 2020; de Miranda et al., 2022).

As análises de kombuchas tradicionais trouxeram para a literatura 103 compostos fenólicos que nunca haviam sido relatados anteriormente, catequinas como galocatequina 3^o-galato/epigalocatequina 3-O galato, galocatequina isômero 2/epigalocatequina, catequina 3-O-galato, ácido 5-O galoilquínico, quercetina 3-O-ramnosil-ramnosil glucosídeo isômero 2 e quercetina 3-O-glucosil-ramnosil galactosídeo isômero 2 são as principais classes de compostos fenólicos mais abundantes na literatura (Cardoso et al., 2020).

Outros resultados relevantes no aumento de compostos bioativos em comparação ao seu conteúdo inicial em substratos alternativos foram apontados em ervas como acamomila (*Matricaria chamomilla* L.), vinagreira (*Hibiscus Sabdariffa* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus*), hojásén (*Flourensia cernua*) e erva-mate (*Ilex paraguariensis*), que ajudam a diversificar a variedade desses substratos mesmo não havendo um que apresentasse conteúdo maior em compostos bioativos e potencial antioxidante comparado à *Camellia sinensis*. Além disso, diversos trabalhos apontam atividade antimicrobiana em relação a patógenos, como as kombuchas elaboradas a partir de malvaviscus como substrato (Silva et al., 2021; Morales et al. 2021).

1.4.2. Efeitos biológicos associados ao consumo de kombucha

Os estudos da literatura focados nos potenciais efeitos benéficos à saúde associados ao consumo de kombucha são cada vez mais frequentes, e são estimulados devido à associação com os aspectos relacionados com a prevenção do desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas (Dufresne & Farnwort, 2000; Dutta & Paul, 2019). Em recente pesquisa, a kombucha foi responsável por reduzir os valores de hemoglobinas glicadas, aumentar a insulina do plasma e os níveis de tecido com glicogênio em ratos diabéticos. A bebida também regulou as atividades enzimáticas inerentes às rotas de regulação da glicose (Srihari, Karthikesan et al., 2013).

Estudos com kombucha atuando como antiproliferativo de células tumorais em células humanas *in vitro* também já foram realizadas (Četojević-Simin et al., 2012). Ainda foi associado como benefício ao consumir kombucha, a melhora da função hepática (Wang et al., 2013), do sistema imunológico, das funções gastrointestinais (Kozyrovska et al., 2012; Watawana, et al., 2015) e das propriedades anti-inflamatórias (Vázquez-Cabral et al., 2017), além de ajudar na redução dos níveis de colesterol e da pressão arterial (Jayabalan et al., 2016)

Um dos principais potenciais benefícios associados ao consumo da kombucha pode ser descrito como a atividade antimicrobiana, que é atribuída ao pH ácido da bebida, devido a presença de ácidos orgânicos, como o ácido acético. Além disso, está relacionada também aos compostos fenólicos como as catequinas, que inibem o crescimento de uma série de microrganismos, a exemplo da *Helicobacter pylori*, causador de úlceras pépticas, e *Escherichia coli*, causadora de diarreia (Watawana et al., 2015).

Um dos ácidos orgânicos produzidos pelo consórcio de microrganismos é o ácido glucurônico. Seus benefícios a saúde estão relacionados ao auxílio na eliminação de impurezas e toxinas prejudiciais à saúde, como os compostos provenientes de drogas, aditivos provenientes de industrializados, corantes alimentícios sintéticos, compostos provenientes do tabaco, entre outros, que são eliminadas no processo de glucuronidação (Martinez-Leal, Ponce-García & Escalante-Aburto, 2020).

A glucuronidação facilita a solubilidade e o transporte desses compostos mencionados devido a alteração bioquímica das substâncias por reações as tornando mais polares, ocorrendo a eliminação do corpo de forma eficaz quando a enzima glucuroniltransferase liga os componentes tóxicos ao ácido glucurônico, sendo

eliminados após as demais reações (Ayed, Abib & Hamdi, 2017; Martinez-Leal, Ponce-García & Escalante-Aburto, 2020).

A kombucha tem como característica benéfica o fortalecimento do sistema imunológico (Kozyrovska et al., 2012), e apesar de apresentar um efeito positivo, atuando de forma semelhante a um produto com características probióticas (Jayabalan et al., 2014), esta alegação não pode ser utilizada para fins comerciais, em virtude dessa propriedade ainda não ser cientificamente comprovada em estudos com humanos.

Os benefícios para a saúde relacionados ao consumo da kombucha começaram a surgir assim que as primeiras pesquisas na década de 70 começaram a ser realizadas, e sua popularização nos anos 90 alavancaram a venda do produto. O relato de consumidores frequentes que tem contato com a bebida desde 1998, como nas pesquisas de Ferguson and Estelle (1998) e de Full Circle Press (1998), além de pesquisadores russos como na pesquisa de Allen (1998), alegavam a melhoria da saúde do cabelo, pele e unhas, diminuição de problemas que englobam o sistema nervoso, redução de insônia, alívio de enxaquecas, redução de cálculos renais, decréscimo de problemas menstruais e as ondas de calor na menopausa, melhoria da visão, regeneração celular, estímulo dos sistemas glandulares, alívio de bronquite e asma, aumento do metabolismo geral no consumo da bebida (Dufresne & Farnworth, 2000).

Estudos mais avançados para esses efeitos biológicos foram realizadas e já estão disponíveis na literatura. A atividade hipoglicêmica foi observada em camundongos em um tratamento de 3 dias com a ingestão de 1,71 mL/kg de peso corpóreo. Nesse estudo foram monitorados o nível de açúcar no sangue, sendo um estudo de interesse para a área do controle de diabetes, haja vista que seus resultados comprovaram eficácia após 4 horas após a última ingestão nos ratos, nesse estudo os níveis de açúcar foram controlados após 1 hora com o tratamento da kombucha (Shenoy, 2000; Jayabalan, 2014).

A redução do estresse oxidativo foi outro benefício comprovado por Sai Ram et al. (2000) em ratos num período de 30 dias com a ingestão de 0,2 mL/200 g, sendo monitorados pelas atividades da peroxidase, catalase e dos níveis de malonaldeído (MDA) em plasma e tecidos, e tiveram eficácia nos ratos que receberam o tratamento.

O benefício de longevidade foi estudado na pesquisa de Hartmann et al. (2000) por 3 anos em populações de camundongos, onde a população tinha livre acesso a kombucha. De acordo com os autores, os camundongos exibiram comportamentos significativamente diferentes, apresentando mais apetite, ganho de peso, energia e longevidade. As atividades de proteção contra resfriados e hipoxia foram estudadas e

atreladas ao consumo de kombucha, por Pauline et al. (2001), em populações de ratos por 15 dias em 1,6, 8 e 16 mL kombucha/kg peso corpóreo pela população e teve seu estudo monitorado pelo plasma, sangue (MDA), redução de glutathione (GSH) e conteúdo fecal.

Outros estudos que testaram o efeito benéfico com as condições e monitoramento especificados em populações de camundongos e ratos são a atividade antioxidante contra o chumbo (Dipti et al. 2003), prevenção de perda de peso em pessoas que portam diabetes (Morshedi et al. (2006), propriedades curativas em úlcera gástrica (Banerjee et al. 2011), entre outros.

1.5. Substratos alternativos para a produção de kombuchas

1.5.1. Potencial da Amazônia como fonte de substratos alternativos

Têm-se discutido sobre o uso de infusões alternativas para a fermentação de kombucha, e a busca por novos substratos justifica-se por outros benefícios complementares ligados ao produto. O fermentado contém compostos antioxidantes que se originaram das folhas desses substratos, e o teor e potencial antioxidante desses compostos variam de acordo com o tipo de substrato e a eficiência da fermentação (Emiljanowicz & Malinowska-Pańczyk, 2019).

Estudos recentes descrevem os polifenóis como um dos grupos mais frequentes que apresentam atividade antioxidante na bebida, como as catequinas. A bebida de kombucha também podem conter vitaminas C, B2, B6 e catalase, que desativam radicais livres, ou atuam sinergicamente com antioxidantes, como o ácido cítrico (Mohammadshirazi; Kalhor, 2016). Os fitoquímicos existentes na kombucha são os responsáveis pelos aspectos funcionais da bebida, correlacionadas teoricamente com a prevenção de câncer, aumento da imunidade, alívio de inflamações e artrite (Jayabalan et al., 2014).

A Amazônia abriga uma das maiores extensões contínuas de florestas tropicais úmidas do globo. Esse bioma é de grande importância para a manutenção da vida terrestre, e em sua flora há a possibilidade de diversos estudos em diversas áreas como a medicina, nutrição, economia, entre outras. Estima-se que na região amazônica, existam cerca de 60.000 espécies de plantas, de acordo com o IBAMA (2023), e muitas dessas plantas ainda possuem propriedades químicas e medicinais desconhecidas devido a diversos fatores, como a sua localização, falta de incentivo em pesquisas científicas,

pouca inclusão desses materiais no desenvolvimento de novos produtos e de novos fármacos (da Silva Port's, 2011).

Ultimamente, a preocupação em conhecer a composição química de ervas medicinais, assim como a de hortaliças tradicionais e não-convencionais, tem se tornado crescente, devido ao potencial benéfico e às suas propriedades únicas que podem ajudar a combater doenças contraídas pelo homem, e incluir os substratos em desenvolvimento de novos produtos, fármacos e alimentos, agregando valor a região amazônica (Barbosa & Fernandes, 2014; França, 2022).

Muitas pessoas ainda recorrem às ervas ou preparados medicinais como recurso instantâneo terapêutico no tratamento de doenças. Os estudos de interesse nas ervas e hortaliças da região amazônica são uma realidade e vêm sendo realizados devido à incorporação de compostos bioativos de interesse em alimentos, bebidas e produtos fitoterápicos (Bhardwaj et al., 2020; Fernández et al., 2019). Estes elementos podem auxiliar no metabolismo ou, sendo de suma importância para o desenvolvimento desses estudos (da Silva Port's, 2011; Homma, 2014).

Os estudos sobre os teores de compostos bioativos encontrados em ervas amazônicas possuem um grande potencial a ser explorado devido a gama de espécies presentes no bioma (Ávila-Sosa et al., 2019), como a presença de fitoquímicos bioativos, o conteúdo de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e a capacidade antioxidante das infusões dessas plantas (Lorenzi & Matos, 2008).

Alguns estudos mostraram que os teores de compostos fenólicos variaram de 27 a 721 mg nas seguintes espécies amazônicas; Agirú (*Chrysobalanus icaco*), Açoita-cavalo (*Luehea speciosa*), Erva-cidreira (*Lippia alba*), Graviola (*Annona muricata*), Jucá (*Caesalpinia ferrea*), Pata-de-vaca (*Bauhinia forticata*), Parirí (*Arrabidaea chica*) e Sacaca comum (*Croton spp*), *Matricaria chamomilla*, *Echinodorus grandiflorus*, *Artemisia absinthium L.*, *Baccharis trimera*, *Acmella oleracea* (Silva Port's, 2011).

O alto conteúdo de compostos fenólicos encontrado em algumas infusões podem desempenhar vários mecanismos de ação que promovem a promoção da saúde, como manutenção de atividade hepática e hipolipidêmica (Rodrigues et. al., 2023). Um dos maiores benefícios ainda se dá na avaliação da atividade antioxidante, e ervas como o agirú e jucá, por exemplo, atingiram moderada atividade antioxidante (da Silva Port's, 2011; Scherer & Godoy, 2009).

1.5.2. Jambu: características gerais, compostos bioativos e potencial de aplicação no desenvolvimento de novos produtos alimentícios

A *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen, mais conhecida como jambu ou agrião do Pará, é proveniente da região amazônica, pertence à família Asteraceae, bastante apreciada e difundida no estado do Pará. Por se adaptar muito bem às condições de clima tropical, o jambu tornou-se uma espécie de fácil propagação no Norte do Brasil, sendo considerada uma hortaliça nativa da região Amazônica, mas podendo ser encontrada em outros biomas e países da América do Sul (Brasil, 2010).

O jambu é considerado uma Planta Alimentícia Não-convencional (PANC), de acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), e isso significa que o jambu faz parte de espécies com características mais rústicas, e que não fazem parte da rotina alimentar de todo brasileiro, mas que se mostram capazes de contribuir como uma excelente alternativa nutricional. No Brasil, existem mais de 3 mil espécies consideradas como PANCs, correspondendo a 10% da flora nacional, apesar de ser uma planta que é comum e de consumo frequente entre os nortistas, principalmente os paraenses, sendo tratada como convencional regionalmente. Nas demais regiões do Brasil, o jambu é considerada uma PANC devido a limitação de sua distribuição, e é produzida tipicamente por pequenos produtores em hortas familiares (Silva, 2015).

O jambu ainda não apresenta uma cadeia de produção completamente bem estruturada como as outras plantas ou hortaliças, como a alface, couve, acelga, e repolho, mas apresenta alta rentabilidade para os estados do norte do país, e pode ser facilmente encontrado em feiras livres e supermercados na forma in natura. Além disso, o jambu já se encontra disponível na forma minimamente processada e na forma pré-cozido, pronto para ser utilizado em preparações gastronômicas, e na forma desidratada, pronto para ser utilizado em bebidas (Medeiros, 2014; Homma et al., 2014).

O jambu representa uma boa forma de renda para os agricultores familiares da região norte, havendo a probabilidade de expansão de cultivos da planta para atender ao mercado industrial, sendo que economicamente o jambu pode ter preço de venda alterado em função de diversos fatores, como épocas festivas (Medeiros, 2014; Nascimento, 2019).

A planta do jambu atinge altura de aproximadamente 30 a 40 cm, usualmente cresce em temperaturas de 25 °C, ou superiores. A germinação da planta ocorre por plantio de sementes ou estacas, sendo frequentemente usadas as flores para a elaboração de bebidas como licores, cachaças e cervejas, no entanto, de acordo com as nossas

pesquisas da literatura, o jambu ainda não foi utilizado para o desenvolvimento de formulações de kombucha ou outro produto análogo. Como no presente estudo, as flores em estudos também apresentam maiores teores de compostos fenólicos, e em especial outra classe de compostos bioativos, como a alquilamida, representada no jambu pelo espilantol (Homma et al., 2014; Brasil, 2010).

De grande relevância culinária para o Norte do Brasil, o jambu é utilizado nos pratos típicos regionais como tacacás, vatapás, pizzas, licores e cachaças, e possui um grande potencial de aplicação no setor alimentício industrial e de forma medicinal, como por exemplo, no tratamento de males da boca e da garganta. Estudos *in vitro* em relação ao consumo de jambu relataram a comprovação de efeitos como agente gastroprotetor, inibindo úlceras gástricas (Nascimento et al., 2013), efeito antinociceptivo (Nomura et al., 2013), efeito neuroprotetivo (Suwanjang et al., 2017), atividade vaso dilatadora e antioxidante (Wongsawatkul et al., 2008), efeito anestésico (Freitas-Blanco et al., 2016), ação diurética (Ratnasooriya et al., 2004), atividade antimalárica (Spelman et al., 2011), ação anti-inflamatória, antimicrobiana (Gupta; Patel; Ravindra et al., 2012) e agente estimulante sexual (Sharma et al., 2011).

Fitoquimicamente, o jambu apresenta uma ampla variedade de compostos bioativos, além de minerais como nitrogênio, fosforo e manganês (Borges, Goto & Lima, 2013). Entre os compostos bioativos, tem-se os compostos fenólicos, incluindo os flavonoides e taninos, alcaloides, saponinas, e glicosídeos esteroides (Abey Siri et al., 2013), carotenoides (Borges et al., 2015), e vitaminas (Brasil, 2010; Montecinos et al., 2007; Liu et al., 2015).

Não obstante, o jambu ainda é uma planta que, de acordo a variedade, pode apresentar maior ou menor teor de pigmentos naturais em sua composição, como as clorofilas, antocianinas e carotenoides, além de alto teor de alquilamidas, como o espilantol, que são mais encontrados em maior teor nas inflorescências (Borges et al., 2015; Gusmão, 2016; Silva, 2015; Dias et al., 2012; Bagniewskazadworna et al., 2008).

A planta pode ter a sua composição química alterada por fatores como o tipo de cultivo, as condições de plantio e de maturação, e ainda convém lembrar que as composições em cada parte da planta também sofrem alterações (folhas, inflorescências e caules), e tal fato é pouco discutido em artigos com a descrição dos compostos por partes do jambu (Silva, 2015). Nascimento, (2019) ao quantificar os compostos das inflorescências indicou teores de 1,98 mg equivalente de ácido gálico (mg EAG/g, base

seca, b. s.) para compostos fenólicos e 5,91 mg equivalente de rutina (mg ER/g b. s.) para flavonoides no sistema convencional de cultivo, os teores mudaram para 1,70 mg EAG/g b. s. para compostos fenólicos e 7,98 mg ER/g b. s., para flavonoides no sistema hidropônico de cultivo.

As folhas e as inflorescências do jambu são utilizadas também em outras finalidades como no tratamento de enfermidades na boca e na garganta, tuberculose, litíase pulmonar e como estimulante de apetite e a infusão dessas partes da planta é utilizada contra anemia, escorbuto, dispepsia e como estimulante da atividade do estômago (Lorenzi; Matos, 2008).

Nascimento (2019), ainda em relação a capacidade antioxidante das flores, quantificou para as inflorescências 14,17 mM equivalente de Trolox (mM ET/g b.s.) no sistema convencional de cultivo, enquanto o sistema hidropônico mostrou 13,69 mM ET/g, b. s. Os mesmos autores identificaram 45 compostos como sacarose, xilose, triptofano, ácido neoclorogênico rutina, ácido cafeoilímico, compostos variantes de quercetina, espilantol, entre outros. Silva (2015) também identificou compostos bioativos, como os compostos fenólicos (flavonoides) em jambu, identificou um percentual de 2% de carotenoides, e uma concentração de 7,72 g/100 g de ácido oxálico, sendo o ácido mais expressivo de seu estudo.

O jambu acaba sendo uma matéria-prima exótica por ter uma pungência característica muito apreciada, que se dá pela presença do espilantol, majoritariamente nas flores da planta, causando salivação em excesso e sensação anestésica nos lábios e na parte interna da boca quando ingeridas (Boonen, 2010).

Devido as todas características apresentadas e benefícios dado jambu, a expansão do uso dessa matéria-prima para outros produtos alimentícios pode e é viável como pode ser observada em patentes já registradas no Brasil pelo INPI (Instituto Nacional de Propriedade Intelectual), como o licor de jambu e seu processo (BR 10 2013 004315 0 A2), e em outras áreas já é possível identificar patentes internacionais em que são abordados sua a utilização em formulações de cosméticos e fármacos (Nascimento, 2019).

O jambu apresenta uma grande diversidade em seu uso e disponibilidade na indústria brasileira, e para a região norte, a inserção de produtos que favorecem a expansão de áreas de cultivos de jambu em áreas maiores e exclusivas em grandes propriedades rurais, fomentam a valorização do jambu e a atividade econômica agrícola da região.

A inserção de produtos utilizando o jambu como matéria-prima na kombucha potencializa ainda mais a popularidade de bebidas funcionais e a disponibilização dos efeitos dos compostos bioativos, que são os responsáveis por benefícios à saúde.

Dessa forma, o presente estudo propõe a elaboração de um produto que apresente características singulares, e com muitos efeitos biológicos associados, e que vem sendo procurado por pessoas que querem a melhoria da qualidade de vida. O produto finalizado pode atingir um aspecto competitivo não só na região em que o jambu é amplamente difundido, mas também em todo o território em que o consumo de kombucha vem se tornando popular e expandindo o seu público-alvo de consumo.

Referências

ABEYSIRI, G. R. P. I. et al. Screening of phytochemical, physicochemical and bioactivity of different parts of *Acemella oleraceae* Murr. (Asteraceae), a natural remedy for toothache. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 852–856, 2013

ALLEN, C. M. Past research on Kombucha tea. **The Kombucha FAQ Part 6**. Research and tests results, 1998.

ANDRIOT, I., LE QUÉRÉ, J. L., & GUICHARD, E. Interactions between coffee melanoidins and flavour compounds: impact of freeze-drying (method and time) and roasting degree of coffee on melanoidins retention capacity. *Food Chemistry*, 85(2), 289-294, 2004.

AVILA-SOSA, R., MONTERO-RODRÍGUEZ, A. F., AGUILAR-ALONSO, P., Vera-López, O., Lazcano-Hernández, M., Morales-Medina, J. C., & Navarro-Cruz, A. R. Antioxidant properties of Amazonian fruits: a mini review of in vivo and in vitro studies. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019.

AYED, L., BEN Abid, S., & HAMDI, M. Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. *Annals of microbiology*, 67, 111-121, 2017.

BAGNIEWSKA-ZADWORNA, A. et al. Phenolic compound localisation in *Polypodium vulgare* L. rhizomes after mannitol-induced dehydration and controlled desiccation. **Plant Cell Reports**, v.27, n.7, p.1251-1259, 2008.

BANERJEE D, HASSARAJANI SA, Maity B, Narayan G, Bandyopadhyay SK, Chattopadhyay S. Comparative healing property of kombucha tea and black tea against

indomethacin-induced gastric ulceration in mice: possible mechanism of action. **Food Funct** 1:284–93, 2011

BARBOSA, T. N. R. M.; FERNANDES, D. C. Compostos bioativos e doenças cardiovasculares: revisando as evidências científicas. **Revista EVS-Revista de Ciências Ambientais e Saúde**, v. 41, n. 2, p. 181-192, 2014.

BARROS, V. C., FREITAS, A. C. Biotecnología alimentaria: Desarrollo de nuevos productos. 1. Ed. Beau Bassin: Editorial Académica Española. V. 1. 84p ., 2021

De Sousa BATISTA, Daniel et al. Prospecção de Patentes de Cosméticos com a Presença de S. Acmella e Similares dos anos 2015-2020. **Cadernos de Prospecção**, v. 16, n. 3, p. 813-830, 2023.

BHARDWAJ, R.; Pareek, S.; Sagar, N. A.; Vyas, N. Bioactive Compounds of Annona. **Bioactive Compounds in Underutilized Fruits and Nuts**, p. 37-62, 2020.

BHATTACHARYA, Debanjana et al. Antibacterial activity of polyphenolic fraction of kombucha against enteric bacterial pathogens. **Current microbiology**, v. 73, p. 885-896, 2016.

BELLOSO-MORALES G, Hernández-Sánchez H. (2003).Manufactura de una bebida a partir de suero de queso usando una fermentación con el “hongo del té”. **Microbiología**.;45(1-2):5-11

BOONEN, J. et al. LC-MS profiling of N-alkylamides in Spilanthes acmella extract and the transmucosal behaviour of its main bio-active spilanthol. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 53, n. 3, p. 243–249, 2010.

BORGES, L. da S. et al. Antioxidant compounds of organically and conventionally fertilized jambu (*Acmella oleracea*). **Biological Agriculture and Horticulture**, v. 32, n. 3, p. 149–158, 2015.

BORGES, L. da S.; GOTO, R.; LIMA, G. P. P. Exportação de nutrientes em plantas de jambu, sob diferentes adubações. *Ciências Agrárias*, v. 34, n. 1, p. 107-116, 2013.

BRASIL, INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 41; MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, DE 17 DE SETEMBRO DE 2019

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. Manual de hortaliças não-convencionais. Brasília: Mapa/ACS, 2010. 92 p

CARDOSO, R. R., NETO, R. O., dos Santos D'Almeida, C. T., do Nascimento, T. P., Pressete, C. G., Azevedo, L., ... & de Barros, F. A. R. Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food research international*, 128, 108782, 2020

ČETOJEVIC-SIMIN, D. D., Velićanski, A. S., Cvetković, D. D., Markov, S. L., Mrđanović, J. Ž., Bogdanović, V. V., & Šolajić, S. V. Bioactivity of lemon balm kombucha. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 1756-1765, 2012.

CHAKRAVORTY, Somnath et al. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International journal of food microbiology*, v. 220, p. 63-72, 2016.

CHAN, Michael et al. Determination of ethanol content in kombucha using headspace gas chromatography with mass spectrometry detection: Single-laboratory validation. *Journal of AOAC International*, v. 104, n. 1, p. 122-128, 2021.

CHAWLA, P. R., BAJAJ, I. B., SURVASE, S. A., & SINGHALI, R. S. Microbial cellulose: Fermentative production and applications (Review). *Food Technology and Biotechnology*, 47(2), 107–124, 2009.

CHEN, C.; LIU, B. Y. Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. **Journal of applied microbiology**, v. 89, n. 5, p. 834-839, 2000.

DELGADO-ANDRANDE C, RUFIAN-HENARES JA, MORALES FJ .Assessing the antioxidant activity of melanoidins from coffee brews by different antioxidant methods. *J Agric Food Chem* 53(20):7832–7836, 2005

DIAS, A. M. A. et al. Spilanthol from *Spilanthes acmella* flowers, leaves and stems obtained by selective supercritical carbon dioxide extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 61, n. 9, p. 62-70, 2012

DIPTI, P., YOGESH, B., KAIN, A. K., PAULINE, T., Anju, B., Sairam, M., ... & Selvamurthy, W. Lead induced oxidative stress: beneficial effects of Kombucha tea. *Biomedical and environmental sciences: BES*, 16(3), 276-282, 2003.

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

DUTTA, Himjyoti; PAUL, Sanjib Kr. Kombucha drink: Production, quality, and safety aspects. In: *Production and management of beverages*. Woodhead Publishing, 2019. P. 259-288.

EMILJANOWICZ, K. E., & MALINOWSKA-PANCZYK, E. Kombucha from alternative raw materials–The review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(19), 3185-3194, 2020.

FERGUNSON, B., & Estelle, A. (1998). Benefits of Kombucha. <http://bawue.de/~kombucha/benefits.html>

FERNÁNDEZ, I. M. Bioprospeção de frutas cultivadas na Amazônia com potencial de compostos bioativos, capacidade antioxidante e estudos microbiológicos. 233 f., 2019.

Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 233 f., 2019.

FRANÇA, F. V. C. Compostos bioativos de frutas amazônicas e suas utilizações: revisão integrativa, 2022.

FREITAS-BLANCO, V. S. et al. Development and evaluation of a novel mucoadhesive film containing *Acmella oleracea* extract for oral mucosa topical anesthesia. *PLoS One*, v. 11, n. 9, p. 1-18, 2016

Full Circle Press. Kombucha tea culture - The ancient rejuvenating health drink, 1998.

GAYATHRY, G.; GOPALASWAMY, G. Isolation of cellulose producing *Gluconacetobacter xylinum* from fermented sugarcane juice. *Advances in Applied Research*, v. 5, n. 1, p. 72-77, 2013.

GAMBOA-GÓMEZ, C. I., GONZÁLEZ-LAREDO, R. F., Gallegos-Infante, J. A., Pérez, M. D. M. L., Moreno-Jiménez, M. R., Flores-Rueda, A. G., & Rocha-Guzmán, N. E. Antioxidant and angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of *Eucalyptus camaldulensis* and *Litsea glaucescens* infusions fermented with kombucha consortium. *Food Technology and Biotechnology*, 54(3), 367, 2016.

GREENWALT, C. J.; STEINKRAUS, K. H.; LEDFORD, R. A. Kombucha, the fermented tea: microbiology, composition, and claimed health effects. **Journal of food protection**, v. 63, n. 7, p. 976-981, 2000.

GUPTA, N.; PATEL, A. R.; RAVINDRA R. P. Design of Akkalkara (*Spilanthes acmella*) formulations for antimicrobial and topical antiinflammatory activities. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, v. 3, n. 4, p. 161-170, 2012.

GUSMÃO, S. A. L. De. Jambu: da Amazônia para o mundo. *Agrofoco*, n. 3, p. 18-19, 2016.

HARTMANN, A. M., BURLESON, L. E., HOLMES, A. K., & Geist, C. R. Effects of chronic kombucha ingestion on open-field behaviors, longevity, appetitive behaviors, and organs in c57-bl/6 mice: a pilot study. *Nutrition*, 16(9), 755-761, 2000.

HOMMA, A. K. O., & HOMMA, A. K. O. (2014). Extrativismo vegetal na Amazônia: história, ecologia, economia e domesticação.

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br> (Acesso em 29/10/2023).

JAYABALAN, R.; MARIMUTHU, S.; SWAMINATHAN, K. Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. **Food chemistry**, v. 102, n. 1, p. 392-398, 2007.

JAYABALAN, R., Subathradevi, P., Marimuthu, S., Sathishkumar, M., & Swaminathan, K. Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chemistry*, 109(1), 227-234, 2008.

JAYABALAN, Rasu et al. A review on kombucha tea—microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, v. 13, n. 4, p. 538-550, 2014.

JAYABALAN, R., MALBASA, R., SATHISHKUMAR, M., Kombucha. Reference module in food science, 2016

KAEWKOD, Thida; BOVONSOMBUT, Sakunnee; TRAGOOLPUA, Yingmanee. Efficacy of kombucha obtained from green, oolong, and black teas on inhibition of pathogenic bacteria, antioxidation, and toxicity on colorectal cancer cell line. **Microorganisms**, v. 7, n. 12, p. 700, 2019.

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

KIM; ADHIKARI, Current Trends in Kombucha: Marketing Perspectives and the Need for Improved Sensory Research,2020

KOZYROVSKA, N. O., REVA, O. M., GOGINYAN, V. B., & De VERA, J. P. Kombucha microbiome as a probiotic: a view from the perspective of post-genomics and synthetic ecology. *Biopolymers and Cell*, 2012.

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

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 512 p, 2008.

LIU, F. et al. Higher transcription levels in ascorbic acid biosynthetic and recycling genes were associated with higher ascorbic acid accumulation in blueberry. *Food Chemistry*, v. 188, n. 1, p. 399-405, 2015.

MALBASA R.V., LONCAR E.S., Vitas J.S., Čanadanovic-Brunet J.M. *Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. Food Chemistry*, 127(4): 1727-31, 2011.

MARTÍNEZ-LEAL, Jessica; PONCE-GARCÍA, Nestor; ESCALANTE-ABURTO, Anayansi. Recent evidence of the beneficial effects associated with glucuronic acid contained in kombucha beverages. *Current nutrition reports*, v. 9, p. 163-170, 2020.

MEDEIROS, G. K. C. Q. Estudo comparativo da influência da adubação química e orgânica nos parâmetros de cultivo das hortaliças jambu (*Acmella oleracea* L.R.K. Jansen) e coentro (*Coriandrum sativum* L). Dissertação (Mestrado) – Programa de PósGraduação em Ciências Ambientais, Centro de Ciências Naturais e Tecnologia, Universidade do Estado do Pará. Belém, 2014

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

DE MIRANDA, Jeniffer Ferreira et al. Kombucha: A review of substrates, regulations, composition, and biological properties. *Journal of food science*, v. 87, n. 2, p. 503-527, 2022.

