

Produção e Caracterização de Kombuchas obtidas a partir de Chá Verde e Chá de Hibisco com a adição de Camu-Camu

Castro, C.S¹, Ribeiro, T.X¹, Ribas, P.P²

¹Curso de Engenharia de Bioprocessos - Fundação Centro de Análise, Pesquisa e Inovação Tecnológica – FUCAPI, Manaus – AM – Brasil

²Centro de Biotecnologia da Amazônia - CBA, Manaus – AM – Brasil

tidi_sena@hotmail.com, taynaraxr@gmail.com, priscila.pauly@gmail.com

Abstract. *A kombucha is a millenary drink of oriental origin and has a structure composed of functional fermented tea, sugar and an S.C.O.B.Y (Symbiotic Bacteria and Yeast Culture). This article aims to present the production of kombucha of green tea and hibiscus tea with the addition of camu-camu extract in a handmade way and its behavior and composition after fermentation for 10 days. As the methodology was carried out determinations of pH, soluble substances, titratable acid, dry residue, analysis of antioxidant activity by the DPPH, ABTS, complete phenolics, total flavonoids, tannins, vitamin C and caffeine analysis. The results of the two kombuchas were quite satisfactory.*

Resumo. *A kombucha é uma bebida milenar de origem oriental, e possui uma estrutura composta de chá funcional fermentado, açúcar e um S.C.O.B.Y (Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras). Este artigo tem como objetivo apresentar a produção das kombuchas de chá verde e chá de hibisco com a adição de extrato de camu-camu de forma artesanal e caracterizá-las quanto ao seu comportamento e composição após fermentação por 10 dias. Como metodologia foram realizadas determinações de pH, sólidos solúveis, acidez titulável, resíduo seco, análise da atividade antioxidante por meio do sequestrante do radical lipossolúvel DPPH, ABTS, fenólicos totais, flavonoides totais, taninos, análise da Vitamina C e de cafeína. Os resultados das duas kombuchas foram bastante satisfatórios.*

Palavra-chave: kombuchas, antioxidantes, vitamina C, cafeína, compostos bioativos

1.Introdução

A Kombucha é uma bebida milenar, de origem oriental composta por um chá funcional fermentado, pela adição de açúcar e de um S.C.O.B.Y, é rico em leveduras e bactérias acéticas, e é considerada como uma bebida probiótica, associada ao equilíbrio da flora intestinal e ao efeito desintoxicante, resultante da fermentação que ocorre através do consumo do açúcar no chá por essa colônia de bactérias e leveduras, o que resulta em uma bebida rica em vitaminas, enzimas e com alto poder antioxidante e energizante.

1.1 Kombucha

Nos últimos anos a população encontra-se preocupada com os hábitos de alimentação saudável e com isto, o mercado vem investindo em opções saudáveis. Como bem descreve Santos et.al. (2018), os hábitos de alimentação saudável estão em alta no atual cenário mundial, com isto, o mercado vem investindo bastante em ideias inovadoras, e a preocupação também vem com os benefícios para a saúde. Neste contexto, a kombucha é dada como um produto funcional e vem se popularizando, devido os seus benefícios à saúde física e a busca por obter um sabor favorável ao consumo (SANTOS et.al., 2019).

Levando em consideração esses novos produtos, apresenta-se a Kombucha, que segundo Velicanski (2013), é uma bebida milenar, bastante popular na Manchúria (leste da Ásia) de onde se originou, tendo sido difundida para outros países (VELIĆANSKI et al., 2013). De acordo com Rodrigues (2018), a bebida tem sido amplamente divulgada devido às propriedades que atuam na prevenção a doenças cardiovasculares, hepáticas, além de reduzir gorduras. (WATAWANA et al. 2015; MARTINEZ LEAL et al., 2018).



Figura 1. SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts).Fonte: Jason (2007).

A atividade antioxidante da kombucha está relacionada à presença de polifenóis e catequinas. A concentração de compostos fenólicos e a atividade de reação para eliminar o radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) aumentam ao longo do tempo de fermentação (SCHROEDER, 2019; WATAWANA et al., 2015).

