



# COMPOSTOS BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE KOMBUCHA EM FUNÇÃO DA PROPORÇÃO DE SUCO DE UVA E TEMPO DE FERMENTAÇÃO SECUNDÁRIA

J. Schmitt<sup>1</sup>, W. J. Rocha<sup>2</sup>, A. F. Bondam, D.V.C Pansera, C. D. Ferreira<sup>5</sup>, J. F. Hoffmann<sup>6</sup>

- 1- Escola da Saúde – Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Instituto Tecnológico em Alimentos para a Saúde (itt Nutrifor) – São Leopoldo – RS – Brasil – Telefone: +55 (51) 3590 8215 – e-mail: (schmittju99@gmail.com)  
 2- Escola da Saúde – Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Instituto Tecnológico em Alimentos para a Saúde (itt Nutrifor) – São Leopoldo – RS – Brasil – Telefone: +55 (51) 3590 8215 – e-mail: (williamjacobsen.r@gmail.com)  
 3- Escola da Saúde – Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Instituto Tecnológico em Alimentos para a Saúde (itt Nutrifor) – São Leopoldo – RS – Brasil – Telefone: +55 (51) 3590 8215 – e-mail: (alinefc@unisinos.br)  
 4- Escola da Saúde – Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Instituto Tecnológico em Alimentos para a Saúde (itt Nutrifor) – São Leopoldo – RS – Brasil – Telefone: +55 (51) 3590 8215 – e-mail: (daiane.pansera@gmail.com)  
 5- Escola da Saúde – Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Instituto Tecnológico em Alimentos para a Saúde (itt Nutrifor) – São Leopoldo – RS – Brasil – Telefone: +55 (51) 3590 8215 – e-mail: (cristianodietrich@unisinos.br)  
 6- Escola da Saúde – Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Instituto Tecnológico em Alimentos para a Saúde (itt Nutrifor) – São Leopoldo – RS – Brasil – Telefone: +55 (51) 3590 8215 – e-mail: (jessicahoffmann@unisinos.br)

**RESUMO** – Kombucha é uma bebida fermentada a base de chá com alto poder antioxidante devido a presença de compostos fenólicos. A saborização da kombucha é realizada antes da fermentação secundária, e isso pode afetar a composição do produto. No presente estudo, o efeito da concentração de suco de uva (40,50 ou 60%) e o tempo de fermentação secundária (0, 4 e 8 dias) sobre o teor de açúcares redutores, compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante foram avaliados. O teor de açúcares redutores, flavonoides e atividade antioxidante frente aos radicais ABTS e DPPH aumentou conforme o aumento da concentração do suco de uva. O teor de fenólicos não foi alterado pelo aumento da concentração do suco de uva. Durante a fermentação, houve alteração no teor de açúcares redutores, fenólicos e atividade antioxidante. O suco de uva adicionado antes da fermentação secundária contribui para aumentar o teor de compostos bioativos na kombucha.

**ABSTRACT** – Kombucha is a fermented tea-based drink with high antioxidant power due to the presence of phenolics. Kombucha flavoring is carried out before secondary fermentation, and this can affect the composition of the product. In the present study, the effect of grape juice concentration (40, 50 or 60%) and time of secondary fermentation (0, 4 and 8 days) on the content of reducing sugars, phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity were evaluated. The content of reducing sugars, flavonoids and antioxidant activity against the radicals ABTS and DPPH increased as the concentration of grape juice increased. Phenolic content was not altered by the increase in the concentration of grape juice. During fermentation, there was a change in the content of reducing sugars, phenolic and antioxidant activity. Grape juice added before secondary fermentation helps to increase the content of bioactive compounds in the kombucha.

**PALAVRAS-CHAVE:** probiótico; bebida fermentada; atividade antioxidante; saúde.

**KEYWORDS:** probiotic; fermented drink; antioxidant activity; health.

## 1. INTRODUÇÃO

A kombucha é uma bebida fermentada que teve seu reconhecimento ascendido após a Segunda Guerra Mundial. É considerada uma bebida funcional, de baixo teor alcoólico e com facilidade de produção em condições

domésticas. A bebida é elaborada com chá verde ou chá preto (*Camelia Sinensis*), açúcar e uma associação simbiótica de bactérias acéticas (*Acetobacter xylinum*, *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus* e *Gluconobacter oxydans*), bactérias do ácido lático e leveduras (*Saccharomyces* sp., *Zygosaccharomyces kombuchaensis*, *Torulopsis* sp., *Pichia* spp., *Brettanomyces* sp. e *Zygosaccharomyces bailii*) conhecida como SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts*) (Kapp e Sumner, 2019).