MOHAMMASHIRAZI, A., & KALHOR, E. B. Energy and cost analyses of kombucha beverage production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 55, 668-673, 2016.

MONTECINOS, V., GUZMÁN, P., Barra, V., Villagrán, M., Muñoz-Montesino, C., Sotomayor, K., ... & Vera, J. C. Vitamin C is an essential antioxidant that enhances survival of oxidatively stressed human vascular endothelial cells in the presence of a vast molar excess of glutathione. *Journal of Biological Chemistry*, 282(21), 15506-15515, 2007.

MORALES, Martha Elena Vázquez et al. Estandarización del proceso de fermentación y evaluación sensorial de una bebida tipo kombucha utilizando infusiones herbales. 2021.

MORSHEDIorshedi, A., Dashti, M. H., Rafati, A., Mosaddegh, M. H., & Salami, A. S. The chronic effect of Kombucha Tea consumption on weight loss in diabetic rats. *Journal of Medicinal Plants*, 5(17), 17-22, 2006.

NASCIMENTO, A. M., de Souza, L. M., Baggio, C. H., Werner, M. F. D. P., Maria-Ferreira, D., da Silva, L. M., ... & Cipriani, T. R. Gastroprotective effect and structure of a rhamnogalacturonan from *Acmella oleracea*. *Phytochemistry*, 85, 137-142, 2013.

NASCIMENTO, L. E. S. Jambu (*Acmella oleracea* (L.) RK. Jansen) hidropônico e convencional: uma comparação baseada nas propriedades físico-químicas e composição fitoquímica, 2019.

NOMURA, Ellen Cristine Ogata et al. Antinociceptive effects of ethanolic extract from the flowers of *Acmella oleracea* (L.) RK Jansen in mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 150, n. 2, p. 583-589, 2013.

PAULINE, T., DIPTI, P., Anju, B., Kavimani, S., Sharma, S. K., Kain, A. K., ... & Selvamurthy, W. Studies on toxicity, anti-stress and hepato-protective properties of Kombucha tea. *Biomedical and Environmental Sciences: BES*, 14(3), 207-213, 2001.

RAM, M. Sai et al. Effect of Kombucha tea on chromate (VI)-induced oxidative stress in albino rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, n. 1-2, p. 235-240, 2000.

RATNASOORIYA, W. D. et al. Diuretic activity of *Spilanthes acmella* flowers in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 91, n. 2, p. 317-320, 2004.

RODRIGUES, E. T., Peretti, P., Bezerra, R. M., Biancardi, M. F., Sousa, F. F., Mendes, E. P., ... & Pinheiro, M. T. Pharmacological Characteristics of the Hydroethanolic Extract of *Acmella oleracea* (L.) RK Jansen Flowers: ADME/Tox In Silico and In Vivo Antihypertensive and Chronic Toxicity Evaluation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2023.

DE ROOS, Jonas; DE VUYST, Luc. Acetic acid bacteria in fermented foods and beverages. *Current opinion in biotechnology*, v. 49, p. 115-119, 2018.

ROSS, P., MAYER, R. and BENZIMAN, M. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. *Microbiology Reviews* 55, 35±58, 1991.

SAICHANA N, Matsushita K, Adachi O, Frébort I, Frebortova J. Acetic acid bacteria: a group of bacteria with versatile biotechnological applications. *Biotechnology Advances* 33(6):1260-1271, 2015.

SCHROEDER, J. Kombucha fermentada a partir de resíduo de acerola, 2019.

SCHERER, Rodrigo; GODOY, Helena Teixeira. Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food chemistry**, v. 112, n. 3, p. 654-658, 2009.

SHARMA, V. et al. *Spilanthes acmella* ethanolic flower extract : LC –MS alkylamide profiling and its effects on sexual behavior in male rats. *Phytomedicine*, v. 18, n. 13, p. 1161–1169, 2011.

SHENOY, C. Hypoglycemic activity of bio-tea in mice. *Blood*, 1(1.26), 2000.

SILVA, K. A., Uekane, T. M., de Miranda, J. F., Ruiz, L. F., da Motta, J. C. B., Silva, C. B., ... & Lima, A. R. Kombucha beverage from non-conventional edible plant infusion and green tea: Characterization, toxicity, antioxidant activities and antimicrobial properties. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 34, 102032, 2021.

da SILVA PORT's, P. Compostos fenólicos e potencial antioxidante de ervas consumidas na região amazônica brasileira (Doctoral dissertation, UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS), 2011.

SOUZA, G.; Dias Ribeiro da Silva, I.; Duarte Viana, M.; Costa de Melo, N.; Sánchez-Ortiz, B.; Maia Rebelo de Oliveira, M.; Ramos Barbosa, W.; Maciel Ferreira, I.; Tavares Carvalho, J. Acute Toxicity of the Hydroethanolic Extract of the Flowers of *Acmella Oleracea* L. in Zebrafish (*Danio Rerio*): Behavioral and Histopathological Studies. *Pharmaceuticals* 2019, 12, 173, doi:10.3390/ph12040173.

SRIHARI T., ARUKUMAR R., ARUNAKARAN J., Satyanarayana U. *Downregulation of signaling molecules involved in angiogenesis of prostate cancer cell line (PC-3) by kombucha (lyophilized)*. **Biomedicine & Preventive Nutrition**, 3(1): 53-8, 2013.

SPELMAN, K. et al. The traditional medicine *Spilanthes acmella*, and the alkylamides spilanthol and undeca-2E-ene-8,10-diynoic Acid Isobutylamide, demonstrate in vitro and in vivo antimalarial activity. *Phytotherapy Research*, v. 25, n. 7, p. 1098-1101, 2011.

SUWANJANG, W. et al. Neuroprotective effect of *Spilanthes acmella* Murr. on pesticide-induced neuronal cells death. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, v. 10, n. 1, p. 35-41, 2017.

VÁZQUEZ-CABRAL, Blanca Denis et al. Oak kombucha protects against oxidative stress and inflammatory processes. ***Chemico-Biological Interactions***, v. 272, p. 1-9, 2017.

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

VITAS, J. S., Malbaša, R. V., Grahovac, J. A., & Lončar, E. S. The antioxidant activity of kombucha fermented milk products with stinging nettle and winter savory. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 19(1), 129-139, 2013.

VITAS, J. S., Cvetanović, A. D., Mašković, P. Z., Švarc-Gajić, J. V., & Malbaša, R. V. Chemical composition and biological activity of novel types of kombucha beverages with yarrow. *Journal of Functional Foods*, 44, 95-102, 2018.

WANG, Boying et al. Kombucha: Production and microbiological research. ***Foods***, v. 11, n. 21, p. 3456, 2022.

WATAWANA, M. I., Jayawardena, N., Gunawardhana, C. B., & Waisundara, V. Y. Health, wellness, and safety aspects of the consumption of kombucha. *Journal of Chemistry*, 2015.

WONGSAWATKUL, O. et al. Vasorelaxant and antioxidant activities of *Spilanthes acmella* Murr. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 9, n. 12, p. 2724-2744, 2008.

CAPÍTULO 2

TIPO DE CAPÍTULO: Review

**ALTERNATIVE SUBSTRATES AND APPLIED TECHNOLOGIES TO THE
DEVELOPMENT OF KOMBUCHA-TYPE BEVERAGES: AN INTEGRATIVE
REVIEW**

Manuscrito a ser submetido em periódico indexado da área de “Ciência de Alimentos”.

Alternative substrates and applied technologies to the development of kombucha-type beverages: an Integrative Review

Vinicius Costa Barros^a, Vanessa Albres Botelho^b, Renan Campos Chisté^{a,b}

^aGraduate Program of Food Science and Technology (PPGCTA), Institute of Technology (ITEC), Federal University of Pará (UFPA), 66075-110, Belém, Pará, Brazil.

^bFaculty of Food Engineering, Institute of Technology, Federal University of Pará (UFPA), 66075-110, Belém, Pará, Brazil.

Abstract: Kombucha is a fermented beverage originated in China, being highly consumed in Eastern countries over the centuries until widespread worldwide. The infusion of *Camellia sinensis* leaves is mandatory as substrate to produce kombucha, but infusions of different plants are expected to increase the opportunity to develop new fermented products with varied chemical composition and sensory attributes. This review gathers information regarding some promising alternative substrates to produce kombucha-type beverages, focusing on plants available in the Amazon biome. Data from literature have been showing a wide range of alternative substrates in increasing expansion since the selected papers reported 37 new substrates, which approximately 29,7% are available in the Amazon region, highlighting acerola cherry residues and lemon balm. Furthermore, herbs with promising bioactive compounds composition and higher antioxidant and antimicrobial properties than traditional infusions are usually preferred. This review also brings some gaps in the literature, mainly regarding the lack of consistent information about chemical composition, sensory aspects, biological properties and market potential for the fermented beverages produced with alternative substrates. Therefore, investigations aiming to overcome these gaps may stimulate the upscale of kombucha-type beverages to reach wide commercialization sectors and contribute to increase the life quality of the modern consumers.

Keywords: Kombucha; Fermented beverages; Food Technology; Amazonian herbs.

1. Introduction

The traditional production of kombucha is based on the fermentation process promoted by a consortium of fungi and bacteria called SCOBY (symbiotic culture of bacteria and yeast), using the infusion *Camellia sinensis* leaves (black tea and/or green tea) as mandatory substrate. Generally, to initiate the fermentation, for each 1 L of infusion, 50-150 g of sugar are added

(being 100 g the most used amount), in addition to 100-200 mL of a starter inoculum composed from aliquots of any previous kombucha production [1].

The starter inoculum is responsible to lowering the pH value of the new substrate that will be subjected to the fermentation process, which will inhibit possible contaminations by undesirable microorganisms. After the inoculation of starter culture in the *Camellia sinensis* substrate, inoculation with SCOBY is proceeded, and fermentation takes place in sterilized glass jars or stainless steel covered with porous fabrics permeable to oxygen, which prevent the entry of insects or other physical contaminants [1].

The fermentation step is usually carried out from 7 to 10 days, at temperatures varying from 18-30 °C, and after this step, the SCOBY is removed, and the fermented liquid is transferred to glass or plastic bottles, followed by an optional step of adding flavor. Generally, kombuchas with long fermentation time result in beverages with high acidity, as well as those with high amount of inoculum will decrease pH to below 4.2, being desired to keep safe its ingestion. Some optional ingredients can be further added to kombucha to impart distinct flavors, such as whole fruits, fruit pulp, spices, among others, and consumed refrigerated after 24-96 hours the flavor addition [2, 3]. From information collected in studies with consumers of this type of food products, kombucha is expected to be sold bottled in glass, under refrigeration, flavored and not pasteurized [3].

Traditional kombucha is a good source of bioactive compounds, and the claimed health benefits associated to its consumption are associated to the presence of phenolic compounds from *Camellia sinensis*, and organic acids, mainly glucuronic acid, formed during fermentation. The frequent consumption of kombucha was reported to decrease the risk of the development of cardiovascular diseases, inhibit LDL oxidation, regulate cholesterol metabolism, and prevent high blood pressure [4, 5]. D-Glucuronic acid, for example, plays a role in xenobiotic liver detoxification and endobiotic elimination, enhancing liver functions [6]. Importantly, the number of bioactive compounds in these types of fermented beverages will vary according to the scale of production and proportion of ingredients in the formulation, such as dried herbs, sugar, water, and possible adverse effects on human health must be systematically investigated [7].

Concerning adverse effects, Jayabalan *et al.* [8] reviewed cases of toxicity in the literature associated to kombucha and reported nausea, dizziness and other severe symptoms, lead poisoning (from specific recipients), gastrointestinal toxicity, contamination with *Bacillus anthracis* due to poor hygienic conditions, and worsening health conditions in HIV-positive people. These same authors also reported side effects such as allergies, vomiting, headache and

neck pain due to kombucha consumption. These and other few cases led the FDA (Food and Drug Administration) carry out safety tests on kombucha, and the agency certified that it is not toxic, and the side effects related to excessive consumption are isolated events, being only contraindicated for pregnant and breastfeeding women [8].

Regarding the beneficial biological properties, kombucha was reported to reduce glycosylated hemoglobins, increase plasma insulin and tissue glycogen levels in diabetic rats, and the beverage also regulated the enzymatic activities inherent in glucose regulation routes [9]. Another study showed that kombucha prepared with lemon balm was not genotoxic and presented antigenotoxic effects, in addition to affected cell growth of HeLa, MCF7, and HT-29 human tumor cell lines, but none affected cell growth by 50% inhibition [10]. The benefits of consuming kombucha include improving liver function [11], the immune system, gastrointestinal functions [12; 13] and anti-inflammatory properties [14], in addition to reduce cholesterol levels and blood pressure [15]. Kombucha is claimed to strengthening the immune system [12], acting similarly to probiotic products [8], but this association cannot be used for commercial purposes, as this property was not yet scientifically proven in human trials. One of the main biological properties associated to kombucha is the antimicrobial activity, which is attributed to its acidic pH, due to the presence of organic acids, such as acetic acid, and phenolic compounds such as catechins that inhibit the growth of a series Gram-positive and Gram-negative bacteria [10, 13].

Historically, the health benefits associated to the consumption of kombucha appeared with first researches in the 70s, and its popularization in the 90s boosted the sale. Reports from frequent consumers who have had contact with kombucha since 1998 claimed improved hair, skin and nails health, reduction of insomnia, relief of migraines, reduction of kidney stones, reduction of menstrual discomforts and hot flashes during menopause, improvement of vision, relief of bronchitis and asthma, and increase in general metabolism [5,16,17,18].

As stated before, the beneficial effects of kombucha are attributed to the intake of bioactive compounds from the plant matrix, such as phenolic compounds, and other metabolites produced during fermentation [13]. Several phenolic compounds were already identified in kombucha and the most abundant ones in the literature are catechins such as gallic acid, gallic acid 3-O-gallate/epigallocatechin 3-O gallate, gallic acid isomer/epigallocatechin, catechin, 5-O-galloylquinic acid, but also quercetin derivatives, such as quercetin 3-O-rhamnosyl-rhamnosyl glucoside and quercetin 3-O-glucosyl-rhamnosyl galactoside [19]. These compounds can be found in *Camellia sinensis* leaves, and the use of alternative substrates to produce kombucha-type beverages, for instance chamomile, hibiscus, lemongrass, American tarwort and

malvaviscus positively contributed to add high contents of bioactive compounds, high antioxidant and antimicrobial properties [20,21].

The Amazon is home to one of the largest continuous extensions of tropical rainforests in the world. This biome is of great importance for the maintenance of terrestrial life, and its flora offers the possibility of various studies in different areas such as medicine, nutrition, economics, among others. It is estimated that in the Amazon region, there are around 60,000 species of plants, according to IBAMA (2023), and many of these plants still have unknown chemical and medicinal properties due to several factors, such as their location, lack of incentive in scientific research, little inclusion of these materials in the development of new products and new drugs [22]

Lately, the concern to know the chemical composition of medicinal herbs, as well as that of traditional and non-conventional vegetables, has become increasing, due to the beneficial potential and their unique properties that can help combat diseases contracted by man, and include the substrates in the development of new products, drugs and foods, adding value to the Amazon region[23]

Many people still turn to herbs or medicinal preparations as an instant therapeutic resource to treat illnesses. Studies of interest in herbs and vegetables from the Amazon region are a reality and have been carried out due to the incorporation of bioactive compounds of interest in foods, beverages and herbal products [24, 25]. These elements can assist in metabolism or, being of paramount importance for the development of these studies [22;26].

Studies on the levels of bioactive compounds found in Amazonian herbs have great potential to be explored due to the range of species present in the biome [27], such as the presence of bioactive phytochemicals, the content of phenolic compounds total, total flavonoids and the antioxidant capacity of infusions of these plants [28]. Some studies have shown that the levels of phenolic compounds ranged from 1.7 to 83.22 mg/ gallic in the following Amazonian species; Agirú (*Chrysobalanus icaco*), Açoita-cavalo (*Luehea speciosa*), Capim-santo (*Lippia alba*), Graviola (*Annona muricata*), Jucá (*Caesalpinia ferrea*), Pata-de-vaca (*Bauhinia forficata*), Parirí (*Arrabidaea chica*) and Common sacaca (*Croton spp*), *Matricaria chamomilla*, *Echinodorus grandiflorus*, *Artemisia absinthium L.*, *Baccharis trimera*, *Acmella oleracea* [22, 29, 30, 31 ,32 ,33].

The high content of phenolic compounds found in some infusions can play several mechanisms of action that promote health promotion, such as maintaining hepatic and hypolipidemic activity [34]. One of the greatest benefits still occurs in the evaluation of

antioxidant activity, and herbs such as agiú and jucá, for example, achieved moderate antioxidant activity [22; 35].

Therefore, not only the flavor, but the chemical composition and biological potential of kombucha are supposed to change according to the type of substrate, species of microorganism, fermentation conditions, and flavor addition. Thus, alternative substrates would expand the visibility of kombucha and kombucha-type beverages, stimulating researches and food technology development of fermented drinks, in addition to add potential health benefits and increasing product's annual economic growth rate.

2. Kombucha Popularization and Commercialization

Since ancient times, kombucha has been mentioned, whether as a detoxifier in China in 220 BC, or as a cure for digestive problems in Korea and Japan in 440 BC, or as a medicinal treatment in Russia in the 1800s AC [5; 8]. However, only in recent years the visibility of researches, development and sales of kombucha had been receiving attention from scientific community due to the popularization of non-commercial sharing of the consortium of microorganisms responsible for the fermentation (SCOBY).

The industrialization of kombucha began in the 90s in California (USA) and soon after the recognition of the beverage, several companies began to establish themselves in the market until the legislation regulated the production of the drink in 2014. After gaining popularity in the 90s, kombucha production reached a level of raising about 1.8 billion dollars on the world market and 1.67 billion dollars in 2019, with annual growth rate of 23% in market share (2014 to 2018), and this number does not include companies that are not legally registered [2, 36]. The United States and Canada are the countries with the highest number of companies that produce kombucha, but other countries also have high number of companies such as Mexico, Spain, and Australia [2].

In Brazil, kombucha legislation was established in 2019 and its popularization began with the Zanlorezi family, they started putting kombuchas on shelves in the second half of 2018 with *Campo Largo* brand, Zanlorezi observed 5% drop in the soft drinks market and kombucha arises as a healthy alternative [37]. In Brazil, *Companhia dos Fermentados* and *K. Probioticos Artesanais* can be mentioned as pioneers in the production of kombucha, starting as artisanal product until reaching the industrial scale [37, 38]. According to the Brazilian Kombucha Association, about 40 companies contribute with an average production of 2 to 5 thousand bottles per month, generating around 20 million reais (\approx 100 million dollars) in sales in 2018 [3, 39, 40].

The global increase in demand for alternative and healthier food products has been increasing the number of individuals who make and consume Kombucha, as well as the creation of small companies that carry out production on semi-industrial scales. The continuation of this chain stimulates the creation of larger companies with production at industrial levels, making it easier to find kombucha in natural food chains and supermarkets [2]. Thus, frequent concerns from consumers for health contributed greatly to kombucha advancing in the food market since functional and medicinal drinks create opportunities for the industry's economy. The future of these type of food products will be determined by their effectiveness in promoting health, new marketing strategies, and effective strategies to improve their sensory characteristics [41].

3. Strategies Adopted for Gathering Information in the Available Literature

This integrative review was elaborated based on scientific researches available in the literature containing published data related to the interested topic. The steps followed to construct this review were: recognition of the interested topic, formulation of the research question, data collection, categorization of studies, analysis and interpretation, presentation of results and conclusion [42, 43]. The PICO strategy [44] was used to guide our research: the defined population was researchers and producers of kombucha and its fermentation methods (P); the variable of interest was defined as alternative substrates for Kombucha-type fermented products (I), and the context was the elaboration of new fermented products for human consumption (CO). Furthermore, the question that guided this research was: “What are the new alternative substrates and their elaboration technologies for developing new Kombucha-type fermented foods for human consumption?”

The literature search in the scientific databases was carried out using the term “kombucha tea” combined with “substrates” and “based” terms, which showed 13,008 results in the following databases: *Google Scholar* (10,320), *Scopus* (1,490), *ScienceDirect (Elsevier)* (1,132), and *PubMed* (66). The inclusion criteria were original peer reviewed articles, theses, dissertations, abstracts and works published between 2003 and 2023, in English, Spanish or Portuguese, which were made available in full text and that addressed the use of alternative substrates to *Camellia sinensis* for the development of new kombucha-type fermented drinks and their production technologies. The relevant items used for data collection and analysis were publication title, author(s), objectives, year of publication, journal, type of substrate, methodologies, and bioactive potential. At the end of the eligibility process, data collection was carried out through the selection of works by agreeing with the objective of the review.

In the pre-analysis, the selected articles were studied, and the results were processed, interpreted, organized, and according to the main elements, the questioning categories were identified. In stage II (analysis), the coding, classification, and aggregation of the data found were carried out. Finally, the search strategies used in the databases to obtain the results included in this review can be seen in the Prisma Methodological Process Flowchart (Figure 1).

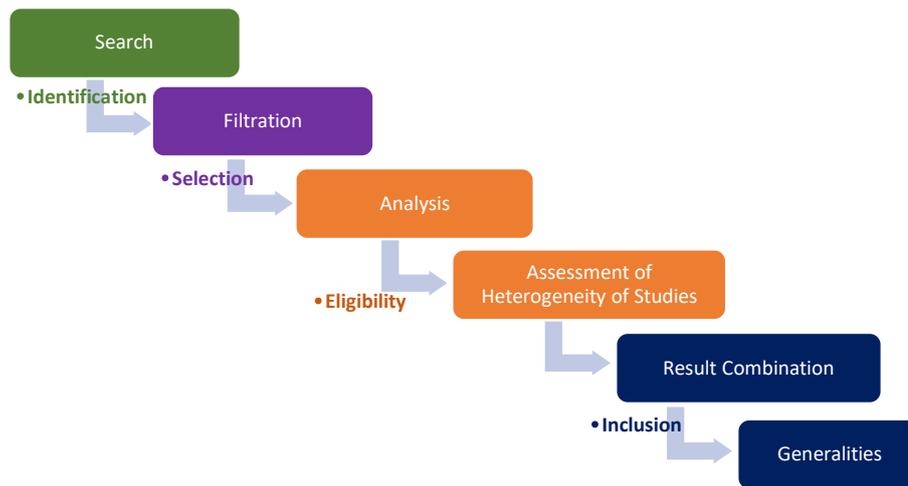


Figure 1: Prisma Methodological Process Flowchart Source: [45, adapted]

4. Results and Discussion

After applying our strategies for gathering information available in the literature, 13,009 primary studies were identified in the scientific databases. The search strategies used after **Identification** to exclude papers were **Selection**, **Eligibility**, and **Inclusion**, being 3,748 works excluded for not meeting the inclusion criteria, 1,981 due to repetition of information, 7,247 articles were excluded in the analysis stage and eligibility, and finally, 8 articles were excluded in the last stage of inclusion. These steps were carried out according to the recommendations made by the Prisma group (Main Items for Reporting Systematic Reviews and Meta-Analyses), which is characterized by a checklist of data collection items and a four-phase article selection flow diagram [46], as shown in Figure 1.

From crossing the descriptors in the databases, 36 works were selected for full reading, and, in the final stage, 29 answered the guiding question that highlighted 37 alternative substrates for the discussion of this review. Table 1 was prepared presenting the particularities described according to the alternative substrate, preparation methodology, and main results. Moreover, special focus was directed to the plants available in the Amazon region that may show sensorial acceptance and market potential to be inserted into manufacturing lines.

Table 1. Alternative substrates as replacements of *Camellia sinensis* infusions to produce kombucha-type beverages, fermentation conditions and main results.

From the selected publications, the following information can be inferred: 67.8% of them use sucrose as the carbon/energy source, with other sources being fructose, glucose, and lactose; and 60.7% prepared infusions at temperature ranging from 90 °C to 100 °C, which allowed the extraction of hydrophilic bioactive components, mainly phenolic compounds, to compose the alternative substrates. The other studies did not specify or applied heating for the infusion preparation. Concerning the fermentation step, we observed that the controlled conditions were quite heterogeneous among the selected literature, with the highest occurrence found for the 14-day fermentation time, appearing in approximately 28% of the studies. In addition, the temperatures at 25 °C and 28 °C were the most used to carry out the fermentation processes. Furthermore, a very high percentage of the selected works (96%) did not carry out or state if a second fermentation step was performed, being the production of the kombucha-type products described only by one fermentation step with controlled temperature and time conditions.

As can be seen in Table 1, 37 alternative substrates were shown. In Brazil, *Hibiscus sabdariffa* L. flowers are widely available in the Amazon region, with its widespread use within

Raw material	Infusion/preparation	Fermentation	Main results	Reference
Hibiscus (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	Dehydrated flowers (1%, w/v) and commercial sucrose (8%, w/v), in water at 100 °C. SCOBY (10%, w/v) was added to the filtered and cooled infusion (25 °C).	1 st fermentation: 14 days at 25 °C. 2 nd fermentation: After 1 st fermentation, SCOBY was removed and the fermented infusion was kept for 12 days at 25 °C.	Sensory-accepted drink with characteristics of the raw material present, acidity lower than expected and presence of anthocyanins in the final product. kombucha-type product with higher antioxidant potential than traditional ones.	[47,48]
Red and Black Goji Berry <i>Lycium barbarum</i> and <i>L. ruthenicum</i>	Infusion prepared with 1% Black Goji berry or 1% Red Goji berry in water at 98 °C/15 min, before addition of 6% sucrose	2 days at 28 °C.	All kombucha-types prepared with goji berry showed higher antioxidant capacity than traditional infusions, being black goji berry the substrate with the highest phenolic compounds contents and antioxidant capacity.	[49]
Grape juice (<i>Vitis vinifera</i> L.)	Grape juice (25%) + 3% of SCOBY + 10% of Starter	12 days at 30 °C	Fermented drink with high antioxidant potential associated to the presence of phenolic compounds generated by the microbial action on grape juice. Antimicrobial activity against Gram positive and Gram negative pathogenic bacteria was observed.	[50]

the states of Maranhão, Amazonas, Acre, Roraima, Rondônia, and its use in cooking is quite popular, It has stood out for its antioxidant compounds such as vitamin C, anthocyanins,

Acerola cherry (<i>Malpiguia emarginata</i>) byproduct (pulp from clarification process.)	1, 3 and 5% acerola byproduct (dry basis) + 35 g/L glucose and 35 g/L fructose + 10% Starter 12, 36 and 60 g of dried acerola byproduct + 600 mL of distilled water, extraction at 50 °C, 150 rpm/4h 207 mL of extract + 198 mL of Sucrose + 18g of SCOBY + 45mL of Starter	15 days at 30 °C. 21 days at 30 °C.	Increased phenolic and vitamin C content in the product. The content of bioactive compounds accelerated the metabolism of microorganisms, increasing substrate consumption and the production of ethanol, acetic acid and bacterial cellulose.	[51,52]
Milk	Fermented drinks produced with milk with 2.0% fat and 10% inoculum, at 37 °C and 42 °C, up to a pH of 4.6.	The study had kombuchas prepared under 3 fermentation times 1 – 37 °C – 13h and 40 min; 2 – 42 °C - 8h and 15min. 3 – 42 °C for 14 days	It showed high antioxidant activity during storage. Good sensory acceptance for appearance, flavor and overall impression	[53]
Rooibos (<i>Aspalathus linearis</i>)	8 g/L at 95 °C for 10 minutes + 80 g/L of sucrose and 30 g of SCOBY	27 °C por 14 dias	Increased antioxidant activity in relation to its initial capacity before fermentation, and traditional infusions.	[54]

flavonoids, phenolic acids, beta-carotene, among others, which have been attributed many of its health benefits [48].