Conforme, Jayabalan et al. (2014), entre os ácidos orgânicos presentes, os mais importantes produzidos durante a fermentação são glucorônico, glucônico, lático, málico, cítrico, tartárico, fólico, malônico, oxálico, pirúvico e úsnico. O ácido lático se mostra mais presente em preparações com base de chá verde se comparado a outros chás, como chá preto. O ácido glucorônico é um dos mais valiosos ácidos para a saúde presente na kombucha e é o resultado de um processo microbiológico de oxidação da glicose.

Quanto ao processo de preparo do chá de kombucha, Paludo (2017) assegura que: chá preto e chá verde são usados, tanto a mistura de ambos quanto isoladamente, como

substratos na preparação da Kombucha e é adicionado açúcar. As proporções de chás e açúcares utilizados na preparação variam de acordo com a literatura. E algumas dessas literaturas são o método utilizado por Pure e Pure (2016) que utiliza 20g L⁻¹ de sacarose e 10 g L⁻¹ de ervas secas na infusão. E o método utilizado por Kallel et al. (2012), onde a proporção escolhida foi de 100 g L⁻¹ de sacarose com 12 g L⁻¹ de chá seco na preparação do substrato. A respeito do tempo de infusão do chá considerado ideal, depende do tipo de chá, no entanto, seus tempos variam de 2 a 10 minutos.

No processo de análise do pH na composição química, partindo de estudos realizados baseados na área, em suas pesquisas, Goh et al. (2012) enfatizam que o pH é um dos mais importantes parâmetros que afetam a fermentação da kombucha, pois os ácidos formados como acético e glucônico têm sido atribuídos como responsáveis pelas atividades funcionais das bebidas resultantes (PALUDO, 2017).

1.2 Chá Verde

O chá obtido a partir da infusão das folhas da planta *Camellia Sinenses* (*C. Sinenses*) é consumido na China há milênios. É considerada pelos orientais como uma bebida não alcoólica, e bastante saudável, tendo sua maior produção no Sudeste asiático (RIETVELD; WISEMAN, 2003; TANAKA; KOUNO, 2003). O chá verde é originado das folhas frescas da planta, as quais são apenas escaldadas e fervidas, ocorrendo uma rápida inativação da enzima polifenol oxidase, isso mantém preservado seu teor de polifenóis e o torna mais rico em catequinas e compostos com atividades funcionais. Também possui cafeína, pigmentos, carboidratos, aminoácidos e micronutrientes como vitaminas B, E e C, e minerais como cálcio, magnésio, zinco, potássio e ferro (YANAGIMOTO et al., 2003). A atividade antioxidante é uma das propriedades mais conhecidas do chá verde e está relacionada à estrutura química das catequinas (BALENTINE; WISEMAN; BOUWENS, 1997; RIETVELD; WISEMAN, 2003).

1.3 Hibisco

O hibisco (*Hibiscus sabdariffa L.*), conhecido também como vinagreira, é uma planta pertencente à família das Malváceas (SOUZA, 2010). A medicina tradicional tem atribuído às flores do hibisco propriedades diuréticas, anti-hipertensivas e antioxidantes. Seus extratos são ricos em flavonóides e antocianinas que contribuem ativamente para esses efeitos (HERNÁNDEZ et al., 2009).

Ainda morfológicamente, segundo Piovesana (2016), descreve que o cálice da flor, utilizado para elaborar o chá de hibisco, é rico em vitaminas do complexo B, minerais como cálcio, magnésio e ferro, ácidos como tartárico, succínico, málico, oxálico e cítrico, além de quantidade significativa de fibras alimentares.

O chá de hibisco, por sua vez, tem se destacado pelos compostos antioxidantes, principalmente em relação às antocianinas. Nunes et al. (2014) ao analisar chá de hibisco encontrou a concentração de 193,69 mg/100g de antocianinas. Consequentemente, kombucha de hibisco apresentou uma concentração de antocianinas superior a kombucha de chá preto.