Os benefícios atribuídos ao consumo de kombucha derivam das características probióticas, dos ácidos orgânicos e dos compostos fenólicos presentes (Martínez et al, 2018). A composição da kombucha é altamente influenciada pelo tipo de chá utilizado na fermentação e pelos parâmetros de fermentação, como o tempo e a temperatura (Kapp e Sumner, 2019). Além disso, os sucos adicionados antes da fermentação secundária, podem alterar a composição da kombucha. Dentre os sucos que podem ser adicionados, o suco de uva é uma fonte de vários elementos nutricionais, como vitaminas, minerais, carboidratos, fibras comestíveis e antioxidantes. Os antioxidantes mais poderosos estão na forma de polifenóis, que incluem ácidos fenólicos, resveratrol, proantocianidinas e flavonoides (Cosme et al., 2018; Robaskewicz et al., 2016).

Os compostos fenólicos, originários do metabolismo secundário das plantas, são substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, importantes para a atividade antioxidante do organismo. São responsáveis também pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa, significativa para análise em estudos com alimentos (Angelo e Jorge, 2007). Os flavonoides, classe específica dos fenólicos, possuem atividades biológicas relacionadas com ação anti-inflamatória, antiviral, antibacteriana, antialérgica, vasodilatadora e com prevenção de doenças crônicas como as cardiovasculares e cânceres (Oliveira et al, 2006).

Dessa forma, o objetivo com o presente estudo foi avaliar o teor de açúcares redutores, compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante de kombucha em função da proporção de suco de uva e do tempo de fermentação secundária.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material

O estudo foi desenvolvido no Instituto Tecnológico em Alimentos para a Saúde, IttNutrifor, localizado na UNISINOS campus São Leopoldo. Os equipamentos incluíram agitadores, espectrofotômetros, estufas e vidrarias para auxílio nas análises. A kombucha utilizada foi da marca Tao, na sua forma original, adquirida em uma loja de produtos naturais da cidade de São Leopoldo. O suco de uva integral da marca Salton - oriundo da cidade de Bento Gonçalves e elaborado com uvas Bordô, Concord, Isabel e Violeta - foi escolhido como substrato da segunda fermentação.

Para avaliação do efeito da proporção do suco de uva e do tempo de fermentação secundária, a kombucha foi misturada com suco de uva integral nas proporções 50:50, 60:40, 40:60 v/v de kombucha para suco uva. As misturas foram armazenadas em frascos de vidro, tampadas e armazenadas a 25°C para fermentação secundária. As amostras foram coletadas e analisadas nos tempos de 0 dias (inicial), 4 dias e 8 dias.

### 2.2 Métodos

Antes da realização das análises, as amostras foram descarboxiladas em banho ultrassônico. A determinação de açúcares redutores foi realizada de acordo com método descrito por Miller (1959). A reação consistiu na mistura de 50µL das amostras com 200µL da solução DNS (ácido 3,5-dinitrossalicílico) e 150µL de água destilada. A mistura permaneceu em banho maria a 100°C durante 5 minutos. Após o resfriamento, foram adicionados 1,6mL de água destilada e a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 540nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de açúcar redutor por mL de amostra, através da realização da curva com padrão da glicose.

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, proposto por Zielinski e Kozłowska (2000). Foram adicionados 250 µL das amostras em tubo de falcon de 15 ml e completado o volume para 4 ml com água destilada. Após, 250 µl de reagente Folin-Ciocalteu 0,25 N foram adicionados a

mistura permaneceu incubada por 3 minutos. Para finalizar, foram adicionados 500  $\mu\text{L}$  da solução de carbonato de sódio 1 N ao tubo de Falcon, que foi agitado e colocado em ambiente escuro. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 725 nm após 2 horas de reação. Os teores de compostos fenólicos foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por mL de amostra, através de curva realizada com padrão de ácido gálico.

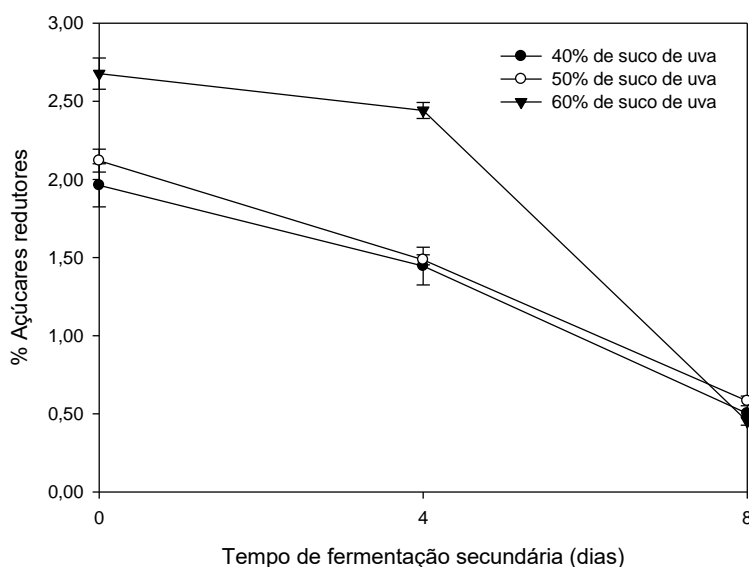
O teor de flavonoides totais foi realizado conforme método proposto por Zhishen, Mengcheng e Jianming (1999), com adaptações. Adicionou-se 500  $\mu\text{L}$  do extrato em tubo de Falcon de 15 ml juntamente com 2 ml de água e 150  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaNO}_2$  (5%), deixou-se reagir durante 5 min., em seguida adicionou-se 150  $\mu\text{L}$  de  $\text{AlCl}_3$  (10%), deixou-se reagir por mais 6 min., após adicionou-se 1 ml de  $\text{NaOH}$  1 mol/Le 1,2 ml de água destilada. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 510 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de catequina (EC) por mL de amostra, através de curva realizada com padrão de catequina.