			Decrease in the content of total phenolic compounds in the product	
Lemonbalm (<i>Melissa officinalis</i>)	70 g of sucrose in 1 L of boiling water + 5 g/L of Lemon balm + 100 g/L of SCOBY + 0.33 L of inoculum	28 °C for 7 days	Production of a drink with antioxidant properties (action of rosmarinic acid) and antimicrobial properties (Gram positive and negative bacteria) superior to traditional infusions	[55]
Mint (<i>Mentha piperita</i>)				
Thyme (<i>Thymus vulgaris</i>)	10 g of dry herb + 20 g of sucrose in 1 L of			
Lúcia Lima (<i>Lippia citriodora</i>)	boiled water, infused for 15 minutes. After filtration, 250 mL of the filtrate is	21 days at room temperature (25 °C)	High performance of catechins in microbial inhibition in Gram-Positive and Gram-negative bacteria and in strains of <i>Candida</i> , except <i>C. Crusei</i> for all analogues prepared	[56]
Rosemary (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	added with 10 g/L of SCOBY			
Fennel (<i>Foeniculum vulgare</i>)				

Acerola cherry (*Malpighia emarginata*) is a tropical fruit with high potential to be used as substrate that is also widespread in the Amazonia biome, being mainly used to produce artisanal

African Mustard (<i>Brassica tournefortii</i>)	77 g of sucrose + 1100 mL of water and heated at 90 °C + 10.5 g of leaves for 15 minutes. In 350 mL, 7g of SCOBY was added	25° C for 14 days	Increased antioxidant activity and total phenolic compounds. Decrease in xanthine oxidase activity and cytotoxic action of leaves	[57]
Snake fruit (<i>Salacca zalacca Gaerth. Voss</i>)	400 g of snake fruits were crushed in water in a ratio of 1:1 (m/m) and after filtering they were sweetened in a ratio of 1:10 (m/v), after pasteurization the juice was inoculated with starter in a ratio of 1: 10 (m/m)	14 days at room temperature	Increased antioxidant activity, total phenolics, total flavonoids and total tannins in relation to their initial content and traditional kombuchas	[58]
Pear/Prickly Pear Cactus Juice (<i>Opuntia ficus indica</i>)	300 mL of Pear Cactus juice + 3% SCOBY + 10% Starter	12 days at 30 °C	Increased antioxidant activity and CFT It showed antimicrobial activity against Gram-negative pathogenic strains such as <i>E.coli</i> and <i>Bacillus cereus</i>	[59]
Whey/Cheese Whey	70 g/L sucrose + 20 g SCOBY + 250 mL cheese whey/milk	32° C for 4 days	Identification of acetic bacteria (Gluconoacetobacter xylinus) and fungi (Saccharomyces cerevisiae and Brettanomyces	[60]

			Bruxelensis, changes in the structure/surface of the colony due to the substrate.	
Zijuan (<i>Camellia sinensis var. kitamura</i>)	1.5 of water + 120 g of sucrose + 9 g of herb infused at 90 °C for 10 minutes Inoculated with 5% starter	28 °C for 14 days	Zijuan Kombucha presented greater sensorial acceptance than traditional ones, as well as having greater antioxidant power due to the presence of catechins and higher concentration of volatile compounds.	[61]
Soy drink (<i>Glycine max.</i>)	5% starter with 10 days of cultivation in 1000 mL of soy drink	28 °C for 4 days 37 °C for 3 days	Formation of isoflavone aglycone by hydrolysis, increase in phenolic compounds and vitamin C, increasing antioxidant potential.	[62]
Soy Whey (<i>Glycine max.</i>)	1:10 (inoculum:soy drink, v/v) For every 100 mL used in the inoculum, 0.39 of crude fat, 0.71 g of protein and 0.39 of ash were obtained.	28 °C for 8 days	6 days of fermentation are the best conditions for elaboration, with excellent antioxidant potential and antimicrobial activity due to the content of aglycone isoflavones and other volatile compounds.	[63]
Coffee (<i>Coffea arabica</i>)	1g of coffee added to every 100 mL of water + 10% sucrose + 3% starter + SCOBY	7 days at 24 °C	High antioxidant potential, increase in α -amylase inhibitory activity during the fermentative process	[13]
Garlic and Vinegar (<i>Allium sativum</i>)	150 g +300 mL of red grape vinegar and left for 1 month.	21 days at 37 °C	Gallic acid increases as the fermentation process progresses, resulting in an	[64]

	10 g of extract + 20 g of sucrose in 1 L and boiled for 5 minutes and cooled for 15 minutes, after which the SCOBY was added		increase in antioxidant potential. Decreased antimicrobial activity (gram-positive bacteria) of garlic extracts is achieved after fermentation.
Mate herb (<i>Illex paraguasiensis</i>)	Erlenmeyer flask (500 mL) was added to 270 mL of the culture medium prepared at the yerba mate concentration established for each test + 5% sucrose + 30 mL of starter	20 °C for 12 days	Drinks with 1% yerba mate at 20°C) and 1% yerba mate at 30°C showed a higher concentration of phenolic compounds and, consequently, greater antioxidant activity. They showed antibacterial activity, being effective in inhibiting the growth of strains of <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Escherichia coli</i> , as well as inhibiting oxidative stress in vivo using the microorganism <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , being able to increase the survival rate of yeast against H ₂ O ₂ as stressor agent.
Savory (<i>Satureja montana</i>) Nettle	1 L of boiling water + Herbs (3 g for elderberries, the others were prepared with 2.26 g) + 70 g of	0, 3, 7 and 10 days of fermentation at 25 °C	These herbs were able to produce a greater metabolic activity than the traditional substrate when analyzing the production of organic

<i>(Urtica dioica)</i>	sucrose, in a 600 mL bottle the substrate		compounds, the herbs showed superior oxidizing power; Peppermint and traditional .	
Serpilho <i>(Thymus serpyllum)</i>	+10% SCOBY were added		Green Tea and Serpilho were the largest that eliminated the DPPH radical. Savory was the greatest that eliminated the hydroxyl radical. In activities against hypertension, all of them have excellent performance, especially elderberry and nettle.	
Elderberry <i>(Sambucus nigra)</i>				
Pepper mint <i>(Mentha piperita)</i>				
Marmelo <i>(Cydonia oblonga)</i>				
Malvaviscus <i>(Malvaviscus arboreus)</i>	Infusions (0.5%, w/v), + sucrose (5.0%, w/v) + SCOBY (2.5%, w/v) + 1.0% (v/v) starter	24±2 °C for 14 days	A good fermented product was produced that showed excellent anti-oxidative potential.	[20]
Corn Silk	5 g of corn silk + 100 mL of boiling water at 100°C for 15 minutes. 500mL of the filtrate + 100g granulated white sugar + 30% of starter	28 °C for 7 days	Production of a drink within the standards for a fermented Kombucha type with a tendency to have good sensory performance	[67]
Papaya <i>(Carica papaya)</i>	10% dry papaya leaves/fruit + 10% sugar + 20% starter, leaving 60% for water.	37 °C for 4 days	2 microorganisms were identified in the study and these microorganisms are pathogen inhibitors	[68]

juices, sweets, and jellies. Acerola cherry is considered a “superfruit” due to its vitamin C and polyphenol content. These compounds have been associated with some biological activities

<i>Porphrya dentata</i> (Waterplant)	50 g of sugar diluted in 1000 mL of water + water extract (60 mL) + 24 g of SCOBY	25 °C for 14 days	Several bioactive compounds were identified, such as total phenolic compounds and flavonoids, even though it presents lower antioxidant activity than traditional Kombuchas, there is a facilitated production of organic compounds	[69]
Mexican oak (<i>Quercus resinosa</i>)	10 g of herbs infused + 1000 mL of water for 10 minutes + 7 and 10 % sucrose + 2.5% and 5% starter	7,9,10 and 11 days at 25 °C and 35 °C	Qualification of several bioactive compounds (organic acids, alcohols, fatty acids, and phenolic compounds), the phenolic content is diverse such as catechins, epicatechins and benzoic acid	[70]
Chrysanthemu ms, Honeysuckle (<i>Chrysanthemu m morifolium</i> and (<i>Lonicera japonica</i>) and fresh mint (<i>Mentha spicata</i>)	1000 mL of boiling water for 10 g of herbs and 50 g of sucrose + 100 mL of inoculum + SCOBY	25 °C for 6 and 12 days of fermentation	Several bioactive compounds were identified in the work that give unique characteristics to each herb, such as alcohols, esters, acids, aldehydes, ketones, and others. The work sensory showed a preference for work herbs than traditional infusions, which may be related to isovaleric acid. Mint-based kombucha received greater approval, being described	[71]

			as the sweetest and most refreshing
Yarrow/Carpenters' Weed (<i>Achillea millefolium</i>)	1.13 and 2.26 g of herbs + 500 mL of boiling water for 15 minutes and 35 g of sucrose + 10% of the inoculum + SCOBY	25 °C for 7 days	Kombucha produced by fermentation in subcritical aqueous extracts showed greater antioxidant activity, but lower antimicrobial and antiproliferative activity compared to products obtained from infusions. Kombucha drinks produced from subcritical aqueous extracts of yarrow had the highest sensory score. [72]
Mastruz (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) added of <i>cupuaçu</i> pulp (<i>Theobroma gradiflorum</i>)	1,6 g of dry herb + 500 mL of water + 50 g of sucrose + 50 mL of starter after cooling + 5% (m/v) of SCOBY	28°C for 7 days in first fermentation process + 2 days in the second fermentation process	The product was accepted in sensorial tests, in drying methods was observed a higher growing of SCOBYs mass and less contamination in kiln route than freeze dryer [73]

related to the reduction of oxidative stress. Just like acerola cherry, by-products from the fruit processing industry also contain a large amount of bioactive compounds, which are quantified by analyzes of the content of phenolic compounds, antioxidant activity and vitamin C by several authors.

Lemon balm (*Melissa officinalis*) is a plant native to south-central Europe, the Mediterranean Basin, Iran, and Central Asia, but now naturalized elsewhere, whose infusion is widely used in the Amazon region for various purposes, for example by women in labor. The main phenolic compounds quantified for Lemon balm were gallic acid, catequins, epicatequins, rutins and coumaric acid[55].

Malvaviscus (*Malvaviscus arboreus*) and mint (*Mentha piperita*) also have their infusions used within Amazonian communities, but they are less popular than lemon balm. Malvaviscus flowers have a percentage of 43% of your compounds being anthocyanins, which are responsible for the characteristic color and for the antioxidant activity of this kombucha, other bioactive compounds are protocatechuic acid, ferulic acid, synapinic acid, myricetin and quercetin[20].

Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and fennel (*Foeniculum vulgare*) are herbs used in the Amazonian community for fevers, dyspepsia, cardiac weakness, hipsterism and nervousness. Nettle (*Urtica dioica*) is used to maintain the circulatory system, being antibacterial and diuretic depurative. Peppermint is also used in the region as an antispasmodic and used extensively in products due to the menthol and triptene derivatives[56,66].

Papaya fruit (*Carica papaya*) has been target of researches in the Amazon region, initiated by the Brazilian Agricultural Research Corporation (EMBRAPA - *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária* in Portuguese), which aims to adapt the technological, production, nutritional and sensorial quality of Brazilian fruits to the international scenario, increasing competitiveness of Brazil abroad [68]. *Chenopodium ambrosioides* L is also planted and harvested in the Amazon region and is popularly known for its anthelmintic action and for flu treatments, studies report on the biological activities for this species, such as antitumor, antipyretic and analgesic, antifungal, anthelmintic and leishmanicidal [73].

Therefore, among all the alternative substrates listed in Table 1, approximately 27% are easily found in the Amazonia and they were used successfully to produce kombucha-type products even though they are not native from this biome.

Considering all the phytochemical differences among the potential alternative plants to produce kombucha-type products, not every substrate will present the same composition, biological potential or sensory characteristics after subjected through fermentation. For instance, depending on the bioactive compounds composition, one substrate may exhibit higher microbial activity than antioxidant capacity and vice-versa, while another one may show hypolipidemic or glycemic properties. Thus, all the potential health benefits observed for each new substrate do not exclude the results obtained from the others, reiterating the need to develop systematic studies on alternative substrates, including the sensory acceptance by kombucha consumers.

Regarding studies related to the potential health benefits of kombucha-type products in the selected articles, we observed that 21 papers reported the antioxidant capacity determination , and most of them (78%) were carried out by scavenging the DPPH radical, which is a synthetic

and stable free radical not existing in the physiological system. Other antioxidant capacity assays commonly used by the scientific community seem to be scarce, such as the scavenging capacity against ABTS radical, which is another synthetic and stable free radical not found in the physiological system. Mendonça et al. [74] pointed out 15 articles reporting antioxidant capacity results as the main approach among 18 articles, and 7 presented antimicrobial assays. However, to the best of our knowledge, the evaluation of the antioxidant potential of kombucha or kombucha-type drinks concerning the scavenging capacity against reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) of physiological and food relevance was not yet reported in the literature. This fact suggests the need for more in-depth systematic studies to increase understanding about the antioxidant potential of this type of fermented food.

To confirm not only the effects of traditional kombuchas, but also those of analogues that contain alternative substrates in their composition, existing *in vitro* and *in vivo* studies have been growing increasingly [75]. By 2020, approximately 98 clinical evidences of these studies were quantified, in which biological activities were analyzed in experimental tests to check the allegation efficiency.

Antioxidant assays were presented in approximately 6 *in vivo* and 3 *in vitro* assays; immuno-modulatory activities were presented in approximately 4 *in vitro* assays; antitumor drugs were presented in 8 clinical evidence studies; hypolipidemic activities were presented in 4 *in vivo* trials; hypertension control activities were presented in a clinical trial with humans; activities related to glycemia were reported in approximately 3 *in vivo* and 6 *in vitro* studies; antimicrobial trials were in 2 *in vivo* studies; and neuroprotective activities were reported in 2 *in vivo* assays and 2 *in vitro* assays[75].

Based on the studies with clinical evidences quantified by 2020, trials with mint, peppermint, lemon balm and nettle participate in this survey with *in vitro* and *in vivo* studies, the substrates from Amazonian origin did not represent 5% of the clinical studies with kombuchas.

In general, the percentage of studies with new alternative substrates is lower than studies carried out with traditional infusions. Therefore, *in vitro* and *in vivo* investigations are of paramount importance to strengthen the association of bioactive compounds with the claimed biological effects associated with health, in addition to the bioaccessibility and bioavailability determination for these compounds in each biological effect evaluated.

Eight articles selected for this integrative review evaluated the production of organic acids by the SCOBY, the mainly acids reported were ascorbic, acetic and glucuronic, the main conclusion was that they have action in biological properties as hepaprotective effect, but the

hardest part is associate clearly the biological effect to one of the organic acids as glucuronic in case of hepaprotective effect due the lack of studies that can prove that without margin of error [76].

Several studies with various substrates in addition to the traditional ones, such as berries and lemon balm, which listed organic acids such as acetic, glucuronic, oxalic, formic, succinic, citric, and malic were also present in amazon region and have been explored in these last few years. The identification of the microorganisms present in the SCOBY, as well as the metabolic biotransformation pathways already identified in Kombucha also need continuous studies to understand the production of these organic acids. This type of approach would make us understand and predict the composition and biological potential of bioactive compounds containing in the ready-made drink at the time of consumption.

Nine articles evaluated the antimicrobial activity, most of them by the inhibition halo assay. The antimicrobial inhibition was attributed to the production of organic acids during fermentation as well as the phenolic compounds found in the substrate, such as catechins. As an example, one *in vitro* study in 2018 used yarrow (*Achilea millefolium*) as substrate and observed an inhibitory effect not only on pathogenic microorganisms, but on cancer cells such as rhabdomyosarcoma, which is derived from cervical carcinoma, and rodent fibroblast cells [72].

In the literature, the kombucha made with *C. sinensis* showed positive results against *S. aureus*, while black tea was able to inhibit the growth of *E. coli*, and the ones made with alternative substrates, such as lemon balm, red grape juice and garlic also showed inhibition against Gram Positive bacteria and *S. aureus* [74]

One article monitored the biofilm formed by the SCOBY using the SEM (Scanning Electron Microscopy) method, and concluded that the substrate prepared with residues of acerola cherries stimulated the formation of new SCOBYs that exceeded expectations, thus, requiring further studies that lead to new substrate characterization [52].

Other examples of reported biological property were also observed for kombucha analogues such as the inhibition of acetylcholinesterase and xanthine oxidase, while 2 articles showed the cytotoxic activity,. Another study evaluated the performance of anti- α -glucosity and anti- α -amylase agents, 2 articles evaluated the inhibitory activity of starch hydrolase

Three articles selected to construct this review presented only physical-chemical characterizations as pH values, titratable acid content, Brix value, sugars and ethanolic content; which is extremely important, as it is through physical-chemical evaluations that the safety of

ingesting the drink can be attested and correlate the effects to the bioactive compounds found in each substrate used.

Fermented drinks are known to regulate the gut microbiota and establish inhibitory competition with pathogens, both due to the acids produced during the fermentative processes and the microbial activity of the drink. Among the 9 articles that evaluated this activity, the main microorganisms inhibited were *B. cereus*, *S. typhimurium*, *E. coli* and *S. aureus*.

The microbiological inhibitions studied in kombucha have their limitations, even though the fermented product influences many pathogens, studies in the area present a variability of results in relation to the microorganism exposed to the inhibitory action, that is, the studies will not always test the inhibition in the same microorganism.

However, the type of substrate and concentrations of them or their extracts for observing this microbial activity also differ. These limitations are not necessarily negative, as they corroborate the inclusion of more substrates that demonstrate inhibition to pathogens that have not yet been inhibited by existing substrates.

In view of the above, it appears that studies with Kombucha and the development of alternative substrates present many variables to be considered when investigating the functional aspect of the drink. This variability concerns the microorganisms present in the SCOBY, the fermentation conditions, and the phytochemical composition of the different substrates. Furthermore, the content of bioactive compounds may change during the process, modulating the potential biological properties.

Regarding kombucha-type products produced with alternative substrates to the market, and the inclusion of these new substrates in the production line, only about 23% of the selected articles addressed sensory acceptance tests. Importantly, the development of new food products with functional claims also need to present desirable sensory characteristics to encourage frequent consumption and the adoption of healthier habits. Given that the global and Brazilian market is still popularizing kombucha, there is a need of additional studies comprising the economic sector in which this drink fits and bring about the inclusion of these alternative substrates, increasing the variety in the market and availability.

The alternative substrates native or adapted in the Amazonia biome are already present in the data collection with results that require continuity. As already stated, the development of these new food products stimulates the valorization of the production chain of underutilized raw materials, moving the national bioeconomy.

5. Conclusion

The following review shows that there is a growing increase in the development of fermented drinks analogous to kombucha, with alternative substrates and with the participation of substrates considered Amazonian or present in the region, bringing 28 examples of research and that these 37 new drinks exhibit some unique characteristic of the infusion traditional, such as the increase in antioxidant capacity, mainly because of the fermentation stage. Alternative substrates confer antimicrobial activity, which varies according to the pathogen, substrate, and concentration, and in addition to this property, much research has been carried out addressing the drink's modulation of enzymatic activities of physiological relevance, some of the examples of results that confer some of these aspects with greater potential than traditional infusions are the residue of acerola, lemon balm and African mustard.

Among the many aspects that require systematic investigation to better understand the functional potential of the drink, we can mention several gaps to be filled, such as studies to determine the profile of bioactive compounds, as well as the determination of the antioxidant potential (*in vitro* and *in vivo*) in the deactivation of reactive species of physiological relevance, enzymatic modulation, action of bioactive compounds and the presence of SCOBY microorganisms in the intestinal microbiota, and clinical intervention studies of the effect of drinking the drink on biomarkers of chronic non-degenerative diseases. Furthermore, regarding the technological approach, both the control and standardization of the beverage production process and the sensory acceptance approach need to work together, without which it becomes unfeasible for alternative substrates to become commercially competitive when compared to traditional substrates.

Author Contributions: V.C.B. designed, analyzed the data and wrote the manuscript. V.A.B. contributed to the analysis of the results and to the writing of the manuscript. R.C.C. designed the experiments and contributed to the analysis of the results and to the writing of the manuscript. All authors provided critical feedback. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq, Brazil, Projects 408181/2021–4 and 314929/2021–5).

Acknowledgments: The authors acknowledgment Federal University of Pará (UFPA); Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA/UFPA); Programa de Apoio à Publicação Qualificada (PAPQ)—Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (PROPESP/UFPA); and *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (finance code 001).

Data Availability Statement: Data is contained within the article.

Conflicts of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

References

1. de Miranda, J. F., Ruiz, L. F., Silva, C. B., Uekane, T. M., Silva, K. A., Gonzalez, A. G. M., Fernandes, F. F., & Lima, A. R. Kombucha: A review of substrates, regulations, composition, and biological properties. *J Food Sci.* **2022** .87, 503–527. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16029>
2. Kim, J.; Adhikari, K. Current Trends in Kombucha: Marketing Perspectives and the Need for Improved Sensory Research. *Beverages* **2020**, *6*, 15. <https://doi.org/10.3390/beverages6010015>
3. Barros, V. C.; Freitas, A. C. . Perfil de Consumidores de Kombucha no Brasil e no Mundo: Revisão. In: VIII Congresso Virtual de Agronomia - CONVIBRA, 2020. *VIII Congresso Virtual de Agronomia - CONVIBRA*; Eixo: Tecnologia de Alimentos, **2020**.
4. Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics, *International Journal of Food Microbiology*, **2016** ,Volume 220, Pages 63-72, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015>.
5. Dufresne C., Farnwoth E. Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Research International*, **2000**,33(6): 409-21. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00067-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00067-3).
6. Martínez-Leal, J., Ponce-García, N. & Escalante-Aburto, A. Recent Evidence of the Beneficial Effects Associated with Glucuronic Acid Contained in Kombucha Beverages. *Curr Nutr Rep*, **2020**, *9*, 163–170. <https://doi.org/10.1007/s13668-020-00312-6>
7. Gramza-Michałowska, A., Kulczyński, B., Xindi, Y., & Gumienna, M.. Research on the effect of culture time on the kombucha tea beverages antiradical capacity and sensory value. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, **2016**,15(4), 447-457. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2016.4.43>
8. Jayabalan, R., Malbaša, R.V., Lončar, E.S., Vitas, J.S. and Sathishkumar, M.A Review on Kombucha Tea—Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **2014**,13: 538-550. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>
9. Srihari, T., Karthikesan, K., Ashokkumar, N., & Satyanarayana, U. Antihyperglycaemic efficacy of kombucha in streptozotocin-induced rats. *Journal of Functional Foods*, **2013**,5(4), 1794-1802.
10. Četojević-Simin, D.D., Velićanski, A.S., Cvetković, D.D. et al. Bioactivity of Lemon Balm Kombucha. *Food Bioprocess Technol*, **2012**, *5*, 1756–1765. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0458-6>
11. Wang, Y., Ji, B., Wu, W., Wang, R., Yang, Z., Zhang, D. and Tian, W. Hepatoprotective effects of kombucha tea: identification of functional strains and quantification of functional components. *J. Sci. Food Agric.*, **2014**, *94*: 265-272. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6245>
12. Kozyrovska, N. O., Reva, O. M., Goginyan, V. B., & De Vera, J. P. Kombucha microbiome as a probiotic: a view from the perspective of post-genomics and synthetic ecology. *Biopolymers and Cell*, **2012**. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000034>
13. Watawana, M. I., Jayawardena, N., & Waisundara, V. Y. Enhancement of the Functional Properties of Coffee Through Fermentation by “Tea Fungus” (Kombucha). *Journal of Food Processing and Preservation*, **2015** ,39(6), 2596-2603. <https://doi.org/10.1155/2015/591869>
14. Vázquez-Cabral, B.D., Larrosa-Pérez, M., Gallegos-Infante J.A., Moreno-Jiménez M.R., González-Laredo R.F., Rutiaga-Quiñones J.G, Gamboa-Gómez C.I., Rocha-Guzmán N.E., Oak kombucha protects against oxidative stress and inflammatory processes, *Chemico-Biological Interactions*, **2017**, Vol. 272, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.05.001>.
15. Jayabalan, R., Malbaša, R. V., & Sathishkumar, M. Kombucha. Reference Module in Food Science. **2016**. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.03032-8>
16. Fergunson, B., & Estelle, A. Benefits of Kombucha. **1998**. Available in <http://bawue.de/~kombucha/benefits.html>
17. Full Circle Press. Kombucha tea culture - The ancient rejuvenating health drink, **1998**.

18. Allen, C. M. Past research on Kombucha tea. *The Kombucha FAQ Part 6*. Research and tests results, **1998**.
19. Cardoso, R.R., Neto, R.O., Dos Santos D'Almeida, C.T., do Nascimento, T.P., Pressete, C.G., Azevedo, L., Martino, H.S., Cameron, L.C., Ferreira, M.S., & Barros, F.A. Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food research international*, **2020**,128, 108782. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108782>
20. Silva, K. A., Uekane, T. M., de Miranda, J. F., Ruiz, L. F., da Motta, J. C. B., Silva, C. B., ... & Lima, A. R. Kombucha beverage from non-conventional edible plant infusion and green tea: Characterization, toxicity, antioxidant activities and antimicrobial properties. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, **2021**,34, 102032.
21. Morales, M. E. V. Estandarización del proceso de fermentación y evaluación sensorial de una bebida tipo kombucha utilizando infusiones herbales. **2021**
22. PORTS, P. S. ; Chisté, RC ; GODOY, H. T. ; PRADO, MA . The phenolic compounds and the antioxidant potential of infusion of herbs from the Brazilian Amazonian. *Food Research International*, **2013**, 53, 875-881. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.010>
23. França, F. V. C. Compostos bioativos de frutas amazônicas e suas utilizações: revisão integrativa, **2022**.
24. Bhardwaj, R.; Pareek, S.; Sagar, N. A.; Vyas, N. Bioactive Compounds of Annona. *Bioactive Compounds in Underutilized Fruits and Nuts*, p. 37-62, **2020**.
25. Fernández, I. M. Bioprospecção de frutas cultivadas na Amazônia com potencial de compostos bioativos, capacidade antioxidante e estudos microbiológicos. 233 f., **2019**.
26. Homma, A. K. O., & Homma, A. K. O. Extrativismo vegetal na Amazônia: história, ecologia, economia e domesticação, 2014.
27. AVILA-SOSA, R., MONTERO-RODRÍGUEZ, A. F., AGUILAR-ALONSO, P., Vera-López, O., Lazcano-Hernández, M., Morales-Medina, J. C., & Navarro-Cruz, A. R. Antioxidant properties of Amazonian fruits: a mini review of in vivo and in vitro studies. *Oxidative medicine and cellular longevity*, **2019**.
28. Lorenzi, H.; Matos, F. J. A. Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 512 p, **2008**.
29. Qureshi, Muhammad Nasimullah, Guenther Stecher, and Guenther Karl Bonn. "Determination of total polyphenolic compounds and flavonoids in Matricaria chamomilla flowers." *Pak. J. Pharm. Sci* 32.5 (2019): 2163-2165.
30. André M. Marques, D. William Provance, Maria Auxiliadora C. Kaplan, Maria Raquel Figueiredo, *Echinodorus grandiflorus*: Ethnobotanical, phytochemical and pharmacological overview of a medicinal plant used in Brazil, *Food and Chemical Toxicology*, Volume 109, Part 2, 2017, Pages 1032-1047
31. Ghafoori, H., R. Sariri, and M. R. Naghavi. "Study of effect of extraction conditions on the biochemical composition and antioxidant activity of Artemisia absinthium by HPLC and TLC." *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 37.11 (2014): 1558-1567.
32. Gomes, A. L. S., et al. "Aqueous extraction methods influence on the total phenolic and flavonoid contents and antioxidant capacity of carqueja infusions." In: *LATIN AMERICAN SYMPOSIUM OF FOOD SCIENCE*, 12., 2017, Campinas, SP. Anais... Campinas, SP: UNICAMP, 2017., 2017.
33. Nascimento, L. E. S., Arriola, N. D. A., da Silva, L. A. L., Faqueti, L. G., Sandjo, L. P., de Araújo, C. E. S., ... & Amboni, R. D. D. M. C. Phytochemical profile of different anatomical parts of jambu (*Acmella oleracea* (L.) RK Jansen): A comparison between hydroponic and conventional cultivation using PCA and cluster analysis. *Food Chemistry*, 2020 , 332, 127393.
34. Rodrigues, E. T., Peretti, P., Bezerra, R. M., Biancardi, M. F., Sousa, F. F., Mendes, E. P., ... & Pinheiro, M. T. (2023). Pharmacological Characteristics of the Hydroethanolic Extract of *Acmella oleracea* (L) RK Jansen Flowers: ADME/Tox In Silico and In Vivo Antihypertensive and Chronic Toxicity Evaluation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2023..

35. Scherer, Rodrigo; Godoy, Helena Teixeira. Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food chemistry*, v. 112, n. 3, p. 654-658, 2009.
36. Kombucha Brewers International—An Association of Commercial Kombucha Brewers. Available online: <https://kombuchabrewers.org/>
37. Kombucha reforça o pilar de inovação da marca Campo Largo – Agora, Terra. Available online: <https://www.terra.com.br/noticias/kombucha-reforca-o-pilar-de-inovacao-da-marca-campo-largo,5a0c1bfc6955086c23f9d10670029ce511xzfwwz.html>
38. Produção de Kombucha se multiplica no Brasil – Portal do Agronegócio, 2018. Available online: <https://www.portaldoagronegocio.com.br/agroindustria/processamento/noticias/producao-de-kombucha-se-multiplica-no-brasil-177446>
39. Suhre, T. Kombuchas produzidas e comercializadas no Brasil: características físicoquímicas e composição microbiana. Dissertação apresentada ao Programa de PósGraduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos como um dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Porto Alegre, **2020**.
40. GRAND VIEW RESEARCH. Kombucha Market Size, Share & Trends Report, 2022- 2030. Available in : <https://www.grandviewresearch.com/industryanalysis/kombucha-market>, access in June 2022.
41. Cloke; Charlotte, *FUNCTIONAL AND MEDICINAL BEVERAGES* Volume 11: The Science of Beverages, 2019.
42. Marconi, M. A; Lakatos, E. M. Fundamentos da Metodologia Científica. São Paulo: Editora Atlas, **2003**.
43. Whittemore, R., & Knafl, K. The integrative review: updated methodology. *Journal of advanced nursing*, **2005**, 52(5), 546-553. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2648.2005.03621.x> .
44. Santos, C. M. da C., Pimenta, C. A. de M., & Nobre, M. R. C. The PICO strategy for the research question construction and evidence search. *Revista Latino-americana De Enfermagem*, **2007**, 15(3), 508–511. <https://doi.org/10.1590/S0104-11692007000300023>
45. Vassão, F. V., Barbosa, L. R., Moraes, G. M. D., & Domenico, E. B. L. D. Approach to sexuality in the care of cancer patients: barriers and strategies. *Acta Paulista de Enfermagem*, **2018**, 31, 564-571.
46. Silva, Q. C. G. da et al. Risk factors for mediastinitis after coronary artery bypass grafting surgery: An integrative review. *Reme: Revista Mineira de Enfermagem*, **2015**, v. 19, n. 4, p. 1.015-1.022.
47. Rodrigues, R. D. S., Machado, M. R. G., BARBOZA, G., Soares, L. S., Heberle, T., & Leivas, Y. M. *Características físicas e químicas de Kombucha à base de chá de Hibisco (Hibiscus sabdariffa, L.)*. ANAIS. **2018**
48. Januário, J. B., Moreira, B. R., Paraiso, C. M., Mizuta, A. G., & Madrona, G. S. Kombucha à base de Hibiscus sabdariffa L: avaliação tecnológica para produção de uma nova bebida. *Brazilian Journal of Development*, **2020**, 6(1), 3720-3732.
49. Abuduaibifu, A., & Tamer, C. E. Evaluation of physicochemical and bioaccessibility properties of goji berry kombucha. *Journal of Food Processing and Preservation*, **2019** ,43(9), e14077
50. Ayed, L., Abid, S. B., & Hamdi, M. Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. *Annals of microbiology*, **2017**, 67(1), 111-121
51. Leonarski, E. Produção de bebida tipo kombucha e celulose bacteriana utilizando subproduto da acerola como matéria-prima, **2020**
52. Schroeder, J. Kombucha fermentada a partir de resíduo de acerola, **2019**.
53. Hrnjez, D.; Vukic, V.; Milanovic, S.; Ilicic, M.; Kanuric, K.; Torbica, A.; Tomic, J.. Nutritive aspects of fermented dairy products obtained by kombucha application. *Agro Food Ind Hi Tech*, **2014**, v. 25, p. 70-73.
54. Gaggia, F.; Baffoni, L.; Galiano, M.; Nielsen, D.S.; Jakobsen, R.R.; Castro-Mejía, J.L.; Bosi, S.; Truzzi, F.; Musumeci, F.; Dinelli, G.; et al. Kombucha Beverage from Green, Black and Rooibos Teas: A Comparative Study Looking at Microbiology, Chemistry and Antioxidant Activity. *Nutrients* **2019**, 11, 1. <https://doi.org/10.3390/nu11010001>

55. Velićanski, A. S., Cvetković, D. D., Markov, S. L., Tumbas Šaponjac, V. T., & Vulić, J. J. Antioxidant and antibacterial activity of the beverage obtained by fermentation of sweetened lemon balm (*Melissa officinalis* L.) tea with symbiotic consortium of bacteria and yeasts. *Food Technology and Biotechnology*, **2014**, 52(4), 420–429.
56. Houada Battikh, Amina Bakhrouf, Emna Ammar. Antimicrobial effect of Kombucha analogues, *LWT - Food Science and Technology*, **2012**, Volume 47, Issue 1.
57. Rahmani, R., Beaufort, S., Villarreal-Soto, S. A., Taillandier, P., Bouajila, J., & Debouba, M. Kombucha fermentation of African mustard (*Brassica tournefortii*) leaves: Chemical composition and bioactivity. *Food Bioscience*, **2019**, 30, 100414.
58. Zubaidah E, Dewantari FJ, Novitasari FR, Srianta I, Blanc PJ. Potential of snake fruit (*Salacca zalacca* (Gaerth.) Voss) for the development of a beverage through fermentation with the Kombucha consortium. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. **2018**, 2018;13:198–203. doi: 10.1016/j.bcab.2017.12.012
59. Ayed, L., & Hamdi, M. Manufacture of a beverage from cactus pear juice using “tea fungus” fermentation. *Annals of Microbiology*, **2015**, 65(4), 2293-2299. <https://doi.org/10.1007/s13213-015-1071-8>
60. Belloso-Morales, Genette, and Humberto Hernández-Sánchez. "Manufacture of a beverage from cheese whey using a" tea fungus" fermentation." *REVISTA LATINOAMERICANA DE MICROBIOLOGIA-MEXICO*- 45.1/2 (2003): 5.
61. Chun Zou, C. Zou, Ru-Yi Li, R. Li, Jian-Xin Chen, J. Chen, Fang Wang, F. Wang, Ying Gao, Y. Gao, Yan-Qing Fu, Y. Fu, Yong-Quan Xu, Y. Xu, & Jun-Feng Yin, J. Yin. Zijuan tea- based kombucha: Physicochemical, sensorial, and antioxidant profile. *Food chemistry*, **2021**, 363, 130322. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130322.
62. Xia, X., Dai, Y., Wu, H., Liu, X., Wang, Y., Yin, L., ... & Zhou, J. Kombucha fermentation enhances the health-promoting properties of soymilk beverage. *Journal of Functional Foods*, **2019**, 62, 103549.
63. Tu, C., Tang, S., Azi, F., Hu, W., & Dong, M. Use of kombucha consortium to transform soy whey into a novel functional beverage. *Journal Of Functional Foods*, **2019**, [s.l.], v. 52, p.81-89. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff>
64. Pure, A. E., Mofidi, S. M. G., Keyghobadi, F., & Pure, M. E. Chemical composition of garlic fermented in red grape vinegar and kombucha. *Journal of Functional Foods*, **2017**, 34, 347-355.
65. Lopes, D. R.. Obtenção e avaliação de extratos de erva mate (*Ilex paraguariensis*) fermentados com a cultura simbiótica kombucha / Danielle Rubim Lopes, **2019**.
66. Vitas, J., Vukmanović, S., Čakarević, J., Popović, L., & Malbaša, R. Kombucha fermentation of six medicinal herbs: Chemical profile and biological activity. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, **2020**, 26(2), 157-170.
67. Zhiwen, W., Yijiao, S., Xianhua, M., Kai, L., & Fahu, Y. Production and characterization of a novel beverage from maize silk through fermentation with kombucha consortium. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **2021**, (Vol. 792, No. 1, p. 012053). IOP Publishing.
68. Sharifudin, S. A., Ho, W. Y., Yeap, S. K., Abdullah, R., & Koh, S. P. Fermentation and characterisation of potential kombucha cultures on papaya-based substrates. *LWT*, **2021**, 151, 112060
69. Aung, T., & Eun, J. B. Production and characterization of a novel beverage from laver (*Porphyra dentata*) through fermentation with kombucha consortium. *Food Chemistry*, **2021**, 350, 129274.
70. Vázquez-Cabral, B. D., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., González-Herrera, S. M., González-Laredo, R. F., Moreno-Jiménez, M. R., & Córdova-Moreno, I. T. Chemical and sensory evaluation of a functional beverage obtained from infusions of oak leaves (*Quercus resinosa*) inoculated with the kombucha consortium under different processing conditions. *Nutrafoods*, **2014**, 13(4), 169-178.)