1.4 Camu-camu

O camu-camu, que recebe outros nomes como caçari, araçá-d'água ou sarão, é pertence a uma família chamada de *Myrtaceae*, que está presente principalmente nas várzeas fluviais e igapó e na sua característica está a presença de alta concentração de vitamina C e fenóis, sendo, portanto, uma espécie que possui uma capacidade considerável de antioxidante (CHIRINOS et al., 2010). Quando estudado junto com outras espécies que pertencem ao mesmo gênero, o camu-camu conseguiu apresentar uma quantidade superior de fenóis, que é o que justamente contribui com a cor vermelha ou roxa da espécie (ZANATTA et al., 2005).

O presente artigo tem como principal objetivo apresentar a produção de duas kombuchas, uma de chá verde e outra de chá de hibisco, ambas com adição de camu-camu, caracterizá-las e avaliá-las em relação ao seu comportamento, a sua composição de bioativos, após o processo fermentativo de 10 dias. Os objetivos específicos voltados para este artigo são: descrever, identificar suas características físico-químicas e seus compostos bioativos através da determinação de pH acidez, sólidos solúveis, resíduo seco, fenóis totais, taninos e flavonóides, avaliar suas capacidades antioxidante e estimulante pelos métodos de sequestro de radicais livres, utilizando nos ensaios DPPH e ABTS, concentração de vitamina C, e cafeína.

4. Materiais e Métodos

Para a realização da pesquisa foram adotados como métodos a pesquisa exploratória no Laboratório de Fermentações do Centro de Biotecnologia da Amazônia (CBA), onde foi realizado o preparo das amostras. A atividade antioxidante foi realizada no laboratório BIOPHAR (Laboratório de Atividades Biológicas da Faculdade de Farmácia da UFAM), e as análises físico-químicas realizadas no Laboratório de Química da Faculdade Fucapi.

As kombuchas foram preparadas no Laboratório de Fermentações no CBA, onde foram pesados 10 g de chá (verde ou hibisco) e adicionados em 900 mL de água quente para realizar a infusão durante 10 minutos. Após filtração, os chás passaram pelo resfriamento natural até temperatura ambiente e adicionou-se 90 g de açúcar orgânico, 100 mL do fermentado e um disco do SCOBY, cobriu-se o becker com um pano. A fermentação ocorreu por 7 dias e posteriormente adicionou-se 20% (v/v) de polpa de camu-camu para realizar a 2ª fermentação por mais 3 dias. Totalizando 10 dias de fermentação. Metade das amostras foram levadas para liofilização por 3 dias afim de serem utilizadas nas análises que necessitavam de forma sólida, outra metade foi utilizada em análises de forma líquida.

As análises de pH foram realizadas após o processo de fermentação. Para isso, foi utilizado o potenciômetro, pH meter TEC-2[®] calibrado de acordo com as instruções do fabricante através do uso de substâncias com pH = 4 e pH = 7. As análises de sólidos solúveis totais (Brix^o) foram feitas por refratometria, utilizando o refratômetro o de Abbé (PZO WARSZAWA RL1[®]), corrigido para 20°C. O aparelho foi calibrado a temperatura

ambiente com água deionizada (Índice de refração = 1,3330 e 0° Brix a 20°C) e procedeu-se às leituras das amostras em triplicata.

A análise de acidez titulável foi determinada seguindo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). De cada amostra retirou-se três alíquotas de 5mL em um Erlenmeyer, adicionou-se em 25 mL de água destilada e 3 gotas de fenolftaleína alcoólica a 1%. A amostra foi titulada com uma solução de NaOH a 0,1M sob agitação constante, até o ponto de viragem, até rosa persistente. A Acidez Total Titulável foi calculada em porcentagem de ácido orgânico.

Para a determinação de Resíduo Seco, a metodologia a ser seguida foi a do Instituto Adolfo Lutz (2008), voltada para amostras de bebidas alcólicas e se baseia na pesagem do resíduo após a evaporação da água e álcool por aquecimento. Pipetou-se 20 mL da amostra em uma cápsula, previamente seca em estufa, resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada. Evaporou-se lentamente em banho-maria até a secura. Secou-se em estufa ($100 \pm 5^\circ\text{C}$) por 30 minutos. Resfriou-se em dessecador por meia hora e pesou-se. Resíduo expresso em porcentagem de m/v.

A avaliação da atividade sequestrante do radical lipossolúvel DPPH foi realizada segundo a metodologia adaptada dos estudos Burits e Bucar (2000). Para tanto foram preparadas as seguintes soluções: Solução 1 0,05 $\mu\text{g/ml}$ de DPPH em etanol, solução 2 (padrão/ou controle DMSO) na concentração de 1mg ml^{-1} , enquanto a amostra foi preparada na concentração de 100 mg mL^{-1} . Em quatro poços da microplaqueta foi adicionado 30 μL da amostra respectivamente, em seguida, adicionado mais 270 μL solução 1. A placa foi incubada por 30 minutos em temperatura ambiente na ausência da luz e a leitura foi realizada em 492nm no leitor de microplaca (Multimode Detetor DTX 800 da Beckman).

Os cálculos de percentual de inibição (inibição %), foram realizados baseando-se na absorbância do controle e utilizando o programa Excel. O padrão utilizado foi o ácido gálico, conforme Equação 1.

$$\% \text{ inibição} = 100 - [\text{Abs a} / \text{Abs C}] \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde: Abs a = Absorbância da Amostra; Abs c = Absorbância do controle

A fim de determinar a atividade antirradical ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico), seguiu-se a metodologia SHANTY, A.; MOHANAN, P. (2017), inicialmente foi preparada a solução de ABTS 0,7mM em 5 mL de água deionizada e 5 mL de persulfato de potássio 2,4mM. Em seguida, incubou-se a mistura reacional em temperatura ambiente na ausência de luz por 12 horas para obtenção de uma solução oxidada de tonalidade azul esverdeada. Antes de plaquear, o ABTS oxidado foi diluído (1:5) com água deionizada, após o plaqueamento incubou-se por 15 minutos na ausência de luz à temperatura ambiente e realizou-se a leitura no leitor de microplaca em 620nm (Multimode Detetor DTX 800 da Beckman). Os resultados foram expressos em percentual de inibição. Os cálculos de percentual de inibição (inibição %)

foram realizados baseando-se na absorvância do controle e utilizando o programa Excel, conforme Equação 2. O padrão utilizado foi o ácido gálico.

$$\% \text{ inibição} = 100 - [\text{Abs a} / \text{Abs C}] \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Abs a = Absorvância da Amostra; Abs c = Absorvância do controle

A concentração de fenóis totais foi quantificada pelo método descrito por KIM et al., (2003). Inicialmente, 10 μL dos extratos numa concentração de 1mg/ml foram colocados em cada poço, em seguida adicionado 50 μL de Folin& Cicalteu's phenol 10% e incubados na ausência da luz por 8 minutos a temperatura ambiente. Logo após esse tempo foi adicionado uma solução saturada de carbonato de sódio 0,4% e incubado novamente por 3 minutos. Em seguida, foi realizada a leitura na absorvância em 620nm no leitor de microplaca (Multimode Detetor DTX 800 da Beckman), o teor fenólico das amostras foi expresso em porcentual comparados com padrão ácido gálico e também como μg equivalente a ácido gálico (μgEqAG) quando comparado à diluição consecutiva do padrão, conforme Equação 3.

$$\text{Fenóis totais (\%)} = (\text{Absorvância amostra} / \text{Absorvância padrão}) \times 100$$

(Equação 3)

A quantificação de flavonoides totais foi realizada considerando o método descrito por KUMAR ET AL., (2008). Inicialmente foi adicionado 30 μL do extrato na concentração de 1mg/mL mais 90 μL de etanol para tirar o branco realizando a primeira leitura no comprimento de onda 405nm. Após a leitura foi colocado 6 μL de cloreto de alumínio 10%, 6 μL de acetato de potássio, 168 μL etanol nas microplacas e incubadas por 30 minutos na ausência da luz em temperatura ambiente. Após a incubação foi realizada a leitura no comprimento de onda 405nm no leitor de microplaca. O cálculo foi semelhante da quantificação de fenóis totais. O padrão usado foi a quercetina e os resultados foram apresentados em porcentual e em μg equivalentes a quercetina (μgEqQ), conforme Equação 4.