71. Zhang, J., Van Mullem, J., Dias, D. R., & Schwan, R. F. The chemistry and sensory characteristics of new herbal tea-based kombuchas. *Journal of Food Science*, **2021**,86(3), 740-748.
72. Vitas, J. S., Cvetanović, A. D., Mašković, P. Z., Švarc-Gajić, J. V., & Malbaša, R. V. Chemical composition and biological activity of novel types of kombucha beverages with yarrow. *Journal of functional foods*, **2018**,44, 95-102.
73. Barros, V. C.; Freitas, A. C. . Biotecnología alimentaria: Desarrollo de nuevos productos. 1. ed. Beau Bassin: *Editorial Académica Española*, 2021. v. 1. 84p .
74. Mendonça, G. R., Pereira, A. L. F., Ferreira, A. G. N., Neto, M. S., Dutra, R. P., & Abreu, V. K. G. Propriedades antioxidantes e efeitos antimicrobianos da Kombucha: revisão da evidência científica. *Revista Contexto & Saúde*, **2020**,20(40), 244-251.
75. MORALES, DIEGO. "BIOLOGICAL ACTIVITIES OF KOMBUCHA BEVERAGES: THE NEED OF CLINICAL EVIDENCE." *TRENDS IN FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY* 105 (2020): 323-333.
76. Martínez-Leal, Jessica, Nestor Ponce-García, and Anayansi Escalante-Aburto. "Recent evidence of the beneficial effects associated with glucuronic acid contained in kombucha beverages." *Current nutrition reports* 9 , **2020**,: 163-170.

CAPÍTULO 3

TIPO DE CAPÍTULO: Experimental

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA FERMENTADA ANÁLOGA A KOMBUCHA A
BASE DE INFLORESCÊNCIAS DE JAMBU (*Acmella oleracea*), E
MONITORAMENTO DE COMPOSTOS BIOATIVOS**

**Manuscrito em preparação para ser submetido em periódico indexado da área de
“Ciência de Alimentos”.**

Desenvolvimento de bebida fermentada análoga a kombucha à base de inflorescências de jambu (*Acmella oleracea*), e monitoramento de compostos bioativos

Vinicius Costa Barros^a, Vanessa Albres Botelho^b, Renan Campos Chisté^{a,b}

^aGraduate Program of Food Science and Technology (PPGCTA), Institute of Technology (ITEC), Federal University of Pará (UFPA), 66075-110, Belém, Pará, Brazil.

^bFaculty of Food Engineering, Institute of Technology, Federal University of Pará (UFPA), 66075-110, Belém, Pará, Brazil.

RESUMO

A kombucha é um produto fermentado que está em crescente expansão em relação ao seu consumo e no avanço de suas pesquisas devido as alegações de seus benefícios correlacionados a saúde, provenientes de seus compostos gerados na fermentação. Sendo assim, a seguinte pesquisa visou corroborar com esses avanços ao elaborar um análogo ao fermentado utilizando o jambu (*Acmella oleracea*) como substrato. Assim foi desenvolvido três formulações da bebida em que na primeira etapa foram monitorados durante 7 dias os valores de pH, acidez total, SST, açúcares totais e redutores, capacidade antioxidante além dos compostos fenólicos e flavonoides, após o produto pronto foi observado os mesmos valores da primeira fermentação adicionados de acidez volátil, fixa, densidade, perfil de compostos fenólicos, análises microbiológicas e sensoriais. Os produtos elaborados apresentam o padrão regulamentado para kombuchas de acordo com a IN^o49 do MAPA, os produtos foram microbiologicamente seguros, a formulação 75% foi a de maior aceitação sensorial assim como potencial de compra, os resultados foram satisfatórios tendo em vista que foi um grande público, durante a primeira fermentação a

formulação 50% teve o melhor desempenho para compostos fenólicos, flavonoides e capacidade antioxidante, sendo necessário novos estudos de estabilidade desses compostos para serem disponíveis nos produtos prontos.

Palavras-Chaves: Kombucha, Jambu , Compostos Bioativos

1. INTRODUÇÃO

A fermentação é um dos métodos mais antigos de preservação de alimentos. É também um sistema de conservação de energia de baixo custo, que é essencial para garantir a segurança dos alimentos. Muitas mudanças bioquímicas ocorrem durante a fermentação e podem afetar os nutrientes e conseqüentemente as propriedades do produto, como a atividade biológica e a digestibilidade. Recentemente, este bioprocessamento tem sido aplicado para a produção e extração de compostos bioativos de plantas em indústrias de alimentos e bebidas (Villareal-Soto et al., 2018; Hur et al., 2014).

A kombucha é uma bebida fermentada da simbiose entre bactérias e fungos, de sabor marcante na qual seu consumo traz benefícios à saúde, e isso vem sendo explorado atualmente contra doenças conhecidas como câncer, problemas cardiovasculares além de melhorar o funcionamento do sistema imunológico e digestório (Jayabalan, 2011).

Nas últimas décadas, foi observada uma explosão na sua popularidade, especialmente nos Estados Unidos, onde atualmente existe um mercado bem estabelecido deste produto. No Brasil esta bebida começou a ser consumida de forma artesanal, por pessoas que se interessaram em desenvolver a bebida em casa. Há cerca de três anos, algumas indústrias de pequeno porte começaram a produzir a bebida, para venda em mercados regionais (Santos, 2016). Sendo um mercado em pleno desenvolvimento e estudos também relataram que embora esta bebida seja preparada originalmente a partir de chá de *Camelia sinensis*, é possível encontrar variações utilizando outras matérias-primas base nas quais a cultura simbiótica se desenvolve adequadamente, mesmo sem a presença de cafeína e que o uso de infusões de outras plantas pode ser uma alternativa promissora (Barros & Freitas, 2020).

Dessa forma, a proposta da pesquisa foi elaborar uma bebida fermentada com um novo substrato de caráter amazônico, foi escolhido o jambu por ser uma matéria-prima típica amazônica e cultural da região norte e utilizada em bebidas, nas formulações desenvolvidas foram analisados aspectos físico-químicos, microbiológicos, sensoriais e de compostos bioativos para assim se ter um produto que corrobore com os novos avanços de pesquisas com kombuchas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Todos os experimentos foram realizados nas dependências do Laboratório de Ciência, Tecnologia e Engenharia de Alimentos (LCTEA) da Faculdade de Engenharia de Alimentos e do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) do Instituto de Tecnologia (ITEC) da Universidade Federal do Pará (UFPA).

2.1. Coleta do material

As flores de jambu (*Acmella oleracea*) foram adquiridas (2 kg por lote) diretamente de produtor (agricultura familiar), no município de Santa Izabel do Pará, Pará (1°17'53,99"S e 48°09'37,82"W). O acesso às plantas de jambu foi registrado no Sistema Nacional Brasileiro de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimentos Tradicionais Associados (SisGen, A56F240). As flores foram separadas manualmente por estágio de maturação, danos físicos e microbiológicos, e armazenadas sob refrigeração (6-10 °C) em embalagens a vácuo. Logo após, as flores foram higienizadas em solução de hipoclorito de sódio (100 mg/L) por 15 min, e tratadas para posterior desidratação do material para o preparo das infusões.

2.2. Produção das diferentes formulações de kombucha e bebida análoga à kombucha

Neste documento de dissertação de Mestrado, a descrição detalhada do processo de produção da bebida fermentada à base de 100% de inflorescências de jambu, e das demais formulações não será descrita com detalhes, pois compõem uma patente de invenção depositada pelos autores no Instituto Nacional da Propriedade Intelectual (INPI) (BR 10 2023 016051 4). Apenas as informações de conhecimento geral do processo serão disponibilizadas.

Brevemente, as flores de jambu frescas foram desidratadas em estufa. Após o período de desidratação, as flores embaladas a vácuo em sacos de polietileno e armazenadas em temperatura ambiente (25 °C), resguardadas de umidade, até o momento de utilização. Para a infusão de inflorescências de jambu, a água foi aquecida até determinada temperatura, seguida da adição de uma determinada proporção de sacarose, e adicionada das inflorescências de jambu, conforme as formulações da Tabela 1. Tais condições foram determinadas através de ensaios preliminares para a obtenção de uma bebida pronta para o consumo, em que a sensação de dormência bucal fosse detectada, além de ser palatável.

Tabela 1: Quantidades referentes a cada formulação para os fermentados

FORMULAÇÕES	PORCENTAGEM (%)
1	0% <i>Camellia Sinensis</i> e 100% Jambu
2	25% <i>Camellia Sinensis</i> e 75% Jambu
3	50% <i>Camellia Sinensis</i> e 50% Jambu
4	75% <i>Camellia Sinensis</i> e 25% Jambu
Controle	100% <i>Camellia Sinensis</i>

Após o preparo das infusões, as bebidas seguiram para a primeira fermentação. Neste estudo, o SCOBY comercial selecionado para a realização da fermentação das infusões de flor de jambu foi adquirido pela White Labs® (Califórnia, Estados Unidos), com composição conhecida, informada pelo fabricante:

Bactérias: *Bacillus sp. licheniformis*, *Bacillus sp. cereus*, *Bacillus sp. pumillus/aerophilus/safensis/altitudinis*, *Acetobacter tropicalis*, *Bacillus sp. aerophilus*, *Bacillus sp. aryabhattai*, *Gluconacetobacter saccharivorans*, *Micrococcus sp.*, *Gluconacetobacter rhaeticus*, *Paenibacillus taichungensis*, *Bacillus sp. subtilis*.

Leveduras

Brettanomyces bruxellensis, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces sp.*, *Candida sp.*

O SCOBY comercial foi acondicionado em seu *starter* devidamente lacrado, até o momento de inoculação nas infusões. Os discos de SCOBY, em determinada proporção

em relação às infusões, foram inoculados em frascos contendo a infusão, conforme as formulações descritas na Tabela 1, juntamente com uma determinada porcentagem da solução *starter*, e mantidos à uma determinada temperatura durante o período da primeira fermentação.

A 1ª etapa da fermentação para a produção das bebidas fermentadas foi conduzidas por 7 dias à temperatura ambiente (25°C). Os frascos de vidro foram cobertos com tecidos porosos permeáveis ao oxigênio para impedir a entrada de sujidades do ambiente, permitindo a condução de uma fermentação semi-anaeróbia. Alíquotas das infusões foram retiradas no decorrer do processo fermentativo, com intervalos de 1 dia, para o monitoramento das características físico-químicas, teores de compostos bioativos e determinação da capacidade antioxidante. O monitoramento foi realizado em triplicata.

Após a conclusão da 1ª fermentação, os discos de SCOBY foram removidos dos frascos de vidro e o líquido fermentado foi transferido para garrafas de vidro, adicionadas de uma determinada porcentagem adicional de sacarose, valor obtido também a partir de testes preliminares para a obtenção de carbonatação suficiente no produto.

As garrafas foram recravadas com tampas para impedir a saída do CO₂ oriundo da fermentação, e acondicionadas durante um tempo determinado para proceder a carbonatação do produto. Após a etapa da 2ª fermentação, a bebida produzida pronta para o consumo foi armazenada sob refrigeração (5 °C), até o momento de realização das análises físico-químicas, avaliação de compostos bioativos, capacidade antioxidante, microbiológicas e sensoriais.

2.3. Determinação das características físico-químicas das infusões e das bebidas fermentadas

2.3.1. pH

Os valores de pH foram determinados por medida direta em potenciômetro de bancada (Kasvi, modelo K39-1410A , Paraná, Brasil), após calibração do eletrodo com as soluções tampão de pH 4,0 e 7,0, de acordo com as instruções do fabricante. Essa análise realizada durante todas as fermentações.

2.3.2. *Acidez total titulável*

A determinação da acidez total titulável da bebida fermentada foi realizada de acordo com o descrito pela metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008), em que 10 mL da amostra descarbonatada, adicionada de 100 mL de água, com o indicador fenolftaleína, foi titulada com uma solução padronizada de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M até a obtenção da coloração rosada no ponto de viragem. Os resultados, em triplicata, foram expressos em mEquivalente de NaOH/L.

2.3.3. *Sólidos solúveis totais*

A determinação dos sólidos solúveis totais foi realizada por refratometria através da leitura direta em refratômetro digital portátil (REF90, Hanna® HI 96801, EUA) com correção para 20 °C, e os resultados realizados em triplicata foram expressos em °Brix, sendo a análise realizada em todas as etapas fermentativas.

2.3.4. *Densidade*

A densidade foi obtida através da conversão dos valores obtidos a partir dos sólidos solúveis (°Brix) para o produto já finalizado pronto para o consumo, conforme a Equação 1 (Bichara, 2014):

$$\text{Densidade (g/L)} = (\text{Valor } ^\circ \text{Brix} \times 4) + 1,0 \quad (\text{Eq. 1})$$

2.3.5 *Determinação da Acidez Volátil*

A acidez volátil foi determinada volumetricamente por titulação com solução padronizada de NaOH 0,1 M após a destilação da amostra para as bebidas já finalizadas. A destilação foi realizada por arraste de vapor segundo IAL et al. (1985) e Brasil (1986), e os resultados (triplicata) expressos em mEquivalente de NaOH/L.

2.3.6 *Determinação da Acidez Fixa*

A acidez fixa foi determinada pela diferença entre a acidez total e a volátil para as bebidas já finalizadas, conforme metodologia descrita por IAL et al. (1985) e Brasil (1986), e os resultados expressos em mEquivalente de NaOH/L.

2.3.7. Determinação de açúcares totais, redutores e não redutores

Os açúcares redutores e totais foram determinados em todo o processo fermentativo pelo método colorimétrico do ácido 3,5-dinitrosalicílico. Para a determinação dos açúcares totais, a hidrólise dos açúcares não-redutores em redutores foi realizada com solução diluída de HCl, seguida de neutralização com uma solução de NaOH 20%. Os teores de açúcares redutores foram obtido por espectrofotometria a 540 nm, utilizando o padrão de glicose para a construção das curvas analíticas ($r^2 = 0,9911$) para a faixa de concentração de 2 a 0,125 g/L. Os teores de açúcares não-redutores foram obtidos por diferença entre açúcares totais e redutores. (Miller, 1959; Vasconcelos et.al., 2013)

2.4 Determinação dos compostos bioativos das infusões durante a fermentação

2.4.1 Compostos fenólicos totais

Os teores de compostos fenólicos totais foram determinados por espectrofotometria, de acordo com o método colorimétrico utilizando o reagente de *Folin Ciocalteu*. As amostras foram lidas no comprimento de 760 nm, e o ácido gálico foi utilizado como padrão analítico nas concentrações de 3,12 a 100g/L ($r^2 = 0,9889$) (Becatti et al., 2010). Os resultados, em triplicata, foram expressos em mg equivalente de ácido gálico (EAG)/L.

2.4.2 Flavonoides Totais

Os teores de flavonoides totais foram determinados por espectrofotometria, de acordo com o método colorimétrico de complexação com $AlCl_3$. As amostras foram lidas no comprimento de onda a 510 nm, sendo a catequina utilizada como padrão analítico na faixa de concentração de 1,56 a 200 g/L ($r^2 = 0,992$) (Pekal e Pyrzynska, 2014; Zhishen et al., 1999). Os resultados, em triplicata, foram expressos em mg equivalente de catequina (ECAT)/L.

2.4.3 Determinação do perfil de compostos fenólicos das bebidas fermentadas

Alíquotas das bebidas foram coletadas, descarbonatadas, centrifugadas (946,4 x g), e filtradas (0,22 μ m) para prosseguir a etapa de injeção no sistema de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD).

Os compostos fenólicos foram separados a uma taxa de fluxo de 0,9 mL/min em uma coluna C₁₈ Synergi Hydro (4 µm, 250 × 4,6 mm, Phenomenex, Estados Unidos) a 29 °C, com um gradiente linear de água/ácido fórmico (99,5:0,5, v/v) (solvente A) e acetonitrila/ácido fórmico (99,5:0,5, v/v) (solvente B) de A:B 99:1 a 50:50 em 50 min, seguindo de 50:50 a 1:99 em 5 min, mantendo esta última proporção por mais 5 min (Chisté e Mercadante, 2012). Os espectros UV-visível foram obtidos entre 200 e 600 nm e os cromatogramas foram processados a 275 (ácidos hidroxibenzóicos), 320 (ácidos hidroxicinâmicos), e 360 nm (flavonoides).

2.5 Determinação da capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante foi determinada para todas as infusões durante todo o processo fermentativo através da desativação do radical ABTS (ABTS^{•+}), e para as bebidas prontas por ABTS^{•+} e radical DPPH[•] (DPPH[•]).

2.5.1. Desativação do radical ABTS (ABTS^{•+})

A capacidade antioxidante foi determinada de acordo com método de desativação do radical ABTS (ABTS^{•+}), descrito por Re et al. (1999). A geração do radical ABTS^{•+} foi realizada através da reação da solução de ABTS com persulfato de sódio na concentração de 7 mM. A solução do ABTS^{•+} foi diluída em etanol até absorvância de 0,7 a 734 nm, e para a construção da curva analítica foi utilizado o Trolox em etanol na faixa de concentração 100 a 2000 g/L, ($r^2 = 0,9984$). Para os padrões e infusões, 30 µL de amostra foram diluídas em 3 mL do radical e a absorvância registrada após 6 minutos de reação. Os resultados, em triplicata, foram expressos em mEQTrolox/L

2.5.2 Desativação do radical DPPH (DPPH[•])

A determinação da capacidade antioxidante foi realizada de acordo com o método DPPH descrito por Brand-Williams; Cuverlier e Berset (1995) e Kirigaya, Kato e Fujimaki (1971) para as bebidas prontas. Foi preparado uma solução de DPPH[•] (0,1192 M) em metanol, utilizado o Trolox como padrão analítico nas concentrações de 2 a 10 µg/mL, com r^2 de 0,9902. Para a reação, 1860 µL da solução de DPPH[•] reagiram com 140 µL de amostra por 30 minutos, e logo após a leitura foi realizada por espectrofotometria a 517 nm. Os resultados, em triplicata, foram expressos em mEQTrolox/L

2.6 Análises microbiológicas

As determinações microbiológicas foram realizadas para todas as amostras que disponibilizadas para a análise sensorial. Foram realizadas as determinações e contagens de bolores e leveduras por *spread plate*, bactérias aeróbias mesófilas por *pour plate* e determinação do Número Mais Provável (NMP) para a pesquisa de coliformes totais e fecais 45 °C de acordo com Silva et al.(2007), e a pesquisa de *Salmonella/Shigella* sp. de acordo com a metodologia descrita por APHA (2001).

2.7 Análises sensoriais

A realização das análises sensoriais previstas neste projeto foi previamente aprovada pelo Comitê de Ética na Pesquisa em Seres Humanos, segundo o Conselho Nacional de Saúde – CEP/CONEP da Universidade Federal do Pará (CAAE: 57098122.7.0000.0018).

2.7.1 Focus Group

O *focus group* foi realizado, com objetivo preliminar, com 10 pessoas abordadas aleatoriamente no campus da Universidade Federal do Pará (UFPA). O recrutamento e a seleção dos julgadores não obedeceram a nenhum critério além da autodeclaração dos provadores não-treinados sobre a existência de condições alérgicas ou intestinais associados ao consumo de kombucha ou jambu, seguindo o mesmo âmbito da análise sensorial a ser aplicada na próxima etapa. Os participantes provaram cada uma das amostras disponíveis e discutiram, de acordo com as questões norteadoras, a descrição dos aspectos dos atributos sensoriais do produto. As questões norteadoras foram: a aceitabilidade e a preferência entre as formulações desenvolvidas com relação a cor, aparência, sabor, aroma, viscosidade, impressão global, além da idealidade de sabor de jambu, acidez e pungência. A duração do *focus group* foi de 15 min, e após a discussão, as respostas foram gravadas e analisadas para atribuição das características de acordo com cada inferência obtida (Bardin, 2010; Della Lucia et al., 2009).

2.7.2 Análise Sensorial com testes hedônicos, idealidade e intenção de compra

Os testes afetivos de escala hedônica, escala do ideal e a intenção de compra foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial da Universidade Federal do Pará (UFPA), Campus Belém, por 120 provadores não treinados, entre servidores e alunos de graduação e pós-graduação da Instituição.

As amostras das bebidas fermentadas tipo kombucha à base de jambu (quatro formulações) foram servidas aos provadores em copos plásticos de 30 mL, codificados com números aleatórios de três dígitos, na forma monádica sequencial (uma amostra por vez). Todos os provadores foram orientados a ingerirem água entre as amostras para o enxágue do palato, e a análise foi realizada em cabines individuais sob a luz branca, permitindo o conforto e a individualidade na realização do experimento.

Foram avaliados os atributos aparência, cor, aroma, sabor, viscosidade e impressão global, onde os provadores foram orientados a expressarem a aceitação seguindo uma escala hedônica estruturada com nove pontos variando de 9 = “gostei muitíssimo” até 1 = “desgostei muitíssimo” (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 14141: Escalas utilizadas em análise sensorial de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro, 1998).

Na aplicação da escala do ideal, os consumidores avaliaram a intensidade da pungência, sendo explicado o que era esse atributo no começo de análise de cada participante, da acidez e do sabor de jambu perceptível na bebida, utilizando a escala estruturada entre “extremamente mais forte que o ideal” (-4) e “extremamente menos forte que o ideal” (4).

Para a intenção de compra, os provadores avaliaram as bebidas utilizando uma escala estruturada na qual o percentual referente a categoria “certamente compraria” e “provavelmente compraria” foram somados e denominados de região de compra, os percentuais da categoria “tenho dúvidas se compraria” foi denominado região de dúvida, e os percentuais das categorias “certamente não compraria” e “provavelmente não compraria” foram somados e denominados de região de não-compra (Dutcosky, 2013).

2.8. Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como média aritmética e desvio padrão (DP). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey com nível de significância a 5 % para comparação das médias. Os dados obtidos com a análise sensorial foram avaliados por meio dos gráficos de percentuais de frequência no software Excel.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Monitoramento do processo de fermentação das infusões

3.1.1. pH, acidez total, sólidos solúveis e teor de açúcares

O pH é um dos parâmetros mais importantes na produção de kombucha, tanto no seu processo fermentativo quanto na bebida finalizada para o consumo (Hur et al., 2014). Durante a etapa fermentativa, o pH assegura a eficiência do consórcio microbiano, é responsável pela segurança, qualidade do produto e aspecto de finalização de fermentação (Vásquez-Cabral et al. 2014).

Neste estudo, durante os 7 dias em que ocorreu a primeira etapa de fermentação das infusões para a produção da bebida fermentada, foi possível observar o comportamento do pH, conforme descrito na Figura 2

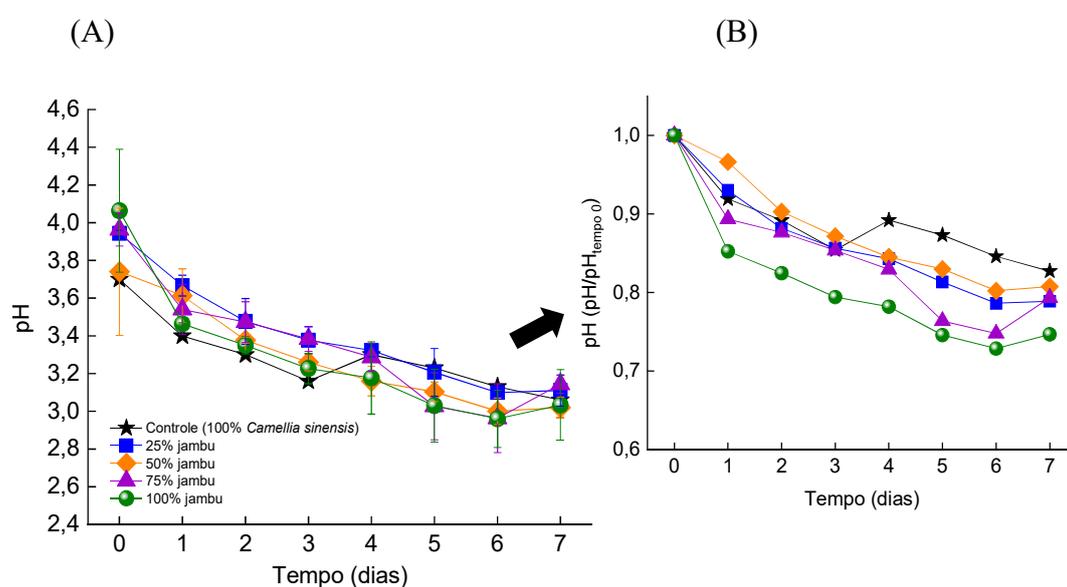


Figura 2: Valores de pH durante o processo fermentativo de kombuchas e da bebida fermentada com 100% jambu. (A) Corresponde aos valores de pH em cada dia da fermentação. (B) corresponde a razão entre o pH final/inicial para cada dia de fermentação.

Fonte: Próprio Autor

De acordo com a Figura 2, foi observado o decréscimo dos valores de pH na curva de fermentação para todas as formulações estudadas, sendo esse decréscimo característico da denominação desse produto. Esse comportamento de acordo com Jayabalan et al. (2007) e Malbasa et al. (2011) é associado a atuação das bactérias ácido-láticas, acéticas e das leveduras na produção de ácidos orgânicos que são frequentemente

associados com os benefícios da ingestão deste tipo de produto e a alteração de atributos sensoriais como sabor.

Para as formulações com jambu, esse declínio foi acentuado nos três primeiros dias, e apresentam característica de estabilidade após os primeiros dias de fermentação, ao término do dia 7 ainda se encontravam dentro da faixa permitida pela legislação brasileira.

Essa estabilidade, de acordo com Malbasa et al. (2011), pode ser associada a geração de tampões provenientes de ácidos orgânicos de natureza fraca e sais, sendo observada também na formulação controle (*Camelia sinensis*), mas em pH maiores que as formulações de jambu (Malbasa et al., 2011).

Os valores da curva sencontram-se dentro da faixa que asseguram a qualidade da bebida ($\text{pH} < 4,2$), pois limitam o crescimento de microrganismos patógenos (Nummer, 2013). Da mesma forma, o período fermentativo também não apresenta valores de $\text{pH} < 2$ para nenhuma formulação, sendo considerado adequado para preservar a integridade de pessoas com distúrbios gastrointestinais (Blauth, 2019), e garante ainda uma bebida mais aceita sensorialmente ao término de sua segunda etapa fermentativa (Velicanski; Cvetkovic; Markov, 2013).

A formulação com os maiores valores de pH para o início da fermentação foi a 100 % jambu ($4,06 \pm 0,32$). Ao final da fermentação, a formulação foi a segunda com menor pH com $3,03 \pm 0,18$ e a que apresenta um dos dias com menor pH (dia 6 com $2,96 \pm 0,15$). Logo, a fermentação da formulação 100% jambu é a que apresenta mais singularidade, tendo um decréscimo de aproximadamente 25,35%, e mais dias de subida e descida na curva de fermentação. A formulação controle apresentou um decréscimo de 20,91%, sendo assim, a substituição total do substrato possibilita uma margem de 4,44% em transformações de pH durante os 7 dias da etapa de 1º fermentação.