$$\text{Flavonoides totais (\%)} = (\text{Absorvância amostra} / \text{Absorvância padrão}) \times 100$$

(Equação 4)

Para as análises de Taninos, pesou-se 1 mg da amostra, solubilizada em 1 mL de água, em uma micro placa foi colocada em triplicada 30 μl de amostra, mais 15 μl de folin-dennis e 225 μl de água e foi incubada por 30 minutos em refúgio de luz, após os 30 minutos foi realizada a leitura em um comprimento de onda de 760nm no leitor de microplaca (Multimode Detetor DTX 800 da Beckman) e em seguida adicionado 30 μl da solução saturada de carbonato de sódio e incubada mais 5 minutos e após o térmico, foi realizada a leitura final, o teor de taninos das amostras foi expressa em porcentual comparados com padrão ácido tânico e também como μg equivalente a ácido tânico (μgEqAT) quando comparado à diluição consecutiva do padrão, conforme Equação 5.

$$\text{Taninos totais (\%)} = (\text{Absorbância amostra} / \text{Absorbância padrão}) \times 100$$

(Equação 5)

As análises referentes a concentração de vitamina C e dosagem de Cafeína foram separadas e quantificadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC, sigla em inglês). Seguindo metodologia de BRESOLIN & HUBINGER, (2014), para vitamina C e AQUINO et al., (2004), para cafeína. Para o teste de vitamina C foi preparada uma solução tampão fosfato de sódio 1% com ajuste do pH para 2,2 acidificado com ácido fosfórico. Pesou-se 5 mg de ácido ascórbico e solubilizou-se em 5 mL de ácido oxálico 0,5%; filtrou-se em membrana 0,45 µm. Construiu-se uma curva padrão de calibração com as concentrações desejadas: O cálculo das concentrações das amostras foi feito através da substituição da absorbância lida de cada amostra, na equação da reta (R). No teste de cafeína pesou-se em béquer cerca de 5 mg de cafeína anidra, diluiu-se com água ultrapura e transferiu-se para balão volumétrico de 5 mL, completando o volume. Acoplou-se em seringa e filtrou-se em membrana 0,45mm. Então, construiu-se uma curva padrão de calibração com as concentrações desejadas. Dessa forma, os cálculos das concentrações das amostras foram feitos através da substituição da absorbância lida de cada amostra, na equação da reta (R). Em ambas as análises, a amostra foi pesada na concentração em 1 mg ml⁻¹.

4. Resultados e Discussões

Os dados obtidos nos experimentos mostraram resultados satisfatórios para os compostos bioativos, fator de principal interesse nesta pesquisa. Os demais ensaios realizados, apresentaram resultados esperados, com base na literatura pesquisada, uma vez que os mesmos, são apenas fatores de acompanhamento e controle do processo de fermentação. As amostras foram analisadas ao término da fermentação, pois o objetivo é a caracterização da bebida após processo final.

Os resultados da avaliação físico-químicas, vitamina C e Cafeína podem ser observados, conforme Tabela 1 abaixo:

Tabela 1. Resultados das análises das duas bebidas de Kombucha avaliadas, após 10 dias de fermentação

Análises	Valores Médios	
	Chá verde	Hibisco
Físico-Químicas		
pH	3,13	2,63
Sólidos Solúveis (°Brix)	10,4	9,6
Acidez Titulável (%)	10,35	16,9
Resíduo Seco	2,25	2,15
Vitamina C (mg/100g)	787,49	547,31
Cafeína (mg/100g)	45,13	-

A produção de ácidos inerentes ao processo fermentativo são características do metabolismo das bactérias acéticas, caracterizando uma bebida levemente ácida, justificando os resultados de pH e acidez. Os sólidos solúveis totais (SST) da Kombucha são resultados do chá somados ao açúcar adicionado. Estes comportamentos foram também observados por Santos et al. (2018), onde durante o processo fermentativo ocorreu um aumento no teor de acidez e redução do pH e dos SST. Rodrigues et al. (2018) afirmam que a produção de ácidos durante o processo de fermentação promove o resultado final dos SST, visto que as bactérias acéticas presentes no SCOBY consomem o açúcar do chá, convertendo-os em ácidos orgânicos.