Esse resultado nos valores de pH não se explica pelos pHs iniciais de cada substrato, haja visto o pH das flores de jambu podem variar de 6,1 a 6,3 (Nascimento, 2019; Pires, 2016) e o de *Camellis sinensis* variam de 5,04 a 6,28 (Dos Santos et. al., 2014). De fato, alguns constituintes do jambu podem ter favorecido o rápido desenvolvimento pela sua fácil degradação. Os componentes do jambu de acordo com Lopes (2019) são mais disponíveis que as disponibilizadas na infusão de chá verde, se os

componentes são mais fáceis a ser degradados e sensíveis, estes são aproveitados e consumidos a outros metabólitos ácidos pelos microrganismos.

Muitos são os fatores que influenciam os valores de pH na fermentação como o tempo de fermentação, linhagem da cultura microbiana e condições operatórias da fermentação (Leonarski, 2020; Marsh et al., 2014). Os valores das curvas partindo de pH baixos (<4,2) já no início de fermentação, podem estar ligados a concentração adicionada do inóculo. De acordo com autores como Braghuni et al. (2014), Nummer (2013) e Pereira et al. (2017), e no caso do jambu, a sensibilidade de seus constituintes, e é um fator positivo pois corrobora o com a inibição de patógenos e esporogênicos.

Xia et al. (2019) também acompanharam os valores de pH durante a fermentação de uma bebida análoga a kombucha elaborada com bebida de soja como substrato. Os autores demonstraram que a curva da bebida de soja teve início com valores mais altos de pH (6,54) enquanto os valores para as formulações de jambu se encontram entre 4,06 e 3,7 já no início da fermentação. Ayed e Hamdi (2015) utilizando cacto-pera também obtiveram valores de pH iniciais maiores (em torno de 5) que as formulações de jambu neste estudo. Segundo os autores, a partir dos dias 6 e 7 da fermentação, os valores de pH ainda estavam em torno de 4,5.

Em comparação com a mesma temperatura de fermentação realizada nas formulações de jambu (28 °C), a fermentação dos autores demorou 4 dias para atingir pH entre 4,0 e 4,5 encerrando o ciclo fermentativo nesses valores. Segundo Blauth (2019), essa diferença entre os valores de pH e o tempo de fermentação pode ser explicada, além dos valores iniciais do substato da bebida soja ser mais alta pela sua natureza, pelas concentrações das fontes de carbono.

Nas fermentações com infusões como jambu, a fonte energética (sacarose) e sua concentração possibilitou os 7 dias de fermentação, a bebida de soja além de sacarose disponibiliza galactose, glicose, estaquiase e rafinose (Xia et al., 2019). A alta disponibilização desses açúcares altera o comportamento dos microrganismos principalmente das bactérias ácido lácticas em temperaturas maiores, a quebra desses compostos geram metabólitos em uma taxa maior de produção, que em alta concentração baixam o valor do pH (Goh et al. 2012).

A diferença da composição e natureza desses substratos é responsável por ter maiores valores de pH ao término da 1ª fermentação, além da concentração e natureza do

starter. Valores maiores de pH acabam influenciando o armazenamento e estoque de um produto finalizado. pHs maiores ao fim da fermentação podem ser melhores em tempo de prateleira por levarem mais tempo a atingir pH de 2,5 e perder a validade. No entanto, são faixas mais vulneráveis a contaminação.

Watawama et al. (2015) também realizaram curvas de fermentação com 7 dias utilizando grãos de café como substrato, e assim como as curvas do jambu, elas se alteraram de acordo com a formulação, porém as de café se alteraram com o nível de extração dos grãos. As bebidas com grãos mais refinados, ou seja, com grau maior de processamento, trouxe uma curva com comportamento de velocidade de queda a partir do dia 2, e seus valores decresceram de 5 a 4,1 no dia final do ciclo, assemelhando-se a velocidade das curvas da formulação de jambu; enquanto as demais não se alteraram expressivamente para valores menores que 5. No jambu a diferença apenas dada pela concentração, em estudos futuros pode ser estudadas para reiteração se o grau de processamento influencia na fermentação.

Valores abaixo de 2,5 indicam uma kombucha com aspectos sensoriais não aceitos pelos consumidores e que pode acarretar pouca carbonatação e geração de metabólitos secundários de baixo interesse para a bebida. De acordo com a legislação brasileira, a bebida já estaria fora dos parâmetros de consumo, o que foi evitado nas formulações de jambu pertencente a esse estudo (Brasil, 2019).

Com relação à acidez total, na figura 3 é possível observar o comportamento das curvas de cada formulação no que diz respeito as transformações de acidez total titulável devido as especificações previstas na legislação brasileira.

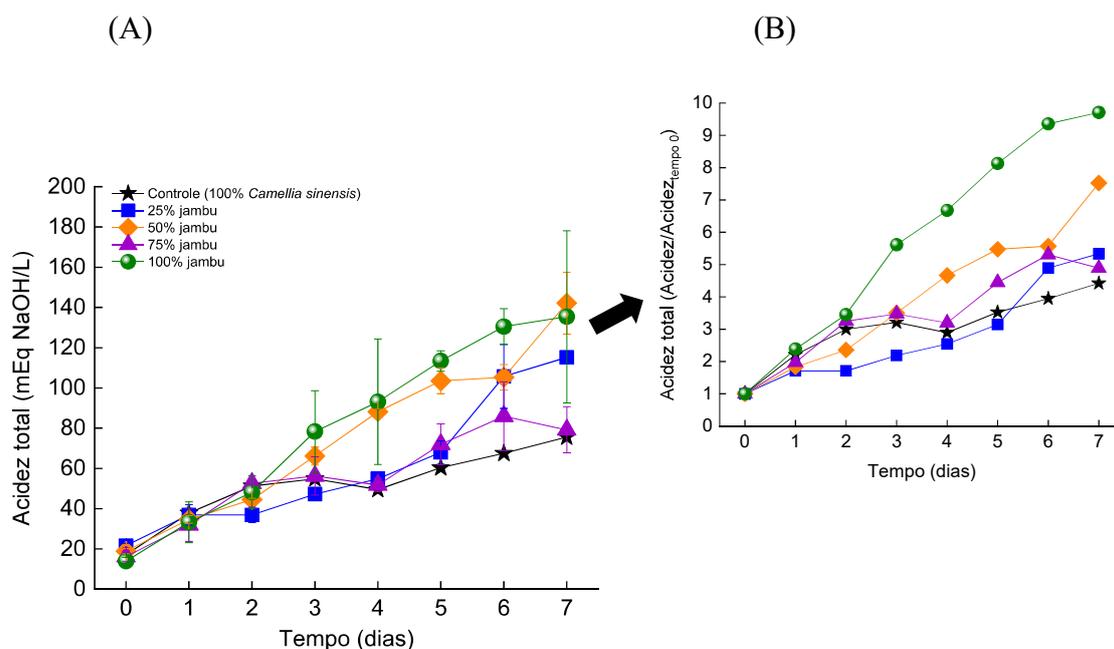


Figura 3: Teores de acidez total durante o processo fermentativo de kombuchas e da bebida fermentada com jambu. (A) corresponde aos valores de acidez em cada dia da fermentação. (B) corresponde a razão entre o conteúdo final/inicial para cada dia de fermentação.

Fonte: Próprio Autor

O perfil de acidez para as amostras é de um crescimento heterogêneo com valores que iniciam em 18 a 32,4 mEq NaOH/L. Esses valores ainda não apresentam um valor de uma kombucha de qualidade, e terminam a 1^o fermentação entre 58,5 e 131,4 mEq NaOH/L (BRASIL, 2019), apresentando valores de qualidade aceitáveis para a bebida fermentada.

A acidez é um parâmetro importante para produtos fermentados pois sugerem a formação de ácidos orgânicos, entre os principais o acético, cítrico, glucônico, glucurônico e lático, além de uma ampla variedade de outros ácidos que se formam durante o processo (Grube et al., 2016). Alguns fatores que podem influenciar na curva de acidez e que justificam os valores obtidos de acidez são os parâmetros de temperatura, outro fator que influencia nessa curva é a concentração de açúcares disponíveis no processo.

A formulação que apresentou um nível de acidez maior foi a formulação contendo 50% de jambu com $129,6 \pm 24,34$ mEq NaOH/L ao final da etapa fermentativa. No entanto, é notório que a formulação 100% jambu apresentou níveis de acidez maior

que as demais formulações em 5 dias da etapa e apresentou o maior crescimento aumento no teor, com aproximadamente 520% em relação ao seu dia inicial, e 66,48% a mais que o crescimento da formulação 50%, enquanto a formulação controle apresentou os valores mais baixos de acidez total.

Aung e Eun (2021) analisaram a curva de acidez total de kombucha utilizando a *Porphyra dentata* como substrato durante 14 dias, apresentando comportamento semelhante ao estudo com jambu, tendo sido o mesmo aumento observado para os 7 dias analisados para o jambu, tendo diferenças na técnica de extração, onde foi utilizado ultrassom assistida, onde percebeu-se que a curva teve alterações mais rápidas entre os dias 3 e 7, alcançando valores menores de pH em menor tempo que as infusões com o jambu. Tal estratégia pode vir a ser uma possibilidade para aumentar a disponibilidade de compostos bioativos das flores de jambu, principalmente os precursores de ácidos orgânicos.

Vitas et al. (2020) analisaram curvas de acidez total para kombuchas de diversos substratos (segurelha, hortelã-pimenta, tomilho selvagem, urtiga, marmelo e sabugueiro). Em suas curvas foram observadas aumentos expressivos entre o dia 0 e 3 de fermentação para alguns substratos que dobraram de valor como a da urtiga e sabugueiro similarmente a formulação controle 25% e 75%, e que triplicaram como hortelã pimenta similarmente a formulação 50%, a formulação 100% aumenta quatro vezes.

Tu et al. (2019) analisaram acidez total ao fornecer ao consórcio microbiano soro de soja como substrato. O comportamento das curvas revelaram que o aumento da acidez foi maior do que nas formulações monitoradas neste estudo, provavelmente devido a concentração inicial da fonte de carbono, uma vez que o soro é um substrato mais proteico.

Nota-se que os resultados provenientes da análise de pH e acidez total concordam em que a formulação 50% jambu apresenta os níveis mais extremos das escalas no dia final da etapa, em termos de valores absolutos, e que a formulação 100% jambu é que a que se observa mais alterações quando comparadas ao controle.

Em termos de acidez total, a velocidade da fermentação ocorre mais rápido nas formulações contendo jambu, pondo assim que a atividade metabólica parece ser maior. As escalas de pH e acidez diferem em alguns dos seus aspectos, e no início do processo fermentativo, o pH aponta para a formulação controle como a mais ácida enquanto a

acidez total titulável a aponta como a menos ácida, e ao final do processo fermentativo o pH aponta para a formulação 75% como a menos ácida, enquanto a acidez total aponta a formulação controle como a menos ácida.

Tal fato também releva a dificuldade da padronização das kombuchas em uma linha de produção, sendo necessário esforços mais elaborados para manutenção da qualidade. Como solução, há a necessidade do avanço das tecnologias e equipamentos, assim, com o conhecimento das revisões crescentes ter o objetivo de controlar a quantidade máxima de variáveis possíveis (Blauth, 2019).

Em termos de variação de sólidos solúveis totais, variação do conteúdo durante a fermentação é apresentada na Figura 4

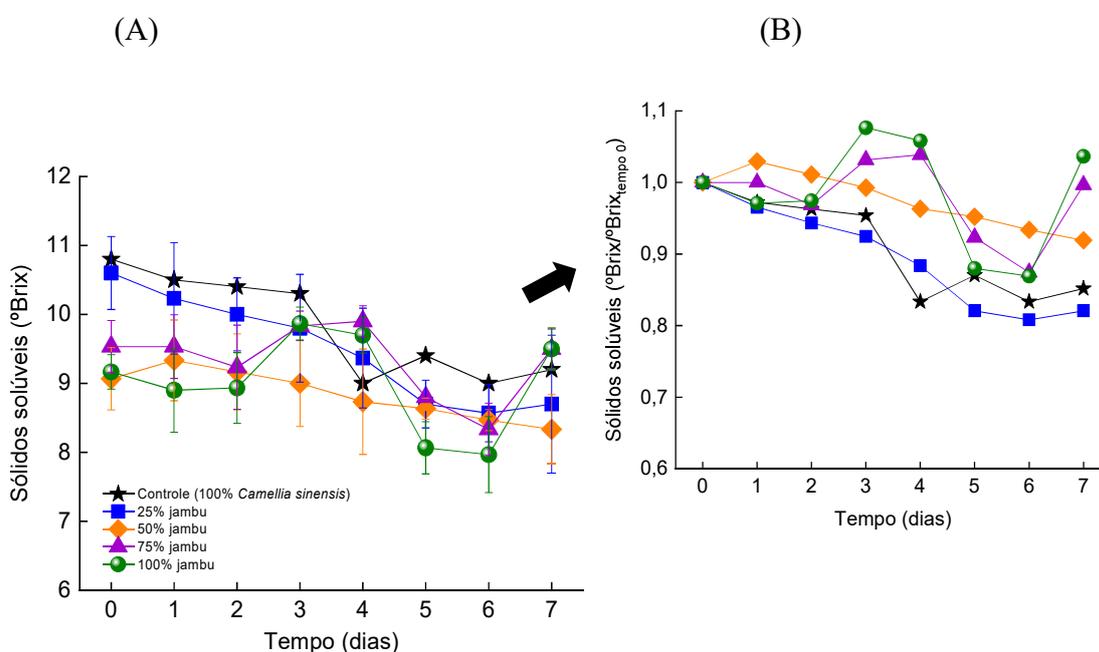


Figura 4: Teores de sólidos solúveis totais (SST em °Brix) durante o processo fermentativo de kombuchas e da bebida fermentada com jambu. (A) corresponde aos valores de SST em cada dia da fermentação. (B) corresponde a razão entre o conteúdo final/inicial para cada dia de fermentação.

Fonte: Próprio Autor

Pelo comportamento das curvas de teores do conteúdo de sólidos solúveis totais durante o tempo de fermentação, analisa-se a fragmentação das principais fontes energéticas disponíveis no meio, as diferenças de consumo dos compostos de sólidos

solúveis nos substratos devido a geração de metabólitos de interesse em cada tempo da fermentação.

Percebe-se a continuidade da heterogeneidade fermentativa vistas nas curvas de pH e acidez, nota-se que a formulação 100% jambu e a 75% possuem uma singularidade nas transformações desse conteúdo.

O esperado durante a fermentação é que o conteúdo de sólidos solúveis totais diminua devido à quebra de compostos maiores em menores e as transformações desses compostos menores em produtos de interesse. Esse comportamento é visto em períodos das curvas analisadas das formulações. Tais diminuições ocorrem nas formulações de jambu, mas não é de forma estrita, havendo crescimento desse conteúdo logo após o decréscimo de níveis deles devido a quantificação de novos outros sólidos solúveis formados na fermentação.

No estudo com *red* e *black goji berry* (Abuduaibifu; Tamer, 2019), os decréscimos foram mais rápidos, finalizando em 3 dias e sem flutuações que as formulações de jambu apresentaram. No estudo realizado por Silva et al. (2021) utilizando o (*Malvaviscus arboreus* Cav. – *Malvaceae*) o tempo fermentativo foi maior apresentando teores menores de SST que as formulações com jambu e as de *berries*.

As formulações com jambu apresentaram teores em torno do dobro dos teores do estudo com *berries* e malvavisco durante o processo fermentativo, essa diferença está ligada a concentração energética utilizada para a elaboração das bebidas, a concentração usada nas formulações de jambu é proveniente de testes preliminares que visou tornar o produto aceito sensorialmente já que não foi saborizado com nenhum ingrediente opcional.

Os decréscimos apontados no estudo de jambu e de *malvaviscus* é justificado pela produção de diversos tipos de ácidos orgânicos em relação ao consumo do conteúdo de açúcares, porém a alta concentração dos ácidos associados a geração dos metabólitos secundários aumentam o teor de sólidos solúveis em vários pontos da fermentação. As leveduras do consórcio são responsáveis pela hidrólise de sacarose em glicose e frutose e ainda quebram os monossacarídeos em etanol. (Silva et al., 2021).

As bactérias acéticas como as cepas de *Acetobacter* quebram glicose em ácido glucônico e celulose bacteriana em forma de película no SCOBY. A frutose gerada pelas

leveduras ainda pode ser degradada em etanol e dióxido de carbono, esses produtos são utilizados também pelas cepas de *Acetobacter* para geração de ácido acético (Silva et al.,2021; Jayabalan et al.,2011).

Dos valores obtidos durante a fermentação para os sólidos solúveis totais, se infere que consumo destes não segue a tendência de ir apenas diminuindo com o tempo fermentativo, ou apresentar brusca redução no conteúdo. Observa-se que quando utilizamos 100% e 75% de jambu, há uma oscilação no teor de sólidos solúveis ao longo da fermentação, provavelmente devido aos metabólitos gerados (ácidos orgânicos), que provavelmente entram na contagem de todo o conteúdo de sólidos solúveis totais.

Verifica-se valores menores de sólidos solúveis na formulação 50% e 100% jambu no início da fermentação, e maiores nas formulações 25% e controle, diferentemente do final da etapa fermentativa em que o conteúdo da formulação 100% jambu alcança os maiores valores de sólidos solúveis totais tendo média de $9,5 \pm 3,03$, a formulação 50% e apresenta o menor valor ($8,3 \pm 0,5$), seguido da formulação 25% ($8,7 \pm 1,0$), as concentrações iniciais de sacarose são as mesmas no início da fermentação, essas alterações podem ser provenientes da natureza do substrato.

Após as quedas dos valores de SST, também é importante verificar se o conteúdo volta a ter oscilações nos conteúdos devido a concentração de ácido acético gerado. A quantidade de sacarose ao ser consumida pelo consórcio microbiano pode gerar o aumento dos açúcares redutores, e podem diminuir o percentual de açúcares totais ao gerar metabólitos secundários quando fluxo de síntese de material orgânico ainda contínuo (Laavanya, D., Shirkole, S., & Balasubramanian, 2021).

A transformação no conteúdo de açúcares totais e redutores estão presentes nas Figura 5 e 6 a seguir.

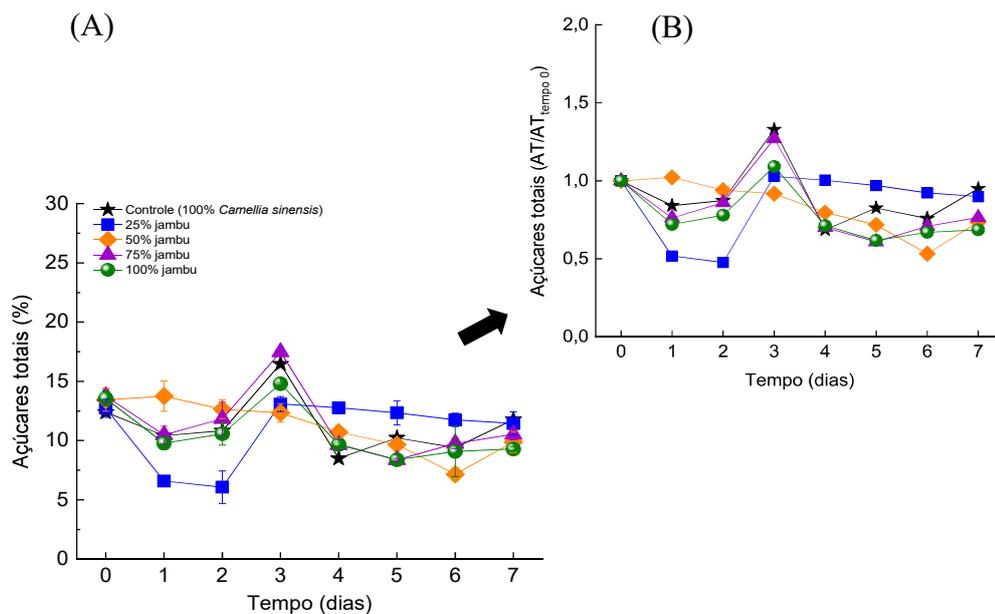


Figura 5: Valores de Açúcares Totais durante o processo fermentativo de kombuchas e análogo de jambu, em que gráfico A corresponde aos valores de Açúcares Totais em cada dia da fermentação, e gráfico B corresponde a diferença de cada ponto em relação ao conteúdo inicial

Fonte: Próprio Autor

Assim como no conteúdo de sólidos solúveis totais, os açúcares totais não seguiram uma tendência homogênea ao longo da fermentação. Os maiores teores de açúcares totais no início da fermentação foram observados na formulação 75% e 50%, e ao fim as formulações que apresentam maiores teores de açúcares totais foram a 25% e controle; e no final da etapa fermentativa, a formulação 100% jambu apresentou o maior consumo do teor de sacarose em relação ao teor inicial.

Entre os dias monitorados para as formulações elaboradas, o dia 5 aponta para um maior consumo dos açúcares totais presentes para todas as formulações, com exceção da 25% que possuiu maior consumo no dia 2.

Vitas et. al (2019), ao utilizarem mostarda africana como substrato, relataram que no dia 3 o percentual de sacarose do meio de cultivo havia reduzido 2/3 de seu conteúdo inicial. No nosso estudo, apenas a formulação 50% jambu apresentou redução nesse dia, as demais formulações exibiram níveis semelhantes de redução apenas no dia 5.

A enzima intracelular invertase produzida das leveduras no consórcio microbiano é a principal forma da quebra de sacarose em glicose e frutose (Kapp & Sumner, 2019; de Miranda

et al., 2022)). Microrganismos como a *Saccharomyces cerevisiae* e a *Zygosaccharomices* presentes no sistema fermentativo transformam o açúcar em etanol, enquanto as cepas de *Candida sp.* utilizam a sacarose para a habilidade de formar biofilmes (Blauth, 2019).

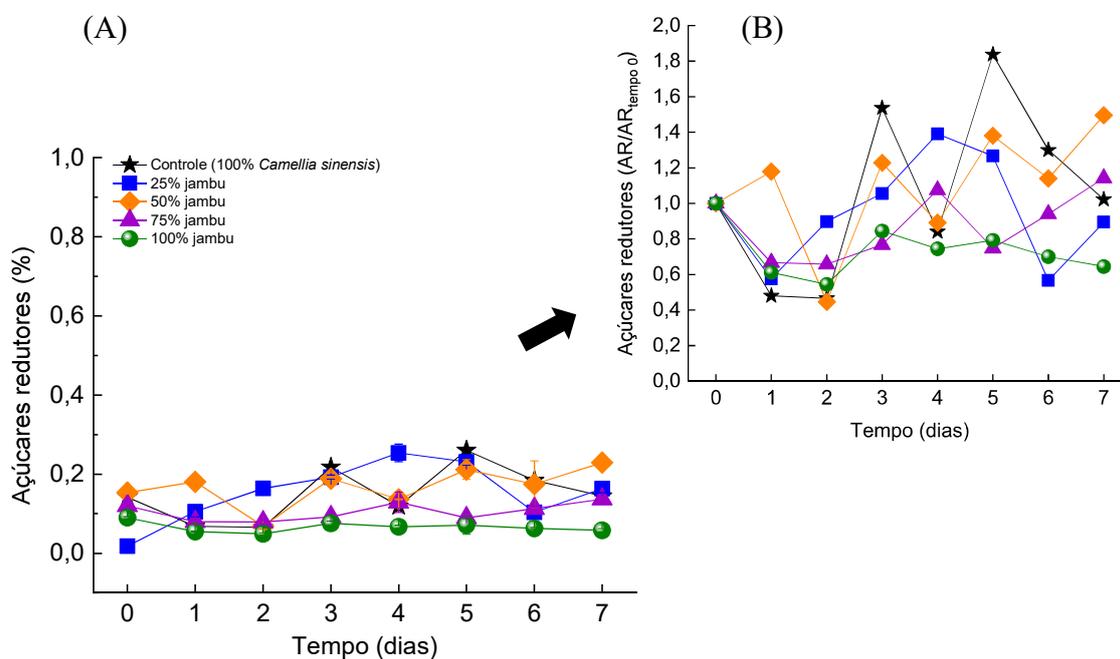


Figura 6: Valores de Açúcares Redutores durante o processo fermentativo de kombuchas e análogo de jambu, em que gráfico A corresponde aos valores de Açúcares Redutores em cada dia da fermentação, e gráfico B corresponde a diferença de cada ponto em relação ao conteúdo inicial

Fonte: Próprio Autor

Nota-se que o teor de açúcares redutores não aumentam com a quebra da sacarose na rota fermentativa na formulação 100% jambu, o teor de açúcares redutores na verdade é reduzido ainda mais, e ao fim não apresentam diferenças expressivas na alteração de seus valores. Sendo assim, o substrato jambu favorece o consumo de sacarose no seu processo fermentativo, mas não necessariamente os açúcares redutores como a glicose e frutose ficarão sem ser consumidos, eles são bastantes utilizados na síntese de etanol e de ácido acético, além das leveduras responsáveis pelo consumo utilizarem açúcares totais na síntese de outros compostos carboxílicos.

Ao comparar com a formulação controle, os níveis de redutores aumentam mais expressivamente na formulação 25% jambu em alguns dias dessa etapa, e chegando até

0,25 ± 0,022%, os teores apresentam diferença maior, mas finaliza a etapa com um percentual similar do início.

A formulação 50% jambu é uma formulação que apresenta níveis maiores de açúcares redutores ao término da fermentação. Logo, as fermentações dos substratos separados não aumentam o teor de açúcares redutores, mas o *blend* de mesmas proporções entre eles facilita o aumento desse parâmetro.

Tu et al. (2019) analisaram os açúcares redutores em kombucha com soro de soja como substrato e observaram um acréscimo em seus teores de até 0,1% no dia 2, diminuindo consideravelmente para valores próximos de 0,015 a 0,02% do dia 3 até o dia 7, e ao fim de seu ciclo fermentativo exibindo estabilidade.

Nas formulações de jambu pode se observar uma certa estabilidade nos teores de açúcares redutores, mas as flutuações não deixam de ser presentes nos ciclos fermentativos. A formulação 100% jambu assemelha-se com as kombuchas produzidas com soro de soja de Tu et al. (2019), as formulações 50% jambu e 25% são as que mais diferem desse substrato. A estabilidade apresentada na kombucha de soro de soja é explicada pela quebra dos açúcares redutores produzidos no consumo desses compostos pelas leveduras e bactérias acéticas que realizam a hidrólise desses sacarídeos (Tu et al., 2019).

Nas kombuchas produzidas com *Porphyra dentata* como substrato, as bebidas apresentaram teores de 0,017% e 0,018% para os açúcares redutores, valores menores que todas as formulações utilizando jambu como substrato. O aumento do teor dos açúcares redutores de forma expressiva acontece após o dia 3 em que assumem valores de 0,417 e 0,394%, valores bem maiores que as formulações de jambu elaboradas.

Em geral, os açúcares totais apresentaram tendência de declínio, a quantidade de açúcares redutores não aumenta de forma acentuada durante o período fermentativo, e todas essas alterações são perceptíveis nas flutuações nos valores de sólidos solúveis totais. A sacarose no término dos 7 dias não foi degradada totalmente pelos microrganismos em açúcares mais simples.

As transformações das variáveis de pH, acidez, sólidos solúveis e açúcares redutores e não redutores apontaram para uma fermentação segura e de qualidade para os 7 dias analisados de acordo com os parâmetros preconizados pela legislação vigente. As

condições dos parâmetros obtidos ainda permitem tanto prolongar o tempo da primeira fermentação quanto encurtar essa etapa devido a esses valores também não excederem aos parâmetros estabelecidos pelo MAPA.

Em termos de pH, acidez, sólidos solúveis e conteúdo de açúcares, o produto teria a viabilidade de se encerrar no dia 5 de fermentação por fornecerem aspectos que garantem um padrão de identidade e qualidade (PIQ) dentro da legislação de kombuchas disponíveis para a segunda etapa de fermentação e finalização do produto.

3.1.2 Monitoramento dos compostos bioativos

Na Figura 7, pode ser observado o conteúdo de compostos fenólicos, que são de bastante interesse em um produto com possíveis alegações funcionais que agregam ainda mais valor ao produto devido a associação à saúde e bem estar (Lobo; Dias; Shenoy, 2017)

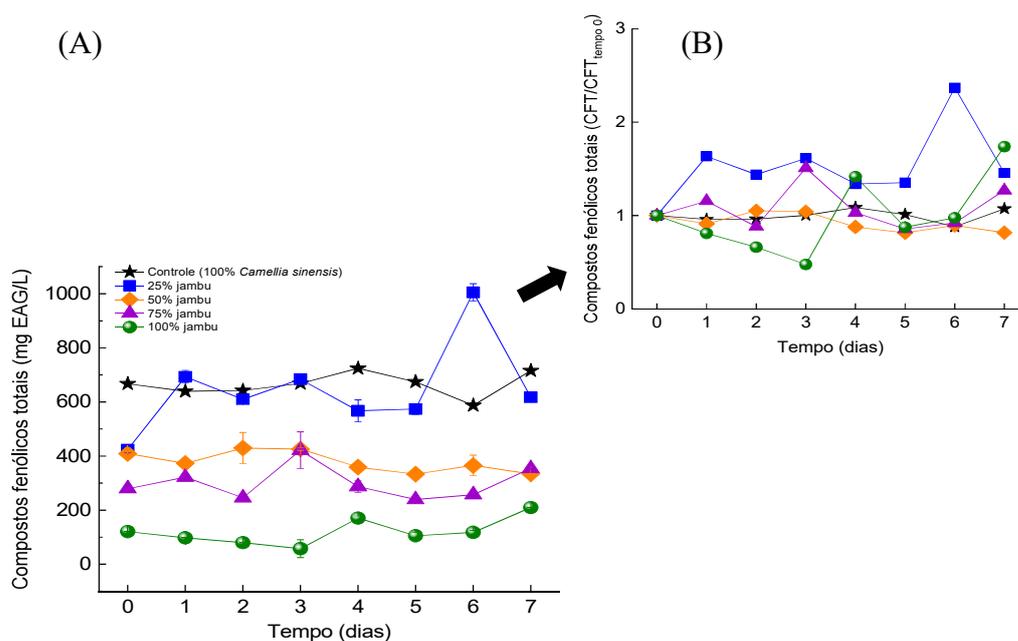


Figura 7: Teor de Compostos Fenólicos Totais (CFT) durante o processo fermentativo de kombuchas e análogo de jambu. (A) Teores de CFT em cada dia da fermentação. (B) Razão dos teores para cada ponto em relação ao conteúdo inicial. *Valores expressos em mg equivalente de ácido gálico (mg EAG)/L.

Fonte: Próprio Autor

As formulações com jambu apresentaram valores finais entre 209,64±0,74 e 617,58 mg EAG/L (100% e 25% respectivamente), valores maiores que os conteúdos iniciais da etapa fermentativa que compreendem de 120,56±0,85 a 424,09±12,28 mg EAG/L (100% e 25% respectivamente).

É perceptível que os teores de compostos fenólicos variaram de acordo com o andamento da fermentação, e que quanto maior a porcentagem de *Camellia sinensis*, maior o teor de compostos fenólicos totais na bebida. A formulação 100% jambu é a que apresenta menor teor de compostos fenólicos totais, seguida pelas formulações 50%, 75% e 25%, após 7 dias. A formulação 25% e 100% jambu foram as que apresentaram maior índice de aumento desses compostos (Figura 7B). A formulação que apresentou o maior conteúdo de compostos fenólicos foi a formulação 25%, no dia 6 da fermentação. Logo, a associação dos substratos utilizados nessa proporção habilita uma produção expressiva de compostos bioativos.

Ao formular análogos com substrato de bioresíduos de acerola, Leonarski (2021) reportou teores iniciais de compostos fenólicos totais de 264 a 982 mg EAG/L, e uma das amostras analisadas nesse estudo corresponde ao valor inicial da formulação 75%, as demais são maiores que as formulações elaboradas com jambu. De acordo com o mesmo estudo, as amostras de subproduto de acerola tiveram um primeiro ciclo fermentativo de 15 dias, e flutuações foram observadas entre os dias 0 e 7 assim, como nas formulações de jambu neste estudo. No dia 7, as formulações apresentaram valores na faixa de 265 a 1180 mg EAG/L, apresentando uma estabilidade no conteúdo mesmo com as flutuações presentes. A formulação 100% jambu apresentou valores menores entre todas as comparações com diferença de aproximadamente 60 mg EAG/L

A estabilidade apresentada nas formulações de jambu e bioresíduo de acerola se apresentam devido a diminuição do pH que dificulta a degradação de compostos fenólicos, havendo um aumento nos dias posteriores de fermentação devido a biotransformações de compostos em seus isômeros e a liberação de enzimas que em baixo pH hidrolisa os compostos fenólicos em moléculas menores (Jayabalan et al., 2008).

Ayed e Hamdi (2015), ao analisarem o conteúdo de compostos fenólicos totais em análogo de kombucha usando cacto-pera em seus 12 dias de ciclo fermentativo o verificaram valores estáveis. No dia 9, apresentou 858 mg EAG/L e no último dia apresentou teor de 857 mg EAG/L. Os valores de compostos fenólicos para o análogo

com cacto-pera em geral apresentam maiores conteúdos de compostos fenólicos e betalainas, e ainda assim a maior taxa de geração de compostos ainda pertence a formulação 100% jambu ao levar em consideração a razão entre o dia inicial e final da fermentação.

Velincaski et al. (2014) ao utilizar erva cidreira (*Melissa officinalis L.*) para realizar um análogo de kombucha (substituição total de *Camellia sinensis*), também teve 7 dias na etapa de primeira fermentação, seu conteúdo inicial de 708,6 mg EAG/L sofreu flutuações, assim como as formulações preparadas com jambu, o conteúdo de compostos fenólicos é de 850,3 mg EAG/L ao final da fermentação, valores maiores que as formulações de jambu devido a quantidade maiores na diversidade de compostos na erva cidreira como ácido rosmarínico, cafeico, clorogênico, ferúlico e quercetina (Četojević-Simin et al., 2012)

As kombuchas elaboradas com erva-mate por Lopes (2019) apresentam condições de preparo de erva semelhantes ao preparo das formulações com jambu (10 g/L de erva com adição de 90 g/L de sacarose) o estudo com erva-mate apresenta 12 dias de ciclo fermentativo, a formulação no dia final mais alta de jambu é a 25% com $617,57 \pm 14,27$ mg EAG/L enquanto a maior de erva-mate tem valor de aproximadamente $810,3 \pm 3,5$ mg EAG/L no mesmo dia.

A formulação de menor conteúdo de erva-mate é $432,7 \pm 3,6$ mg EAG/L, ainda sendo maiores que as demais formulações de jambu com exceção da 25%. Lopes (2019) aponta que a concentração de compostos fenólicos é dependente da concentração de substrato. As concentrações de jambu e erva mate utilizadas para a elaboração das bebidas de 10 g/L não é usual, sendo maiores que diversos estudos, para o jambu, essa concentração ainda não proporciona teores tão altos de CFT iniciais, porém os aumentos de CFT entre todos os dias de erva-mate estão entre 7,2% e 9,6%, aumentos menores que todas as formulações de jambu com exceção da formulação 50% e do próprio controle do estudo.

Geralmente, os compostos fenólicos encontradas em abundância na natureza são divididos em 2 grandes grupos, os flavonoides e os ácidos fenólicos, ambos de extrema importância para a elaboração de um novo fermentado com características funcionais, o conteúdo de flavonoides totais pode ser observado na Figura 8.

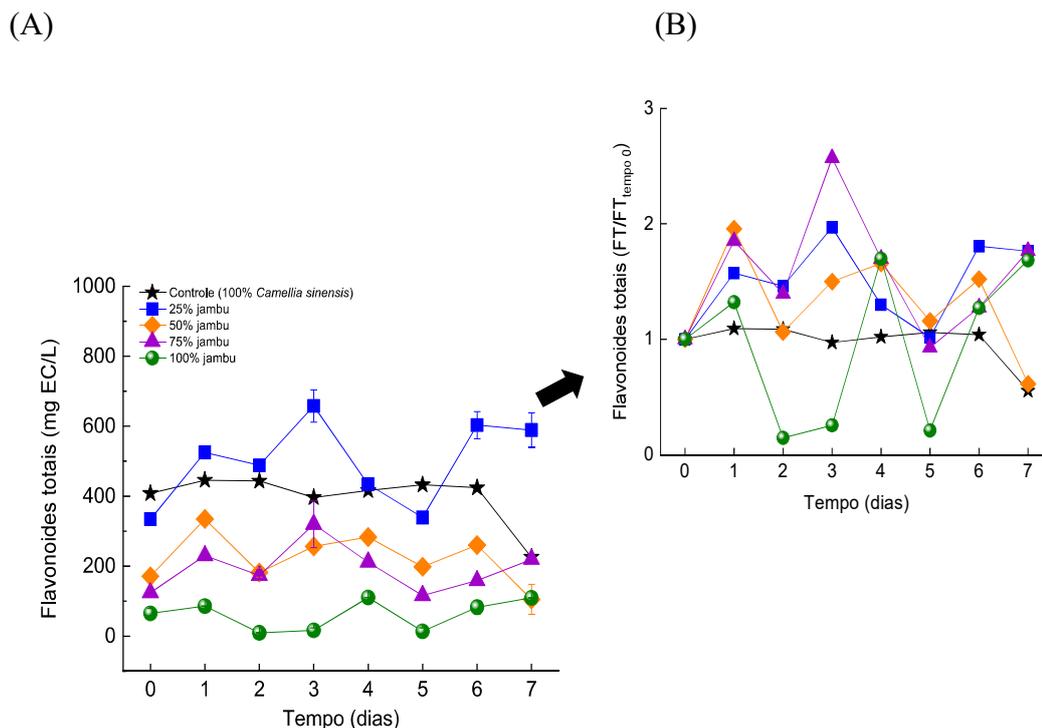


Figura 8: Teor de Flavonoides Totais (FT) durante o processo fermentativo de kombuchas e análogo de jambu, em que gráfico A corresponde aos valores de FT em cada dia da fermentação, e gráfico B corresponde a diferença de cada ponto em relação ao conteúdo inicial. Valores expressos em mg equivalente de catequina (mg ECAT).

Fonte: Próprio Autor.

Dos resultados obtidos nota-se que a formulação controle possui maior teor inicial de compostos fenólicos e de flavonoides. Esse conteúdo sofre alterações não tão expressivas em comparação as outras formulações, e ao final da fermentação, o conteúdo apresenta maior taxa de consumo de flavonoides totais entre as bebidas (Figura 8B).

As formulações 75% e 100% Jambu apresentaram os maiores aumentos nos teores de flavonoides totais durante a primeira fermentação das kombuchas neste estudo. A formulação 100% é a que possui o menor conteúdo de flavonoides totais em 7 dias de fermentação e a que apresenta comportamento de geração e consumo mais acentuada.

Ao final do processo, a formulação 100% jambu –se encontra com um conteúdo maior que no início da fermentação indo de $65,03 \pm 14,19$ para $109,5 \pm 0,9$ mg ECAT/L.O

mesmo também pode ser observado para a formulação 75% de forma que seus teores são maiores que na formulação 100%, mas observa-se um comportamento de consumo e síntese menos expressivo. As duas formulações aparentam não haver grandes distinções no conteúdo de flavonoides. De maneira geral, a adição de 25% de jambu na formulação de kombucha parece contribuir com os maiores teores de flavonoides totais na bebida.

Tu et. al. (2019) ao investigar as kombuchas elaboradas com soro de soja, reportaram 111,61 mg equivalentes de rutina /mL. Os autores observaram que o teor de flavonoides totais não apresentaram flutuações durante essa etapa de fermentação de fermentação, mas no último dia (8º) o teor aumentou para 264,44 mg RE/mL . De acordo com os autores, o aumento do conteúdo de flavonoides nas kombuchas elaboradas com o soro de soja pode estar relacionado com ação enzimática do meio. A enzima β -glucosidase é responsável por sintetizar os compostos disponíveis na fermentação juntamente com as mudanças dos ácidos (Cheng et al., 2013; Sun, Li & Chen, 2015). Esse mecanismo gera flavonoides combinados, além da produção de novos compostos para o metabolismo microbiano, e esse fator também pode estar ligado às formulações de kombucha.

3.1.3 Monitoramento da Capacidade Antioxidante

A capacidade antioxidante das formulações desenvolvidas neste estudo, conforme os dias de fermentação, pode ser visto na Figura 13.

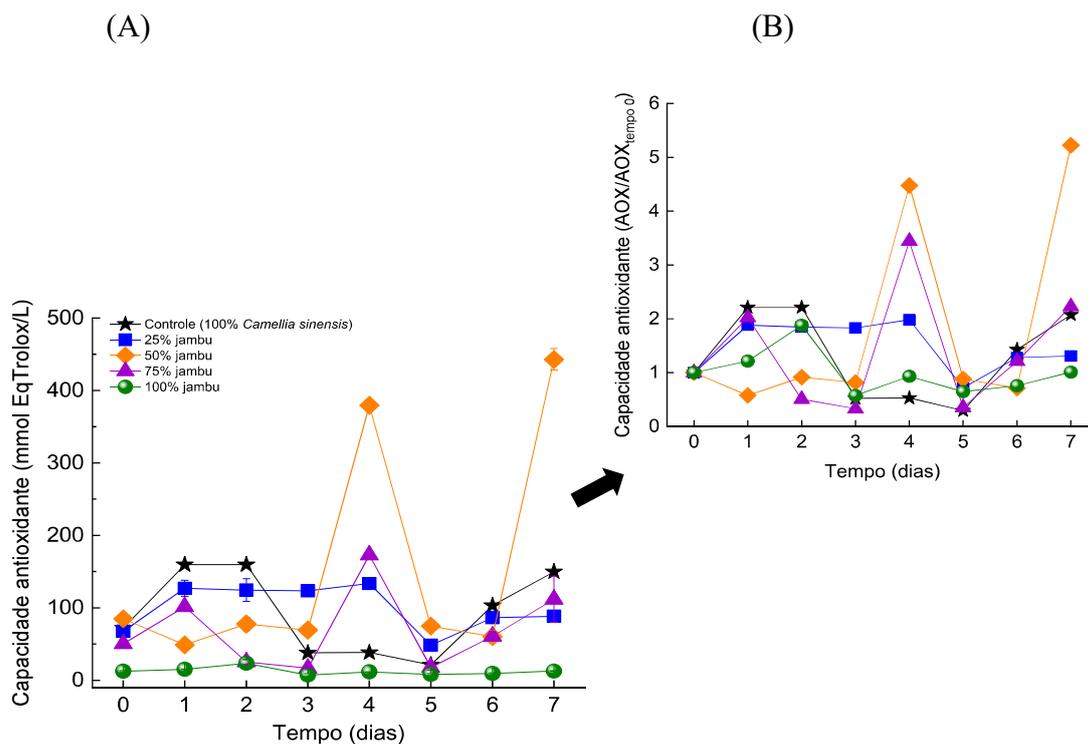


Figura 9: Valores de Capacidade Antioxidante durante o processo fermentativo de kombuchas e análogo de jambu, em que gráfico A corresponde aos valores de capacidade antioxidante em cada dia da fermentação, e gráfico B corresponde a diferença de cada ponto em relação ao conteúdo inicial. Valores expressos em mmol equivalente de Trolox (mmol ETr/L).
Fonte: Próprio Autor.

Nota-se que a formulação 100% jambu, por apresentar menor teor de compostos fenólicos e flavonoides exibiu também os menores valores de capacidade antioxidante na desativação do radical ABTS.

Durante o processo fermentativo da formulação 100%, o dia em que foi observada a maior capacidade antioxidante para as bebidas foi o segundo ($30,52 \pm 12,66$ mmol ETr/L), diferentemente do dia com maior conteúdo de compostos fenólicos (sétimo). O dia de fermentação em que as bebidas apresentaram o menor teor de compostos fenólicos totais foi o dia 3, e nesse caso, correspondeu ao dia de fermentação com a menor capacidade antioxidante.

A formulação 50% de jambu apresentou o maior valor de desativação de radicais ABTS durante o processo fermentativo, e esse maior potencial antioxidante foi observado no dia 4 da fermentação, 1 dia após o maior conteúdo de compostos fenólicos, mas os

valores de compostos fenólicos não apresentaram alterações expressivas no processo, tendo a menor taxa de produção, enquanto os valores de capacidade antioxidante aumentaram consideravelmente.

A fermentação controle possuiu valores de capacidade antioxidante maiores em dias iniciais (1 e 2) e no dia 6, mas não foi a que possuiu a maior capacidade antioxidante de dias isolados de fermentação incluindo o último dia do processo. Logo, o processo de extração e disponibilidade da *Camellia sinensis* pode ter sido maior, mas não favoreceu a maior capacidade antioxidante dentre as formulações, e sim o *blend* de mesmas proporções de Jambu e *Camellia sinensis*.

Os análogos à kombuchas com proporções de soro de soja reportadas por Tu et al. (2019) apresentaram um potencial antioxidante crescente à medida que a fermentação avançava, tendo um aumento da capacidade redutora para 80%, enquanto a formulação contendo 50% de soro de soja atingiu 53,07%. Em outro estudo, Leonarski (2021) apontou o aumento na capacidade antioxidante de 14,8% e 6,6% em kombuchas de bioresíduos de acerola no fim do ciclo fermentativo, enquanto a formulação 100% desenvolvida nesse estudo apresentou aumento na capacidade antioxidante em aproximadamente 1,15% em relação a sua atividade inicial.

A capacidade antioxidante da formulação 100% jambu não foi considerada tão potente quanto as demais formulações, mas a mistura 50% apresentou a maior eficiência, e diferentemente dos demais aspectos analisados, os 7 dias de fermentação foram necessários para a manutenção do potencial antioxidante dos produtos desenvolvidos neste estudo.

Por fim, para capacidade antioxidante, a formulação 50% no dia 4 apresentou o maior valor desse estudo com $379,5 \pm 1,46$ mmolETr/L, e a mesma formulação é a que continua com o maior valor de capacidade antioxidante ao fim da primeira etapa de fermentação, o aumento na proporção de *Camellia sinensis* influenciou no aumento da capacidade até a formulação 50% tendo baixa desses valores na formulação 75% e controle, a substituição total do substrato tradicional teve o menor valor de capacidade do estudo no dia 6 com $7,17 \pm 2,26$ mmolETr/L, sendo a melhor proporção para essa propriedade no fim da primeira etapa de fermentação o blend 50%.

3.1.4. Aspectos gerais da bebida finalizada após a segunda fermentação (Focus Group)

Como descrito no processo de obtenção de cada bebida, as formulações passam por uma segunda fermentação de caráter anaeróbio já em embalagens de seu armazenamento sem o SCOBY.

Após as formulações estarem prontas para o consumo, o aspecto geral para as formulações foi descrito por um *focus group* de 10 pessoas sem o conhecimento de qual amostra representava cada formulação, a duração para o levantamento dos aspectos gerais teve a duração de 15 minutos.

Para a formulação 100% jambu, se obteve uma formulação amarela, e a mais clara dentre as formulações, foi a que apresentou uma quantidade menor de corpo de fundo natural de kombuchas, apresentou boa carbonatação, sendo visível espuma e bolhas no produto. Foi observado um *flavor* mais azedo entre as formulações, e a sensação de “travo”, proveniente da adstringência foi observada no produto. A formulação 100% jambu foi caracterizada como um produto doce, com dormência bucal mais presente, com notas olfativas e degustativas de limão, as notas avinagradas também foram mais apontadas para essa formulação. Essa formulação também foi caracterizada como a menos doce pelo *focus group*.

Em relação a formulação 75%, foi observada um amarelo mais escuro, foi descrita também como mais pungente que a formulação 100% jambu, apresentou um aroma avinagrado, porém leve, a acidez também foi uma característica apontada para a formulação. Essa formulação apresentou uma doçura maior, sendo a sensação adstringente e dormência do produto apontada com intensidade de leve a média, e foi apontado notas sensoriais de abacaxi.

A formulação 50% apresentou uma coloração amarela claro, menos límpido que a formulação 100% jambu, com viscosidade menor que as demais formulações. A bebida foi apontada como a acidez mais leve entre as formulações, com menor sabor residual entre as formulações, mais agradável que a formulação 75% e com aroma mais sutil, notas sensoriais de chocolate, cerveja e levedo foram descritas para essa formulação. Essa formulação apresentou menor carbonatação visual do que as formulações anteriores, ao fim da primeira etapa de fermentação, os valores de análise de acidez total da formulação 75% foi menor que a formulação 50%, esse fator pode explicar o comportamento do

apontamento de ser mais agradável que a formulação 50% se os mesmos valores forem obtidos no produto finalizado.

A formulação 25% foi apontada como a mais doce, mais enjoativa devido ao seu gosto residual, com maior presença de corpo de fundo proveniente da segunda fermentação, foi apontada adstringência para a formulação e um aroma leve. Para essa formulação, não foi apontada presença tão significativa de *flavor* avinagrado e adstringência, e a formulação apresentou a menor carbonatação visual dentre as demais.

A conclusão do *focus group* foi que todas as formulações apresentaram zonas de aceitação e rejeição por parte dos participantes de modo em que elas não diferiram na aderência afetiva levando em consideração a impressão global. Portanto, o que foi definido foi a aplicação da análise sensorial das 4 formulações desenvolvidas para em estudos futuros comparar o seu desempenho melhorado com a kombucha tradicional de *Camellia sinensis* e as comerciais.

3.2. Características físico-químicos das formulações desenvolvidas

A Tabela 2 exibe as características físico-químicas das bebidas obtidas após a segunda etapa de fermentação, seguido do armazenamento sob refrigeração (5°C) até estarem prontas para o consumo.

Tabela 2: Características físico-químicas das formulações desenvolvidas das bebidas à base de jambu.

Formulação	100% jambu	75% jambu	50% jambu	25% jambu	Controle
pH	2,89 ±0,03 ^c	2,93±0,03 ^c	3,04±0,01 ^b	3,19±0,01 ^a	3,07±0,02 ^b
Acidez Total (meq NaOH/L)	174,17±7,38 ^a	129,2±4,14 ^b	124,45±2,51 ^b	73,47±2,74 ^c	91,52±2,90 ^d
Acidez Volátil (meq NaOH/L)	125,72±11,33 ^a	93,73±7,73 ^b	106,72±3,83 ^b	58,58±2,39 ^c	65,23±11,01 ^c
Acidez Fixa (meq NaOH/L)	48,45±13,47 ^a	35,47±11,88 ^b	17,74±5,80 ^c	14,88±4,87 ^c	26,28±10,59 ^{bc}
SST (°Brix)	10,93±0,20 ^{cd}	10,1±0,1 ^d	11,7±0,001 ^c	15,07±0,23 ^c	13,5±0,001 ^b
Densidade (kg/m ³)	1,44±0,08 ^{cd}	1,40±0,004 ^d	1,47±0,001 ^c	1,60±0,01 ^a	1,54±0,001 ^b

Dados com teste de Tukey a 5% em que letras diferentes entre linhas infere diferença estatística entre as amostras.

Em relação ao pH das kombuchas prontas, a formulação 100% jambu continuou com o valor mais baixo, decrescendo 0,14 unidades do último dia da primeira fermentação para a bebida finalizada. Todos os valores de pH se encontram dentro da legislação vigente (2,5-4,2), as faixas de pH para a formulação 100% jambu caracteriza o tempo de fermentação como ideal, haja vista tempos maiores de fermentação resultariam em um produto com pH fora do padrão de acordo com a IN 41 do MAPA de 2019.

Os valores de acidez total convergem com os valores de pH obtidos, sendo a formulação de 25% jambu a menos ácida, seguida da kombucha controle (*Camellia sinensis*). Em termos de acidez volátil, que é o que define a legislação de kombuchas (Instrução Normativa 41 do MAPA de 2019), todas as bebidas atenderam os parâmetros de 30 a 130 meq NaOH/L, com atenção apenas para a formulação 100% jambu, que está quase no limite do parâmetro.

A formulação 50% apresentou maior valor de acidez volátil, mesmo não sendo a formulação com maior acidez total. O teor de acidez volátil da formulação 50% foi 85% do total de seus ácidos, as formulações apresentaram teores de acidez volátil de 71% a 85% do valor total de seus ácidos, sendo a formulação controle a de menor percentual de

voláteis, a acidez volátil é um dos aspectos de qualidade mais importantes em bebidas fermentadas como vinhos e kombuchas, em vinhos está ligada a defeitos da fermentação pelas cepas *Dekkera* ou pela *Brettanomyces*, em kombuchas é contrário, os microrganismos são inoculados e devem estar presentes (Polleto, 2009).

O aumento da acidez volátil nesta está ligado a atividade das leveduras acéticas e a produção de seus ácidos inerente a fermentação (Freer et al., 2002; Polleto, 2009; Silva, 2021). No presente estudo, a fermentação acética se dá em maior proporção do que a alcóolica já na primeira etapa de fermentação, e na etapa até a estocagem da bebidas de jambu ela se torna ainda maior, considerando os teores altos de acidez volátil.

O comportamento na primeira etapa pode estar ligado a microaeração acordo com Paludo (2009) atuando as bactérias acéticas, na segunda etapa se vê a atuação da *Brettanomyces* que foi inoculado ao substrato de acordo com Freer et al., 2002 e Polleto 2009, vale lembrar que os valores obtidos por esse metabolismo microbiano além de estar ligado intrinsecamente com a qualidade de fermentados, está ligado a aceitação sensorial do produto por quem vai consumir (Silva,2021).

Em termos de sólidos solúveis totais, todas as bebidas apresentam um aumento após o término da segunda fermentação, mas não tão expressivos, sendo a formulação 25% a que teve um aumento maior. A legislação IN 49 de 2019 não estabelece limites mínimos e máximos para sólidos solúveis totais, sendo assim, os cuidados para esse aspecto se volta para as concentrações de fonte de carbono usadas, para que suas adições ou falta não provoquem a inibição das leveduras presentes na segunda etapa e geração de álcool excessiva na primeira etapa que levam a inibição de bactérias fermentativas.

Com relação aos teores de açúcares (Tabela 3), assim como os valores de sólidos solúveis totais, os valores de açúcares totais também tenderam a aumentar ligeiramente e de forma estável após o término da segunda fermentação. A formulação 25% jambu foi a que exibiu maior teor de açúcares totais.

Tabela 3 - Características de fontes energéticas (açúcares) das formulações desenvolvidas das bebidas à base de jambu.

Formulação	Açúcares	Açúcares	Açúcares Não	Gradação
	Totais (%)	Redutores (%)	Redutores (%)	Alcólica (%)
100% Jambu	12,20±0,91 ^c	1,02±0,02 ^b	11,18±0,89 ^c	<0,1 ^a
75% Jambu	11,01±1,09 ^d	0,69±0,03 ^d	10,32±1,06 ^d	<0,1 ^a
50% Jambu	14,17±0,68 ^{bc}	1,18±0,01 ^a	12,99±0,68 ^{bc}	<0,1 ^a
25% Jambu	18,53±0,18 ^a	0,33±0,01 ^e	18,20±0,17 ^a	<0,1 ^a
Controle	15,31±0,76 ^b	0,92±0,01 ^{ce}	14,39±0,74 ^b	<0,1 ^a

Dados com teste de Tukey a 5% em que letras diferentes entre colunas infere diferença estatística entre as amostras.

Os valores de açúcares totais e redutores ao longo desse estudo foram estáveis, tal estabilidade também aconteceu no estudo de Tu et al. (2019) utilizando soro de soja nas bebidas, e foi explicada que para os açúcares redutores também são consumidos pelas bactérias acéticas produzidas pela hidrólise de sacarose. Os valores de açúcares redutores do presente estudo se assimilaram a estudos disponíveis na literatura como o substrato *rooibos* realizado por Gaggia et al. (2019).

Os valores de açúcares totais foram maiores que alguns estudos da literatura como o realizado por Gaggia et al. (2019) e o de erva mate realizado por Paludo (2019), O mecanismo das mudanças bioquímicas durante a fermentação com o sistema simbiótico das leveduras e bactérias é complexo. A ordem o detalhamento das mudanças existentes não são compreendidas por inteiro, embora uma série de estudos sobre a composição química da kombucha esteja avançando periodicamente (Kallel et al., 2012).

Em relação a geração de etanol (Tabela 3), com a quebra dos sólidos solúveis nas kombuchas desenvolvidas nesse estudo, nenhuma produção foi significativa a passar 0,5% para ser considerada alcólica, todos os valores de etanol ficaram abaixo de 0,1%, sendo necessário estudos com equipamentos mais sensíveis para identificação nas alterações do conteúdo de etanol nas kombuchas elaboradas com jambu. Sharifudin et. al. (2021) reportaram aumento do conteúdo etanólico até o quarto dia de fermentação, e logo após, o conteúdo foi convertido em ácido acético, levando os níveis de etanol a 0,04%.

De acordo com Sharifundin (2021), na bebida utilizando mamão a levedura *D. bruxellensis* convertem a sacarose em etanol e dióxido de carbono. No presente estudo com as bebidas elaboradas com jambu, a *B. bruxellensis* pode ter feito essa conversão.

Nas bebidas feita com mamão, a bactéria acética *K. rhaeticus* se desenvolve e oxida etanol em ácido acético, que se torna um dos principais ácidos orgânicos na kombucha desenvolvida. Nas formulações com jambu as bactérias *Gluconacetobacter saccharivorans*, *Gluconacetobacter rhaeticus* podem ter feito a oxidação do etanol em ácido acético.

As bactérias acéticas oxidam dois catalisadores, álcool desidrogenase e aldeído desidrogenase, responsáveis pela diminuição do teor de etanol além da atuação da levedura *Brettanomyces*, e a literatura também reporta que kombuchas produzidas sob agitação produzem menos etanol devido a homogeneização com o oxigênio (Sharifundin et al., 2021).

3.3. Determinação de compostos bioativos das formulações desenvolvidas

Os dados obtidos com relação ao conteúdo de compostos fenólicos totais e flavonoides totais podem ser encontrados na Tabela 4.

Tabela 4 - Teor de compostos bioativos das bebidas desenvolvidas à base de jambu.

Formulação	Compostos Fenólicos Totais	Flavonoides Totais
	(mg EAG/L)	(mg EC/L)
100% Jambu	49,7±10,36 ^a	48,98±6,28 ^a
75% Jambu	91,8±2,49 ^b	64,91±1,87 ^b
50% Jambu	130,56±11,99 ^b	75,97±2,58 ^c
25% Jambu	112,55±7,48 ^b	106,95±9,17 ^{cd}
CONTROLE	348,81±62,20 ^b	174,10±6,00 ^d

EAG = equivalente de ácido gálico; EC = equivalente de catequina. Dados com teste de Tukey a 5% em que letras diferentes entre colunas infere diferença estatística entre as amostras.

Ao analisar os valores de compostos fenólicos e de flavonoides totais percebe-se que há uma redução expressiva com relação à bebida controle. A formulação controle

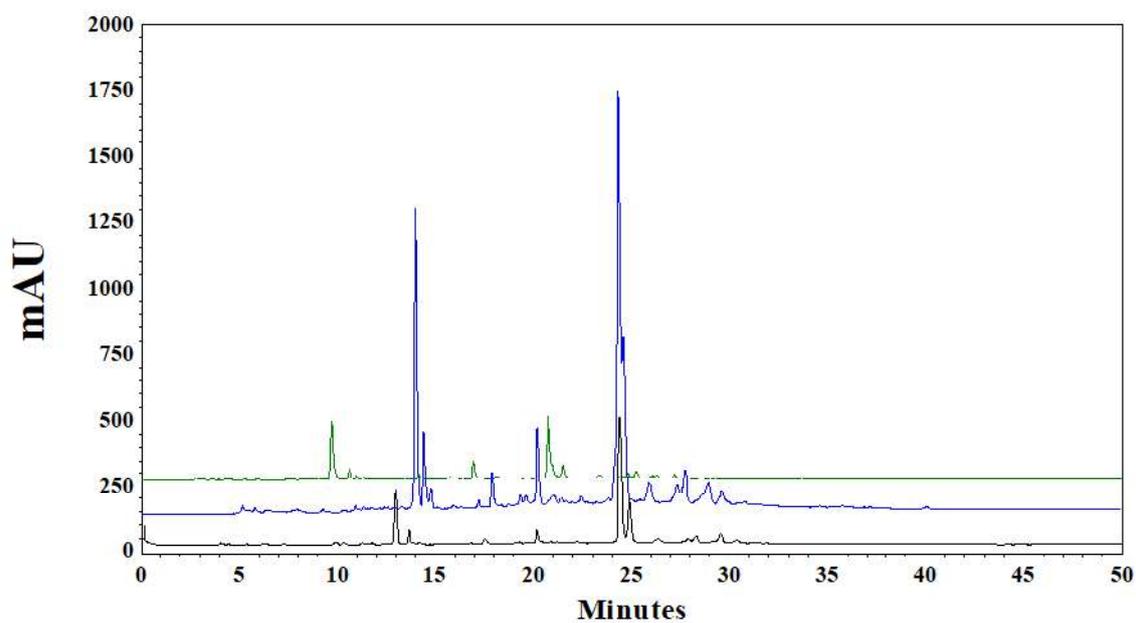
ainda apresentam os maiores teores de compostos fenólicos e flavonoides totais, sabendo que antes os valores variaram entre 209,64 e 715,48 mg EAG/L agora corresponde a uma faixa de 49,7 a 348,81 mEq/L. O mesmo comportamento foi observado para os teores de flavonoides totais, em que a faixa ao término da primeira fermentação compreendia entre 104,97 e 225,65 mg EC/L, e na bebida final variou de 48,98 a 174,10 mg EC/L.