Os resultados encontrados de vitamina C, foram bastante significativos, uma vez que na composição das kombuchas existe percentual de camu-camu, que é considerado com grande concentração desta vitamina. A cafeína foi apenas encontrada na primeira kombucha, onde foi usado o chá verde, haja vista que as folhas de chá verde, apresentam alta concentração deste composto. Para os resultados da avaliação da atividade oxidante das kombuchas, chegou-se aos seguintes dados demonstrados na Tabela 2:

Tabela 2 – Resultados da atividade antioxidante para as duas bebidas de Kombucha avaliadas

Atividade Antioxidante	Chá verde		Hibisco	
	Valor	DP	Valor	DP
DPPH - (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) (% Inibição)*	82,6	0,009	91,94	0,47
ABTS- (2,2'-azino-bis (3- etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico) (% Inibição)*	95,27	1,18	97,38	0,208
Fenois Totais (µg Eq. Padrão/mL)*	348,5	1,8	551,46	1,3
Flavonoides (µg Eq. Padrão/mL)**	62,2	1,32	20,07	2,1
Taninos (µg Eq. Padrão/mL)***	170	1,6	67,7	0,9

Atividade antioxidante das amostras testados na concentração de 100 mg/mL.

Resultados expressos como média e desvio padrão (DP). Padrões utilizados: *Ácido Gálico, **Quercetina, ***Ácido Tânico.

Os resultados da avaliação quantitativa da atividade antioxidante determinada pelo ensaio do DPPH e ABTS, apresentados na Tabela 2, mostram que todas as bebidas têm atividade seqüestradora dos radicais DPPH e ABTS, estando próximo aos resultados encontrados em Srihari e Satyanarayana (2012), onde avaliaram a atividade antioxidante da kombucha pela metodologia do ABTS tendo como resultado 70,1%. Pode-se levar em

consideração que as kombuchas preparadas possuem um composto antioxidante a mais em sua composição, neste caso o camu-camu.

Uma grande variedade de frutas, possuem quantidades consideráveis de ácidos fenólicos, flavonóides, flavonóis e taninos. Tais substâncias têm importantes propriedades funcionais fisiológicas, bem como a proteção de órgãos e tecidos contra o estresse oxidativo e a carcinogênese (SGARBIERI e PACHECO, 1999). Em contrapartida, essa ação protetora estaria associada à diminuição da palatabilidade, devido ao sabor adstringente (TIRAPEGUI e CASTRO, 2001). O que justifica a kombucha apresentar essa sensação, devido está presente em sua composição o camu-camu, hibisco e chá verde. Estudos na literatura demonstram a riqueza desses compostos nas matérias-primas utilizadas para este trabalho, e podemos observá-los nos resultados das análises.

5. Considerações Finais

As bebidas desenvolvidas durante esta pesquisa apresentaram excelentes propriedades funcionais, alta capacidade de combater radicais livres e podem ser associadas à alimentação saudável levando ao bom funcionamento do organismo.

6. Referências

- Ayed, L., Abid, S. B. e Hamdi, M. (2017) Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. *Ann Microbiol*, v. 67, p. 111-121.
- Broome, T. (2015) Kombucha: The Tea of Immortality em *Fifth Season Gardening*. Disponível em: <<http://fifthseasongardening.com/kombucha-the-tea-of-immortality>>
- Hernández, A. B., Herrera-Arellano, A., Alvez, A. Z., Rivas, T. O. e García, M. M. (2009) Interés de la Flor de Hibisco en Problemas Cardiovasculares. *Revista de Fitoterapia*.V.9, n. 1.
- Jayabalan, R., Malbãsa, R.V., Loncar, E.S., Vitas,J.S. e Sathishkumar, M. (2014) A review on kombucha tea – microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 538-550.
- Marsh, J. A., O'Sullivan, O., Hill, C., Ross R.P.e Cotter P.D. (2014) Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple Kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiology*, [s. l.], v. 38, 171-178, Apr.
- Nguyen, K. N., Phuong B. N., Huong T. N. e Phu H. L. (2015) Screening the optimal ratio of symbiosis between isolated yeast and acetic bacteria strain from traditional Kombucha for high-level production of glucuronic acid. *LWT – Food Science and Technology*, v. 64, n. 2, p. 1149-1155.
- Schroeder, J. (2019) Kombucha fermentada a partir de resíduo de acerola. [Trabalho de Conclusão de Curso], Universidade Universidade de Santa Catarina.
- Paludo, N. (2017) Desenvolvimento e caracterização de kombucha obtida a partir de chá verde e extrato de erva-mate: processo artesanal e escala laboratorial. [Trabalho de Conclusão de Curso], Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