Abuduaibifu & Tamer (2019) também identificou uma redução nos conteúdos de compostos fenólicos em bebidas com os *berries*, mas a redução não chega ser expressiva como nas formulações de jambu, enquanto as formulações feitas com alho e vinagre por Pure & Pure (2016) teve reduções maiores nos conteúdos de compostos fenólicos em relação ao seu conteúdo inicial, assim como as formulações de jambu.

Essas reduções são explicadas também pela continuidade do metabolismo microbiano do consórcio que ainda libera suas enzimas e ácidos no processo fermentativo, sendo que uma acidez muito elevada do meio começa a degradar compostos fenólicos mais sensíveis durante a estocagem do produto (Jayabalan et al., 2014). Logo, elevados teores de acidez total podem ter interferido negativamente no conteúdo dos compostos bioativos das formulações, diferentemente da primeira etapa de fermentação.

As mudanças nos perfis dos compostos fenólicos discutidos podem ser observadas nas figuras a seguir (Figura 10):

(A)



(B)

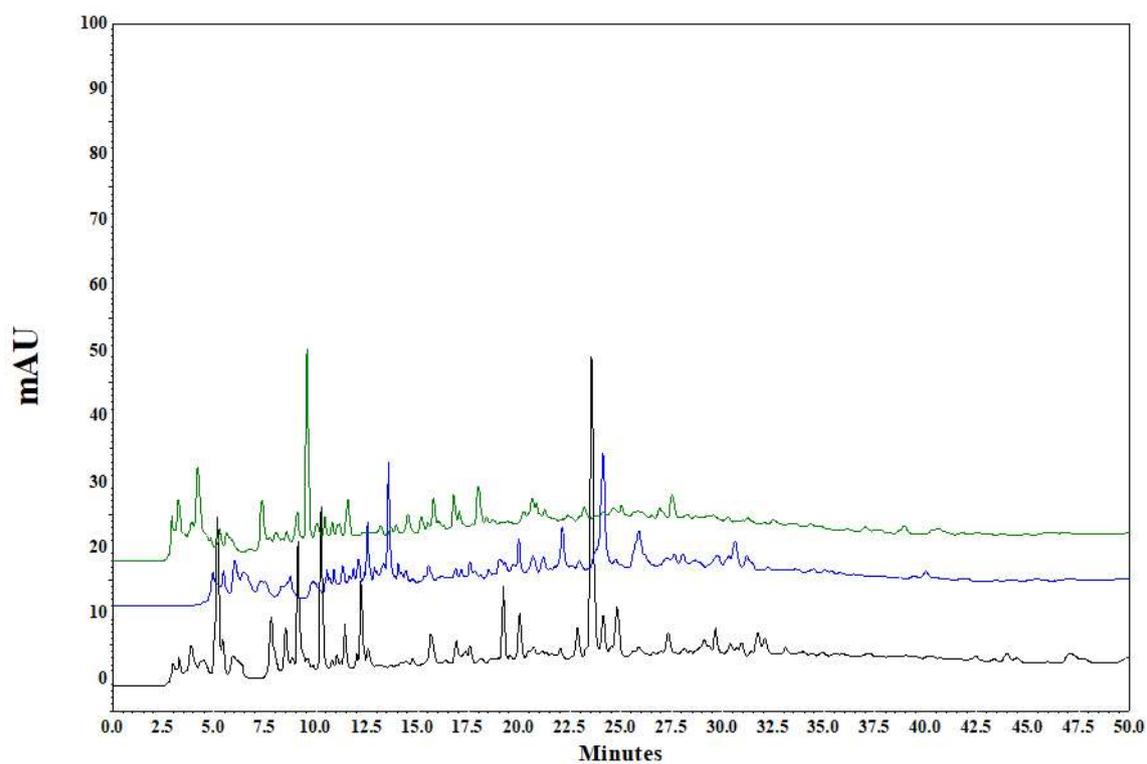


Figura 10: Cromatogramas, obtidos por HPLC-DAD a 270 nm, dos perfis de compostos fenólicos: (A) formulação 50% jambu; e (B) formulação 100% jambu. Legenda: linhas em preto = dia 1 de Fermentação, linhas em azul = dia 4 de fermentação, e linhas em verde = dia 7 de fermentação.

Nessas imagens plotadas apenas para fins ilustrativos, o perfil de compostos fenólicos durante a fermentação sugere um aumento da intensidade de alguns compostos representados pelos picos ao decorrer da fermentação, bem como o surgimento de novos compostos na formulação 50% jambu (Figura 10a). Na formulação 100% jambu (Figura 10b), o que aparenta é a diminuição das intensidades dos picos, porém com um número maior de compostos formados no decorrer dos dias de fermentação.

3.4. Capacidade antioxidante das bebidas desenvolvidas

Os resultados da capacidade antioxidante para as bebidas formuladas nesse estudo podem ser encontrados na Tabela 5.

Tabela 5: Potencial antioxidante das formulações desenvolvidas das bebidas à base de jambu.

Formulação	ABTS (mmol trolox/L)	DPPH (mmol trolox/L)
100% Jambu	3,1±0,47 ^a	4,38±0,66 ^a
75% Jambu	8,65±1,47 ^a	12,19±2,08 ^a
50% Jambu	59,31±9,19 ^b	83,64±12,95 ^b
25% Jambu	66,22±2,80 ^b	93,28±3,95 ^b
Controle	83,93±1,53 ^c	118,37±2,16 ^c

Dados com teste de Tukey a 5% em que letras diferentes entre colunas infere diferença estatística entre as amostras.

Durante a 1^a fermentação, a formulação 50% apresentou maior capacidade antioxidante em comparação com a formulação controle. Ao término da 2^a fermentação, a formulação controle assumiu a maior capacidade antioxidante, e a formulação de menor potencial antioxidante continua sendo a 100% jambu, tanto no método de DPPH quanto ABTS, esses valores coincidem com os resultados obtidos do conteúdo de compostos fenólicos

Januário (2020) concluiu que o aumento da porcentagem em massa de SCOBY adicionado teve efeito negativo no potencial antioxidante de kombucha elaborada com *Hibiscus sabdariffa*. Assim como os compostos fenólicos que foram degradadas pela quantidade de ácido orgânicos e outros metabólitos gerado pelos microrganismos, uma

alta atividade microbiana durante a produção da bebida pode vir a impactar o potencial antioxidante observado.

3.5. Aspectos Microbiológicos

Os dados microbiológicos das formulações desenvolvidas nesse estudo podem ser observadas na Tabela 6.

Tabela 6 - Aspectos microbiológicos das kombuchas adicionadas de 25, 50, 75% de jambu e da bebida fermentada análoga elaborada com 100% jambu.

Formulação	Bactérias	Bolores e	Coliformes Totais (NMP)	Salmonella/Shigella
	Aeróbias Mesófilas -BAM (UFC)	Leveduras/Placa para Contagem Padrão – BL/PCD (UFC)		
100% jambu	$1,64 \times 10^5$	$2,71 \times 10^4$	Ausente	Ausente
75% jambu	$1,10 \times 10^5$	$1,27 \times 10^4$	Ausente	Ausente
50% jambu	$1,89 \times 10^4$	$1,32 \times 10^4$	Ausente	Ausente
25% jambu	$1,20 \times 10^4$	$7,09 \times 10^3$	Ausente	Ausente

Atestando a segurança da bebida, não houve nenhuma presença de coliformes e nem de *salmonella* ou *shigella*, sendo necessários estudos futuros para investigar a inibição microbiana dessas cepas em contato com os compostos bioativos da kombucha que possuem atividade antimicrobiana.

Para aeróbios mesófilos, fungos e leveduras não há nenhum parâmetro de unidades formadoras de colônia na bebida preconizado pela legislação sendo permitido seu consumo com os resultados obtidos, de acordo com as análises a quantidade de microrganismos teve tendência de aumento de acordo com a substituição da *Camellia sinensis* pelo jambu.

Lopes (2019), utilizando erva-mate como substrato, reportou valores de $6,4 \times 10^4$ para bactérias totais e $5,4 \times 10^3$ para bolores e leveduras ao término da fermentação,

sendo esses valores menores que as bebidas elaboradas com jambu, provavelmente devido às diferenças na composição do SCOBY. Além disso, Lopes (2019) atestou a atividade antimicrobiana de seu substrato, e teve resultado positivo de inibição para as cepas de *E. coli* e *S. aureus*, em todas as formulações de seu estudo. Portanto, a atividade antimicrobiana das bebidas elaboradas com jambu deverão ser futuramente investigadas, uma vez que foi verificada a ausência de *E. coli* neste estudo.

3.6. Avaliação Sensorial das bebidas

De acordo com a análise sensorial realizada com as bebidas desenvolvidas, do o perfil dos participantes foi caracterizado como sendo 57,5% do sexo masculino, e 42,5% do sexo feminino. Com relação à faixa etária, 75% dos participantes corresponderam à faixa etária de 18 a 25 anos, 17,5% corresponderam a faixa de 26-35, 6,67% da faixa etária de 36-50 anos, e por fim, 0,84% representam os participantes com mais de 50 anos. Do perfil dos participantes, ainda podemos inferir que 58,4% possuíam ensino superior incompleto, 32,5% corresponderam aos participantes com ensino superior completo, e por fim, 9,17% da população apresentavam ensino médio completo.

Em aspectos de preferência afetiva e consumo de jambu e kombucha, 32,5% dos participantes indicaram “gostam muito” de jambu, 25,84% “gostam moderadamente”, 16,67% “gostam ligeiramente”, 13,34% “nem gostam e nem desgostam”, 6,67% “desgostam ligeiramente”, 4,17% “desgostam muito de jambu” e por fim 0,84% “desgostam moderadamente”. Com relação a frequência de consumo, 36,67% dos participantes consomem jambu de forma mensal, 27,5% consomem jambu semestralmente, 18,34% nunca consomem ou consumiram jambu, 15% consomem jambu quinzenalmente, e por fim, 2,5% consomem 2 a 3 vezes por semana.

Com relação a kombucha, 87,5% dos participantes nunca consomem ou consumiram kombucha, além de indicar “não gostarem e nem desgostarem”, 5,84% ainda consomem o produto de forma mensalmente e gostam moderadamente do produto, 5% consomem semestralmente e gostam ligeiramente do produto, e por fim, 1,67% gostam muito do produto e consomem o produto quinzenalmente.

Os dados sobre os atributos sensoriais obtidas pela escala hedônica aplicada na análise sensorial podem ser observados na Figura 11.

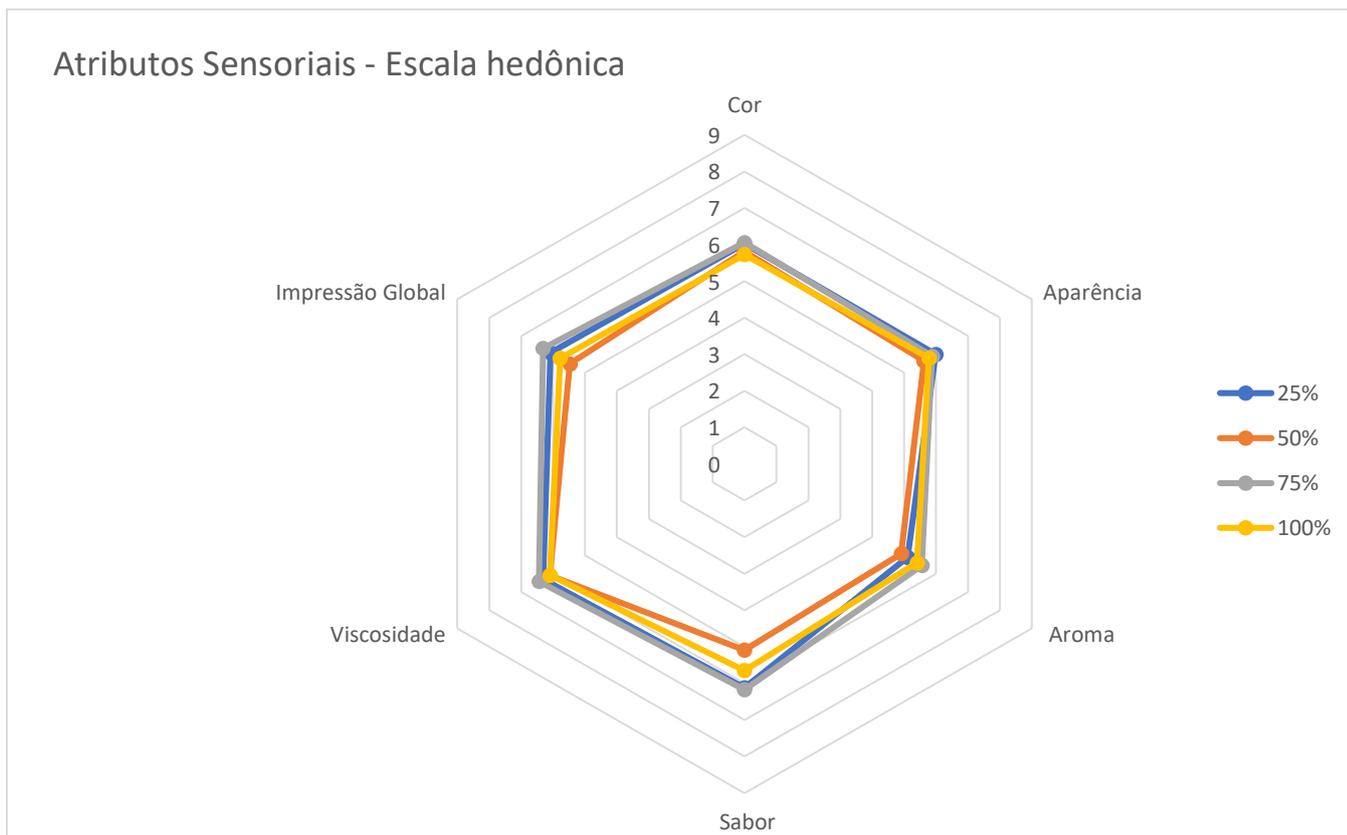


Figura 11 - Atributos sensoriais obtidos da escala hedônica aplicadas na análise sensorial das kombuchas e análogos 25, 50, 75 e 100% jambu.

Com relação ao atributo cor, o perfil dos julgadores (provadores não-treinados) tiveram uma preferência afetiva maior para a formulação 75% jambu (6,05) e menor para a formulação 100% jambu (5,72), e isso significa que os julgadores indicaram entre “nem desgostar ou gostar da cor” e “gostar ligeiramente” da coloração das bebidas. As bebidas apresentaram coloração amarelo vívida nas formulações com maior proporção de jambu, e um amarelo mais escuro nas que continham um percentual maior de *Camellia sinensis*, como indicado na Figura 12.

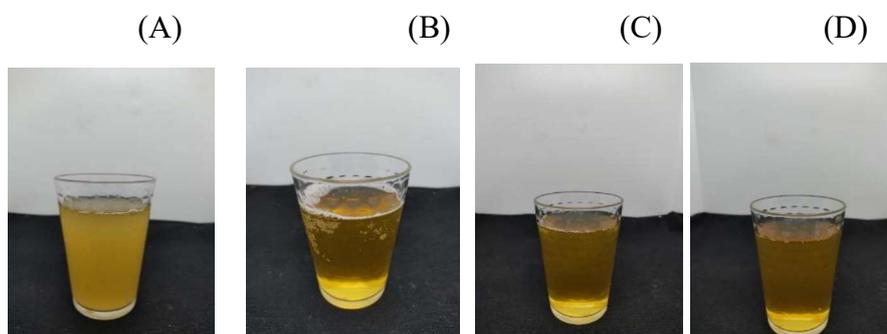


Figura 12: Formulações desenvolvidas para consumo em que (A) formulação 25%, (B) formulação 50%, (C) formulação 75% e (D) formulação 100% jambu.

No atributo aparência, para todas as formulações, os julgadores indicaram “nem gostaram e nem desgostaram”, com médias entre 5,65 na formulação 50% jambu e 5,99 na kombucha 25%. A aparência da kombucha é um aspecto mais complexo para ser avaliado devido aos corpos de fundo que se formam nas garrafas durante a segunda fermentação e armazenamento. Mesmo que os corpos de fundo sejam pequenos, é um aspecto que causa estranheza no consumo do produto por parte dos participantes, e as amostras foram diferentes estatisticamente.

Ao avaliar o aroma das kombuchas elaboradas, foram observadas as notas mais baixas da análise sensorial, sendo um aspecto ainda mais complexo do que a aparência, pois quando o aroma do produto remete a algo que não está bom para o consumo, por ter notas olfativas fortes da fermentação, ele remete a “algo velho” ou “que está apodrecendo” para os consumidores não usuais do produto. Mesmo com esse entrave, as notas mais baixas pertenceram a formulação 50% com 4,91 e 5,55 para a formulação 75%, e isso posiciona as kombuchas em uma definição de “desgostar ligeiramente” da formulação 50% e “nem gostar ou desgostar” para as demais formulações com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Um dos aspectos mais importantes para as bebidas desenvolvidas é o sabor, e nesse atributo nenhuma das formulações obteve médias que colocassem a preferência afetiva em zona de rejeição. As médias foram observadas entre 5,09 (50% jambu) e 6,17 (75%, jambu), enquanto para as formulações 50% e 100% de jambu, os julgadores indicaram “nem gostei e nem desgostei” do produto, e para as formulações 25% e 75% de jambu, os julgadores indicaram “gostei ligeiramente”, com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

A viscosidade do produto também foi concentrada em uma zona de aceitação em todas as formulações, com os provadores indicando “gostei ligeiramente”, estando as médias entre 6,09 (100% jambu) e 6,43 (75% jambu). A viscosidade de um produto está indiretamente ligada com a carbonatação do produto e o quão densa ou não está a bebida. A bebida com maior viscosidade, segundo os provadores, foi a que continha 25% jambu, e a com menor viscosidade foi a 75% jambu, mas tal fato não descreve exatamente a escolha dos participantes ao mostrar a sua preferência afetiva nesse atributo.

Por fim, a impressão global de um produto é a avaliação da combinação de todos os atributos analisados previamente pelos participantes. A kombucha com melhor desempenho na sensorial foi a formulação 75% (6,31), indicada como “gostei ligeiramente”, a formulação 25% (6,07) e 100% (5,75) também foram indicadas como

gostei ligeiramente, a formulação 50% (5,46) foi a de menor desempenho tendo indicação de “nem gostei e nem desgostei” da bebida, esses valores de análise sensorial são satisfatórios, pois a análise foi realizada com um grande número de provadores não treinados e que tinham pouco contato com produto, e se trata de um produto novo com primeiras formulações com sensorial nesse estudo.

Os dados sobre os atributos sensoriais obtidos pela escala do ideal aplicada na análise sensorial podem ser observados na Figura 13.

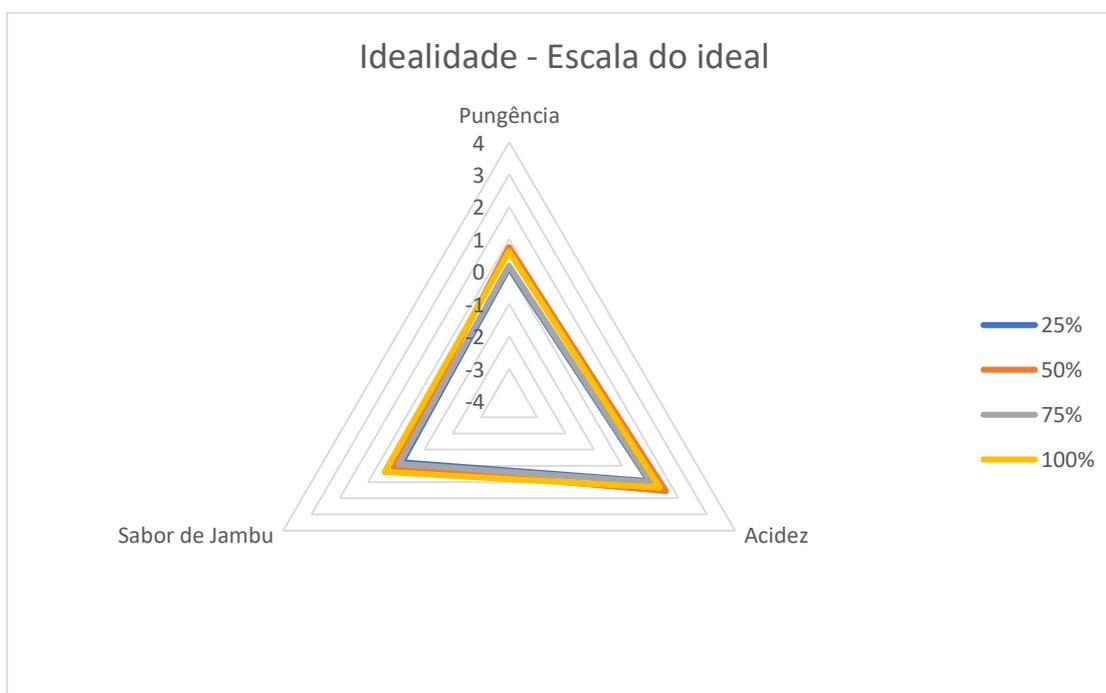


Figura 13 - Atributos sensoriais obtidos da escala do ideal aplicadas na análise sensorial das kombuchas e análogos 25, 50, 75 e 100% jambu.

A idealidade de alguns atributos chaves de um produto ajuda a identificar o que pode estar havendo na dificuldade da preferência afetiva dos provadores não-treinados ao fim do primeiro consumo do produto. O primeiro atributo analisado pelos participantes em relação a idealidade foi a pungência, ou seja, a sensação incômoda causada pelo gás carbônico em bebidas carbonatadas. A formulação 25% jambu foi identificada como a menos pungente, logo a mais ideal de acordo com os participantes, enquanto a 50% jambu foi descrita como a menos ideal. A idealidade com relação à pungência foi estatisticamente diferente entre as amostras ($p < 0,05$).

O segundo atributo foi a acidez, um atributo também complexo que está diretamente ligado a aceitação afetiva do sabor do produto. A formulação mais ideal, de acordo com os participantes, foi a 25% jambu (0,95), e a menos ideal foi a 50% jambu (1,55). Com exceção da bebida com 25% jambu, as demais formulações foram consideradas com acidez ligeiramente mais forte que o ideal, sendo estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$).

O último atributo foi o reconhecimento do sabor de jambu nas bebidas. Todas as formulações foram consideradas como ideal, sendo a formulação 50% jambu a que apresentou melhor resposta de idealidade (0,075), de acordo com os participantes. A mais distante de uma idealidade foi a formulação 100% jambu, sendo considerada a com mais sabor de jambu, estatisticamente as amostras foram diferentes significativamente.

Os dados sobre a intenção de compra de cada formulação desenvolvida pode ser observada na Figura 14 a seguir.

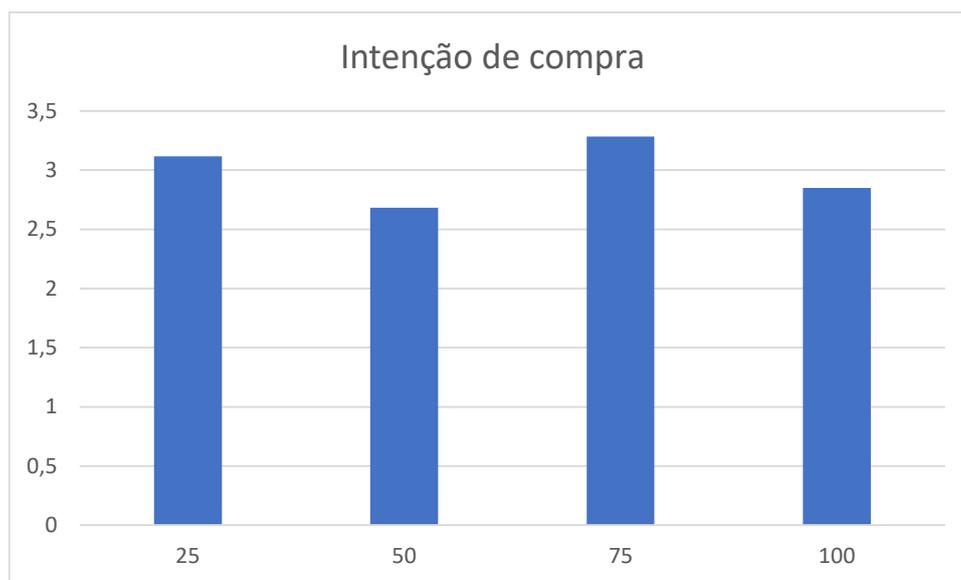


Figura 14 - Intenção de compra obtidas da análise sensorial das kombuchas e análogos contendo 25, 50, 75 e 100% jambu.

De forma geral, e com base nas análises de preferência afetiva e idealidade, os provadores não-treinados indicaram que “nem gostaram e nem desgostaram” das bebidas elaboradas. Quanto à intenção de compra, as formulações contendo 25 e 75% jambu apresentaram os melhores resultados, sendo a formulação de 75% a com maior potencial de intenção de compra.

3.7. Monitoramento qualitativo (ilustrativo) do perfil de compostos fenólicos

O perfil de compostos fenólicos obtido por cromatografia líquida de alta eficiência para os produtos consumidos pelos provadores não treinados tiveram uma resposta melhor no comprimento de onda de 270 nm, e pode ser observado na Figura 15.

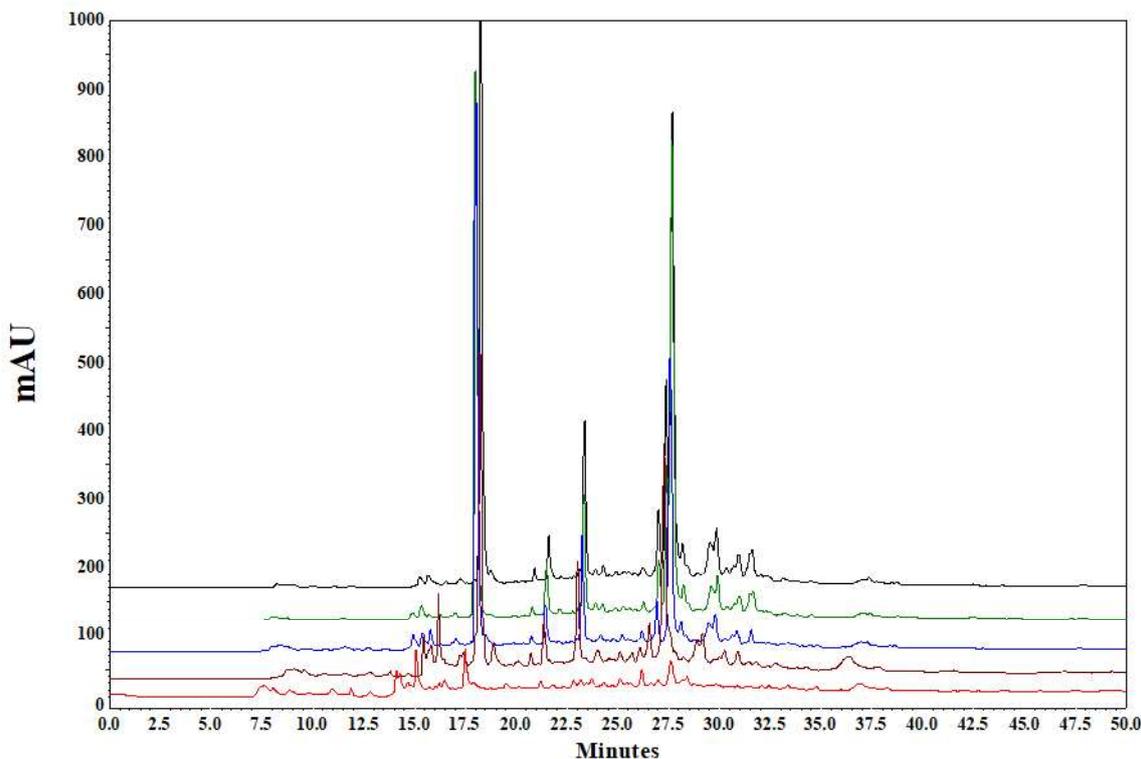


Figura 15: Perfil cromatográfico, obtido por HPLC-DAD a 270 nm, de compostos fenólicos de bebidas fermentadas elaboradas no estudo. Legenda: **linha preta** = kombucha tradicional (*Camellia sinensis*); **linha verde**= 25% jambu, **linha azul** = 50% jambu, **linha marrom** = 75% jambu, e **linha vermelha** = 100% jambu.

De acordo com o perfil qualitativo-ilustrativo de compostos fenólicos (Figura 15), temos que a formulação tradicional exibiu uma intensidade bastante expressiva de compostos fenólicos disponíveis para o consumo. No entanto, as formulações adicionadas de 50% e 75% de jambu apresentaram um perfil condizente com a mistura dos mesmos compostos oriundos da *C. sinensis* em alta intensidade, junto com demais compostos provenientes do jambu.

Já o perfil de compostos fenólicos da formulação 100% jambu apresenta apenas os compostos oriundos do jambu, como esperado, e em uma intensidade muito menor do que as demais. No entanto, ainda com a ressalva de ter sido a formulação

com maior taxa de geração de compostos fenólicos. Dessa forma, estudos aprofundados sobre a estabilidade desses compostos podem vir a ser o alvo de novas pesquisas futuras.

No perfil de compostos fenólicos da formulação 100% jambu, foram detectados 45 picos de compostos passíveis de identificação e quantificação. Na formulação 50% jambu foram detectados 42 picos. A identificação do perfil de compostos fenólicos nessas amostras estão em uma perspectiva de ser realizado por técnicas mais avançadas, como a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada aos detectores de arranjo de diodos e espectrômetro de massas (HPLC-DAD-MS), em pesquisas futuras.

4. Conclusão

As diferentes concentrações de jambu na elaboração de kombuchas ou análogos atenderam parâmetros de padrão de identidade e qualidade (PIQ) em sua primeira etapa de fermentação, sendo possível sua utilização para a produção de uma bebida pronta. Em termos de pH, acidez e sólidos solúveis totais, a formulação que apresentou velocidade maior durante a fermentação nesses parâmetros foi a kombucha 100%. Em termos de compostos fenólicos, flavonoides e antioxidante o *blend* de 50% teve um destaque maior que as demais formulações incluindo a controle. De acordo com os teores de açúcares analisados, a sacarose não foi assimilada totalmente pelos microrganismos e os açúcares redutores ainda podem ter sido assimilados em outros metabólitos. Os valores de compostos fenólicos, flavonoides e capacidade antioxidante necessitam do tempo de 7 dias para atender uma taxa de produção expressiva nas formulações, sendo necessários estudos com tempos maiores de fermentação para verificação da continuidade do aumento desses compostos. Já ao analisar a bebida ao término da segunda fermentação obteve-se um produto que atende a legislação e de fato tem um PIQ de uma bebida fermentada kombucha ou análoga do ponto de vista físico-químico, no entanto percebe-se a degradação dos compostos fenólicos, especialmente nas formulações que levam mais jambu ou tem apenas jambu nessa etapa, sendo necessário estudos de como evitar a degradação desses compostos para que os valores expressivos da primeira fermentação chegue viável no armazenamento. Dos testes sensoriais a formulação 75% jambu foi a mais aceita sensorialmente e com maior intenção de compra.

Agradecimentos

Agradecemos a Universidade Federal do Pará (UFPA) pela infraestrutura, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia (PPGCTA), pelo apoio na aprovação do desenvolvimento do Projeto, e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), código de financiamento 001, pela bolsa de estudos.

5. Referências

ABUDUUAIBIFU, A., & TAMER, C. E. Evaluation of physicochemical and bioaccessibility properties of goji berry kombucha. **Journal of Food Processing and Preservation**, 43(9), e14077, 2019.

ALBUQUERQUE, U. P. et al. How ethnobotany can aid biodiversity conservation: reflections on investigations in the semi-arid region of NE Brazil. **Biodiversity and Conservation**, v. 18, p. 127-150, 2009.

ALLEN, C. M. Past research on Kombucha tea. **The Kombucha FAQ Part 6**. Research and tests results, 1998.

ALI, S.S. et al. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. **Food Research International**, v.41, n.1, p.1- 15, 2008. doi:10.1016/j.foodres.10.001, 2007.

ALMEIDA, N. F. L. et al. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais na cidade de Viçosa - MG. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 90, n. 4, p. 316-320, 2009.

ANDRIOT, I., LE QUÉRÉ, J. L., & GUICHARD, E. Interactions between coffee melanoidins and flavour compounds: impact of freeze-drying (method and time) and roasting degree of coffee on melanoidins retention capacity. *Food Chemistry*, 85(2), 289-294, 2004.

APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, D C, 676 p, 2001.

AYED, L., BEN Abid, S., & HAMDI, M. Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. *Annals of microbiology*, 67, 111-121, 2017.

BALENTINE, D. A., WISEMAN, S. A., & BOUWENS, L. C. The chemistry of tea flavonoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37, 693±704, 1997.

BARDIN, L., *Análise de conteúdo*, Edições 70, Lisboa, 2010.

BARROS, V. C.; FREITAS, A. C. Perfil de Consumidores de Kombucha no Brasil e no Mundo: Revisão. In: **VIII Congresso Virtual de Agronomia - CONVIBRA**, 2020.

BARROS, V. C., FREITAS, A. C. *Biología alimentaria: Desarrollo de nuevos productos*. 1. Ed. Beau Bassin: Editorial Académica Española. V. 1. 84p ., 2021

BATTIKH, Houda; BAKHROUF, Amina; AMMAR, Emna. Antimicrobial effect of Kombucha analogues. *LWT-Food Science and Technology*, v. 47, n. 1, p. 71-77, 2012.

BECATTI, E., Chkaiban, L., Tonutti, P., Forcato, C., Bonghi, C., & Ranieri, A. M.. Short-term postharvest carbon dioxide treatments induce selective molecular and metabolic changes in grape berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(13), 8012-8020, 2010.

BELLOSO-MORALES, Genette; HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, Humberto. Manufacture of a beverage from cheese whey using a "tea fungus" fermentation. **REVISTA LATINOAMERICANA DE MICROBIOLOGIA-MEXICO-**, v. 45, n. 1/2, p. 5, 2003.

BICHARA, Natalia Poli. Dicas sobre o uso de densímetros e refratômetros. Brew Blog, 2014. Disponível em <<https://www.lamasbrewshop.com.br/blog/2014/05/dicas-sobre-o-uso-de-densímetros-e-refratômetros.html>> acesso em março de 2023.

BOESCH C., TRCECK J., SIEVERS M., TEUBER M. *Acetobacter intermedius*, *sp. nov.* **Systematic and Applied Microbiology**, 21(2): 220-9, 1998.

BORGES, L. da S. et al. Antioxidant compounds of organically and conventionally fertilized jambu (*Acmella oleracea*). *Biological Agriculture and Horticulture*, v. 32, n. 3, p. 149–158, 2015.

BRASIL, INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 41; **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO**, DE 17 DE SETEMBRO DE 2019.

ČETOJEVIC-SIMIN, D. D., VELICANSKI, A. S., CVETKOVIC, D. D., MARKOV, S. L., MRDANOVIC, J. Ž., BOGDANOVIC, V. V., & ŠOLAJIC, S. V. Bioactivity of lemon balm kombucha. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 1756-1765, 2012.

CHAKRAVORTY, S., BHATTACHARA, S., CHATZINOTAS, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International journal of food microbiology*, 220, 63-72, 2016.

CHU S.-C., CHEN C. *Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha*. **Food Chemistry**, 98(3): 502-7, 2006.

DELLA LUCIA, S.M., MINIM, V.P.R., MINIM, L.A. and SILVA, C.H.O. “Características visuais da embalagem de café no processo de decisão de compra pelo consumidor” *Ciência e Agrotecnologia*, Vol. 33, edição especial, pp. 1758-1764, 2009.

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

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 4. ed. Curitiba:Champagnat. 531 p., 2013

FRANÇA, F. V. C. Compostos bioativos de frutas amazônicas e suas utilizações: revisão integrativa, 2022.

GAMBOA-GÓMEZ, C. I., GONZÁLEZ-LAREDO, R. F., Gallegos-Infante, J. A., Pérez, M. D. M. L., Moreno-Jiménez, M. R., Flores-Rueda, A. G., & Rocha-Guzmán, N. E. Antioxidant and angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of *Eucalyptus camaldulensis* and *Litsea glaucescens* infusions fermented with kombucha consortium. *Food Technology and Biotechnology*, 54(3), 367, 2016.

HOMMA, A. K. O., & HOMMA, A. K. O. Extrativismo vegetal na Amazônia: história, ecologia, economia e domesticação, 2014.

IAL- Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 6. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz. 1020p, 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA. Ecossistemas. Disponível em: . Acesso em: 10/01/2023

JANUÁRIO, Jaqueline B. et al. Kombucha à base de *Hibiscus sabdariffa* L: avaliação tecnológica para produção de uma nova bebida. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 1, p. 3720-3732, 2020.

JAYABALAN R., Subathradevi P., Marimuthu S., Sathishkumar M., Swaminathan K. *Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation.* **Food Chemistry**, 109(1): 227-34, 2008.

JAYABALAN R., Chen P.-N., Hsieh Y.-S., Prabhakaran K., Pitchai P., Marimuthu S., Thangaraji P., Swaminathan K., Yun S.E. *Effect of solvent fractions of kombucha tea on viability and invasiveness of cancer cells – Characterization of dimethyl 2-(2-hydroxy-2-methoxypropylidene) malonate and vitexin.* **Indian Journal of Biotechnology**, 10(1): 75-82, 2011.

JAYABALAN R., Malbasa R.V., Loncar E.S., Vitas J.S., Sathiskumar M. *A Review on Kombucha Tea – Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus.* **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 13(4): 538-50, 2014.

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

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

LEONARSKI, Eduardo et al. *Produção de bebida tipo kombucha e celulose bacteriana utilizando subproduto da acerola como matéria-prima.* 2020.

LIMA, J. L. S. et al. **Plantas medicinais de uso comum no Nordeste do Brasil.** Campina Grande, 81p, 2006.

LOPES, Danielle Rubim. Obtenção e avaliação de extratos de erva mate (*Ilex paraguariensis*) fermentados com a cultura simbiótica kombucha / Danielle Rubim Lopes. – 2019

MALBASA R.V., LONCAR E.S., VITAS J.S., ČANADOVIC-BRUNET J.M. *Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. Food Chemistry*, 127(4): 1727-31, 2011.

MARSH A.J., O'SULLIVAN O., HILL C., ROSS R.P., COTTER P.D.. *Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. Food Microbiology*,38:171-8, 2014.

MORAIS, S. M. et al. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p. 169-177, 2005.

MORALES, M. E. V. Estandarización del proceso de fermentación y evaluación sensorial de una bebida tipo kombucha utilizando infusiones herbales, 2021.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 31(3), 426-428, 1959.

MURUGESAN G.S., SATHISHKUMAR M., JAYABALAN R., BINUPRIYA A.R., SWAMINATHAN K., YUN S.E. *Hepatoprotective and Curative Properties of Kombucha Tea Against Carbon Tetrachloride-Induced Toxicity. Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(4): 397-402, 2009.

NASCIMENTO, L. E. S. Jambu (*Acmella oleracea* (L.) RK. Jansen) hidropônico e convencional: uma comparação baseada nas propriedades físico-químicas e composição fitoquímica, 2019.

PALUDO, N. Desenvolvimento e caracterização de kombucha obtida a partir de chá verde e extrato de erva-mate: processo artesanal e escala laboratorial. LUME, UFRGS – Repositório Digital, 2017.

PEKAL, A., & PYRZYNSKA, K. Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food Analytical Methods*, 7, 1776-1782, 2014.

PURE, Ali Ebrahimi; PURE, Monir Ebrahimi. Antioxidant, antibacterial and color analysis of garlic fermented in kombucha and red grape vinegar. **Applied Food Biotechnology**, v. 3, n. 4, p. 246-252, 2016.

RAHMANI, Rami et al. Kombucha fermentation of African mustard (*Brassica tournefortii*) leaves: Chemical composition and bioactivity. **Food Bioscience**, v. 30, p. 100414, 2019.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, 26, 1231–1237, 1999.

REIS, C. R., MINIM, V. P. R. **Teste de aceitação**. In: Minim, V. P. R. (Ed). *Análise sensorial: estudos com consumidores*, UFV, 67 -83, 2006.

RODRIGUES, Caique Silva; DE MATOS, Márcia Figueiras Rebelo; DA NÓBREGA FURTUNATO, Dalva Maria. Utilização do kombucha como cultura inoculadora em leite: considerações sobre melhores parâmetros fermentativos. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 10, n. 4, p. 131-143, 2019.

SANTOS, D.C.; LAMAS, I.B.; OLIVEIRA FILHO, J. G.; EGEA, M.B. Scoby (symbiotic culture of bacteria and yeast): tendências em sucos e extratos vegetais. *In: Inovação em ciência e tecnologia de alimentos*, volume 3. Vanessa Bordin Viera, Natiéli Piovesan (Organizadoras), Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019.

SANTOS, M.J. Kombucha: caracterização da microbiota e Desenvolvimento de novos produtos alimentares para Uso em restauração. Dissertação de mestrado em Ciências Gastronómicas, Faculdade de ciências e tecnologia da Universidade de Nova Lisboa., 2016.

SCHROEDER, J. Kombucha fermentada a partir de resíduo de acerola, 2019.

SHARIFUDIN, S. A., HO, W. Y., YEAP, S. K., ABDULLAH, R., & KOH, S. P. Fermentation and characterisation of potential kombucha cultures on papaya-based substrates. *Lwt*, 151, 112060, 2021.

SILVA, Alessandra Eluan da. Jambu (*Spilanthes oleracea* Linn.) minimamente processado: compostos bioativos e caracterização físico-química, microbiológica e sensorial. 2015. 76 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2015.

SILVA, K. A., UEKANE, T. M., de MIRANDA, J. F., RUIZ, L. F., da Motta, J. C. B., Silva, C. B., ... & Lima, A. R. Kombucha beverage from non-conventional edible plant infusion and green tea: Characterization, toxicity, antioxidant activities and antimicrobial properties. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, 34, 102032, 2021.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Blucher, 5a ed., 2017. 560 p

da SILVA PORT's, P. Compostos fenólicos e potencial antioxidante de ervas consumidas na região amazônica brasileira (Doctoral dissertation, UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS), 2011.

SOUSA, M. P. et al. **Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras**. Fortaleza: Editora UFC, 2004.

TU, Chuanhai et al. Use of kombucha consortium to transform soy whey into a novel functional beverage. **Journal of Functional Foods**, v. 52, p. 81-89, 2019.

VASCONCELOS, N. M., PINTO, G. A. S., & de ARAGAO, F. A. S. Determinação de açúcares redutores pelo ácido 3, 5-dinitrosalicílico: histórico do desenvolvimento do método e estabelecimento de um protocolo para o laboratório de bioprocessos, 2013.

VÁSQUES-CABRAL, B. D. et al. Chemical and sensory evaluation of a functional beverage obtained from infusions of oak leaves (*Quercus resinosa*) inoculated with the kombucha consortium under different processing conditions. **Nutrafoods**, v. 13, n. 4, p. 169-178, 2014.

VELINCANSKI, A. S., CVETKOVIC, D. D., MARKOV, S. L., TUMBAS ŠAPONJAC, V. T., & VULIC, J. J. Antioxidant and antibacterial activity of the beverage obtained by fermentation of sweetened lemon balm (*Melissa officinalis* L.) tea with symbiotic consortium of bacteria and yeasts. *Food technology and biotechnology*, 52(4), 420-429, 2014.

VILLARREAL-SOTO, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. P., & Taillandier, P. Understanding kombucha tea fermentation: a review. *Journal of food science*, 83(3), 580-588, 2018.

VITAS, J. S., Cvetanović, A. D., Mašković, P. Z., Švarc-Gajić, J. V., & Malbaša, R. V. Chemical composition and biological activity of novel types of kombucha beverages with yarrow. *Journal of Functional Foods*, 44, 95-102, 2018.

WATAWANA, Mindani I.; JAYAWARDENA, Nilakshi; WAISUNDARA, Viduranga Y. Enhancement of the functional properties of coffee through fermentation by “tea fungus”(k ombucha). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, n. 6, p. 2596-2603, 2015.

VITAS, J. S., MALBASA, R. V., Grahovac, J. A., & Lončar, E. S. The antioxidant activity of kombucha fermented milk products with stinging nettle and winter savory. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 19(1), 129-139, 2013.

XIA, X., DAI, Y., WU, H., LIU, X., Wang, Y., Yin, L., ... & Zhou, J. Kombucha fermentation enhances the health-promoting properties of soymilk beverage. *Journal of Functional Foods*, 62, 103549, 2019.

ZHANG, J.; VAN MULLEM, J.; DIAS, D. R.; SCHWAN, R. F. The chemistry and sensory characteristics of new herbal tea-based kombuchas. *Journal of Food Science*, v. 86, n. 3, p. 740-748, 2021.

ZHIWEN, Wang et al. Production and characterization of a novel beverage from maize silk through fermentation with kombucha consortium. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, 2021. p. 012053.

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

ZUBAIDAH, E., DEWNATARI, F. J., NOVITASARI, F. R., SRIANTA, I., & BLANC, P. J. Potential of snake fruit (*Salacca zalacca* (Gaerth.) Voss) for the development of a beverage through fermentation with the Kombucha consortium. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13, 198-203, 2018.

CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

As diferentes concentrações de jambu na elaboração de kombuchas ou análogos atenderam parâmetros de padrão de identidade e qualidade (PIQ) em sua primeira etapa de fermentação, sendo possível sua utilização para a produção de uma bebida pronta.

Em termos de pH, acidez e sólidos solúveis totais, a formulação que apresentou velocidade maior durante a fermentação nesses parâmetros foi a kombucha 100%. Em termos de compostos fenólicos, flavonoides e antioxidante o *blend* de 50% teve um destaque maior que as demais formulações, incluindo a controle.

Ao analisar a bebida ao término da segunda fermentação, obteve-se um produto que atendeu a legislação, e de fato, tem um PIQ de uma bebida fermentada kombucha ou análoga do ponto de vista físico-químico. No entanto, percebe-se a diminuição da presença expressiva dos compostos fenólicos quando misturados com jambu.

Entre os testes sensoriais, a formulação 75% jambu foi a mais aceita sensorialmente e com maior intenção de compra. Não foram detectados microrganismos patogênicos, ainda não há parâmetros para a contagem de leveduras e bactérias aeróbio mesófilas das formulações. A bebida elaborada foi um fermentado borbulhante, amarelo, límpido e cítrico que tem com melhorias potencial de mercado.

Para as perspectivas de estudos futuros, o produto poderá ser elaborado sem a etapa de segunda fermentação porém com verificação da estabilidade e obtenção da gaseificação obtida nessa etapa em tempos de armazenamento diferentes como 7, 15, 30 e 60 dias, ainda vale lembrar que como o produto 75% teve potencial de mercado, testes de preferência com a kombucha tradicional e também com comerciais também se enquadra nas perspectivas. Além disso, uma das maiores perspectivas é a completa identificação dos compostos fenólicos por espectrometria de massas e a quantificação de outros compostos bioativos do jambu, como o espilantol.

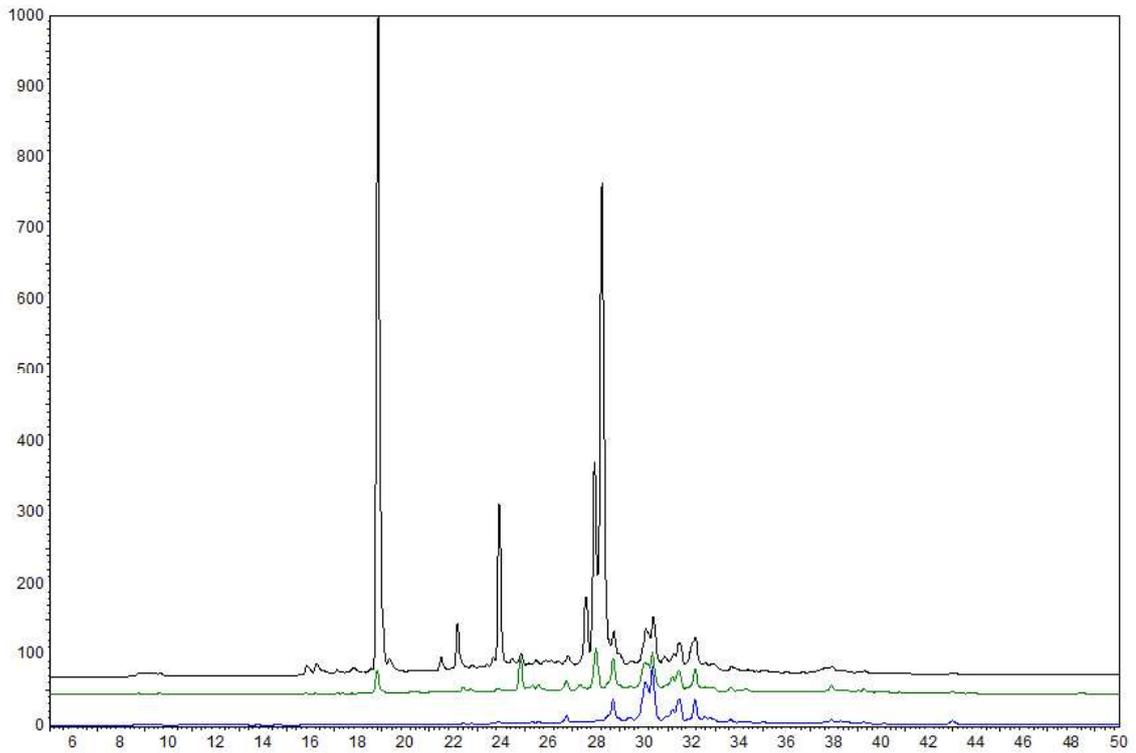
Assinale para cada amostra, qual seria a sua atitude quanto à compra do produto usando a escala abaixo:

- 5. Certamente compraria
- 4. Provavelmente compraria
- 3. Tenho dúvidas se compraria
- 2. Provavelmente não compraria
- 1. Certamente não compraria

Comentários: _____

ANEXO II – Cromatogramas de cada formulação

Kombucha Controle FINAL

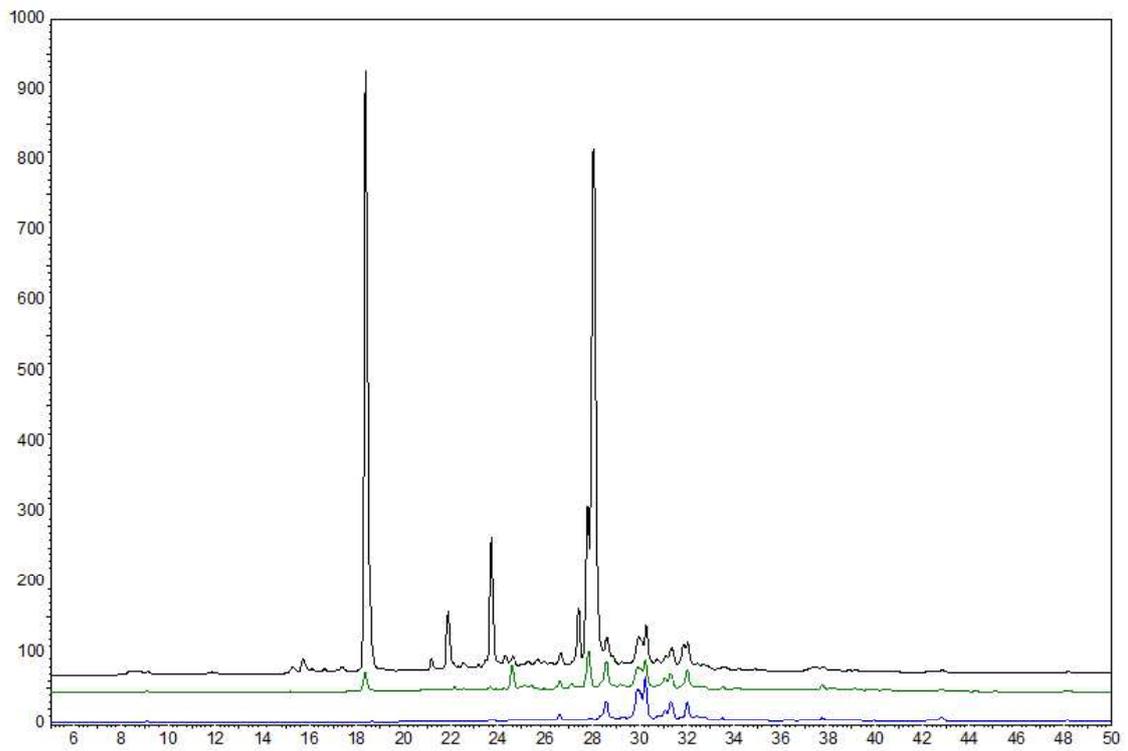


270 nm – preto

320 nm – verde

360 nm - azul

Kombucha 25% Jambu:

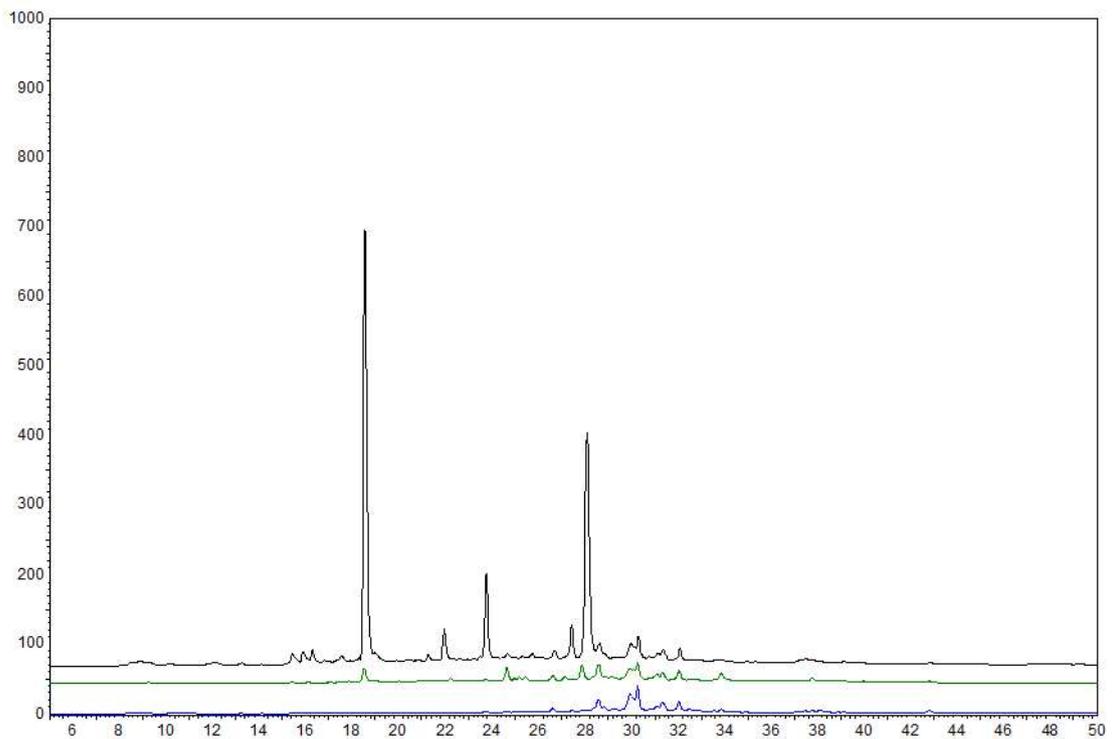


270 nm – preto

320 nm – verde

360 nm - azul

Kombucha 50% Jambu

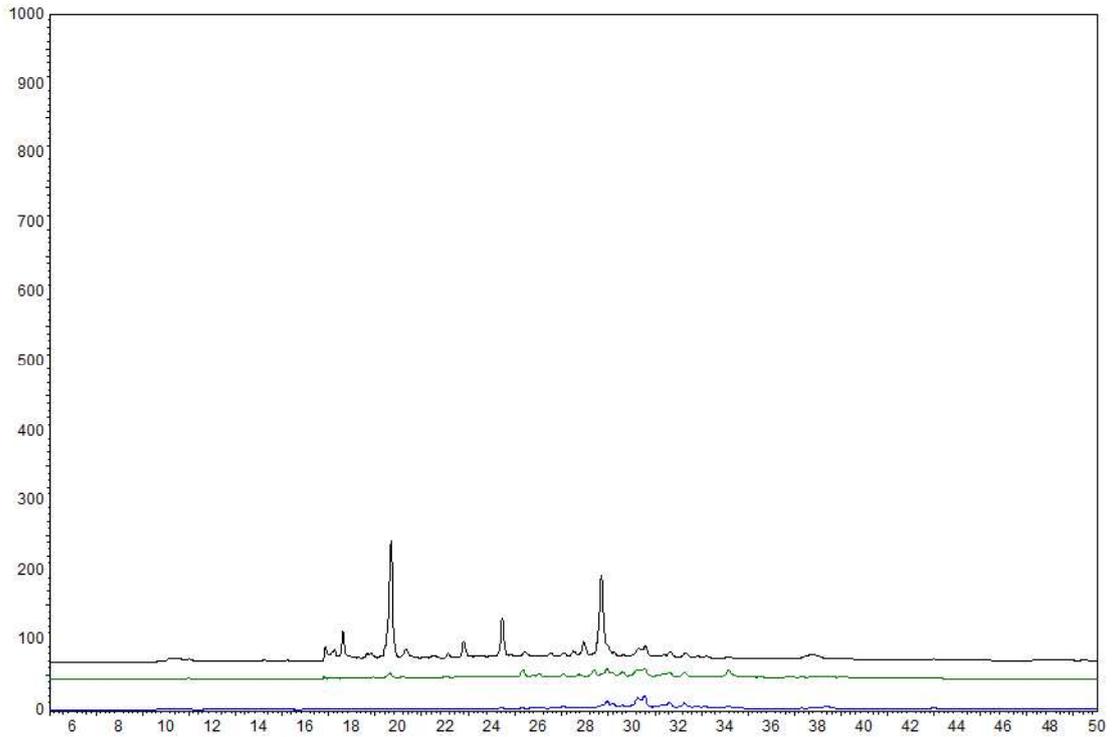


270 nm – preto

320 nm – verde

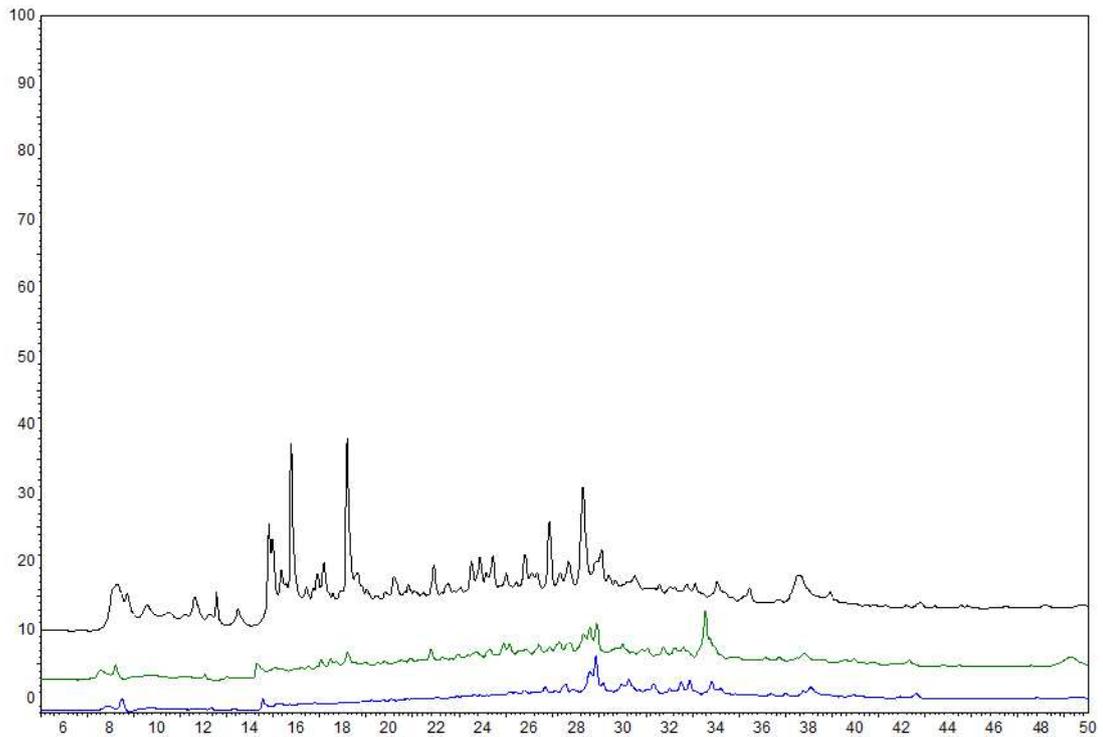
360 nm - azul

Kombucha 75% Jambu



270 nm – preto 320 nm – verde 360 nm - azul

Kombucha 100% Jambu



270 nm – preto 320 nm – verde 360 nm - azul