- Piovesana, A. (2016) Extração, identificação, quantificação e microencapsulamento por atomização e liofilização de compostos bioativos dos cálices de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Rodrigues, R. da S., Machado, M.R.G., Barboza, G.G.R., Soares, L.S., Heberle T. e Leivas, Y.M. (2018) Características físicas e químicas de Kombucha à base de chá de hibisco (*Hibiscussabdariffa*, L.). In: SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR, 6., 2018, Gramado. Anais [...] Gramado: SBCTA Regional, RS, p. 72 – 78.
- Santos, Y.M.A., Araújo, F.E.M.O., Mota, M.M.A.M., Gouveia, D.S. e Silva, M.J.S. (2018) Avaliação da composição de kombucha a base de diferentes chás (Hibisco e verde). Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba.
- Santos, Y. M (2018) Caracterização química de Kombucha a base de chás de hibisco e preto. *Revista Brasileira de Agrotecnologia*. Ipameri, v. 8, n. 3, p. 32-37.
- Srihari, T. e Satyanarayana, U. (2012) Changes in free radical scavenging activity of kombucha during fermentation. *J. Pharm. Sci. & Res.*, [s. l.], v. 4, n. 11, p. 1978-1981.
- Souza, G. A. (2010) Efeitos da *Annona muricata* (Graviola) e seu componente Bsitosterol sobre a adiposidade abdominal, resposta glicêmica, metabolismo basal, estresse oxidativo e metabolismo energético no miocárdio de ratos submetidos à obesidade experimental. UNESP, Botucatu.
- Sgarbieri, V. C. e Pacheco, M. T. B. (1999) Revisão: Alimentos funcionais fisiológicos. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 21, n. 12, p. 7-19.
- Nunes S. P., Thomas B. A. e Lima L. C. O. (2014) Compostos Fenólicos, Antocianinas e Atividade Antioxidante em chá de Hibisco (*Hibiscus Sabdariffa* L.). XXIII Congresso de Pós-Graduação da UFLA, Lavras.
- Vina, L., Semjonovs, P., Linde, R. e Deniņa, I. (2014) Current evidence on physiological activity and expected health effects of kombucha fermented beverage. *Journal of Medicinal Food*, v. 17, n. 2, p. 179-188.
- Velićanski, A., Cvetković, D., e Markov, S. (2013) Characteristics of kombucha fermentation on medicinal herbs from Lamiaceae family. *Romanian Biotechnological Letters*, 18(1), 8034-8042.
- Watawana, M. I., Jayawardena, N., Gunawardhana, B. C. e Waisundara, V. Y. (2015) Health, wellness, and safety aspects of the consumption of kombucha. *Journal of Chemistry*, (1), 1-11, Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/jchem/2015/591869>.
- Rietveld, A. e Wiseman, S. (2003) Antioxidant effects of tea: evidence from human clinical trials. *The Journal of Nutrition*, [s. l.], v. 133, n. 10, p. 3275-3284
- Yanagimoto, K., Ochi, H., Lee K.G. e Shibamoto, T. (2003) Antioxidative activities of volatile extracts from green tea, oolong tea, and black tea. *Journal of agricultural and food chemistry*, München , v. 51, n. 25, p. 7396-7401, Dec.
- Balentine, D. A., Wiseman, S. A. e Bouwens, L. C. M. (1997) The chemistry of tea flavonoids. *Critical Reviews in Food Science Nutrition*, England & Wales, v. 37, n. 8, p. 693-704.