A atividade antioxidante pelo método do radical DPPH $\cdot$  foi determinada segundo Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Adicionou-se 10 $\mu\text{L}$  das amostras e 90 $\mu\text{L}$  de metanol p.a., seguido de 1900  $\mu\text{L}$  de solução de DPPH com absorbância ajustada entre 1,080 e 1,120 nm. A mistura foi agitada em vórtex e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 515 nm após 2 horas e 30 minutos. A atividade antioxidante pelo método do radical ABTS $^{+\cdot}$  foi determinada segundo Re et al. (1999). Adicionou-se 10  $\mu\text{l}$  do extrato em tubo de Falcon de 15 ml e a este 3900  $\mu\text{L}$  da do radical ABTS $^{+\cdot}$  (absorbância ajustada para 0,700 $\pm$ 0,05 nm). A mistura foi agitada em vortex, e após 6 minutos foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 734 nm, com aparelho zerado com álcool etílico. A atividade antioxidante foi expressa em mg de equivalente trolox (ET) por mL de amostra. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os resultados foram submetidos a análise de variância, e quando significativo, o teste Tukey ( $P < 0,05$ ) foi aplicado. A análise de correlação entre compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante (ABTS, DPPH) foi realizada.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão apresentados os resultados de açúcares redutores. Conforme pode ser observado, as amostras com maiores proporções de suco de uva integral apresentaram os maiores valores de açúcares redutores, como o esperado. À medida que o tempo de fermentação aumentou, o teor de açúcares redutores reduziu em todas as amostras, indicando atividade fermentativa na kombucha.

Figura 1 – Teor de açúcares redutores (%) em kombucha fermentada com diferentes proporções de suco de uva e submetidas a diferentes tempos de fermentação secundária.



Durante a fermentação da kombucha, as enzimas das leveduras, como invertase e sacarase, ajudam a hidrolisar a sacarose em uma mistura de açúcares redutores (glicose e frutose), que são pré-requisitos para a formação de etanol e produção de ácidos orgânicos presentes na kombucha, como o ácido acético, ácido glucônico, entre outros (Ayed et al., 2017). Assim, foi possível observar que quando maior a quantidade de suco de uva adicionado, maior a quantidade de açúcares redutores presentes, isso por que o suco de uva integral adicionado apresenta 130 gramas de açúcar por litro, disponibilizando mais substrato para os microrganismos utilizarem.

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados do teor de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante de kombucha fermentada com diferentes proporções de suco de uva e submetidas a diferentes tempos de fermentação secundária.

Tabela 1 – Teor de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante de kombucha fermentada com diferentes proporções de suco de uva e submetidas a diferentes tempos de fermentação secundária.

Proporção de suco de uva (%)	Tempo de fermentação (dias)		
	0	4	8
<i>Fenóis totais (µg equivalente de ácido gálico/ mL de kombucha)</i>			
40%	816±29 Aa	752±4 Cb	766±24 Bab
50%	842±13 Aa*	818±15 Bab	797±22 ABb
60%	872±32 Aa	875±8 Aa	847±14 Aa
<i>Flavonoides totais (µg equivalente de catequina/ mL de kombucha)</i>			
40%	111±2 Ca	114±2 Ca	112±5 Ca
50%	1331±3 Ba	140±3 Ba	133±2 Ba
60%	155±3 Aa	155±5 Aa	159±3 Aa
<i>ABTS (µg equivalente de trolox / mL de kombucha)</i>			
40%	2043±75 Bb	2225±16 Ba	2303±30 Ba
50%	2132±67 Bb	2160±22 Cb	2412±24 Ba
60%	2394±51Ab	2478±12 Ab	2753±83 Aa
<i>DPPH (µg equivalente de trolox/ mL de kombucha)</i>			
40%	2732±54 Ba	2481±53 Bb	2503±16 Bb
50%	2700±40 Ba	2579±45 Ba	2577±75 Ba
60%	2975±29 Aa	2873±36Aab	2861±62 Ab

Letras maiúsculas diferentes para proporção do suco e letras minúsculas diferentes para o tempo de fermentação diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

O teor de compostos fenólicos, no tempo zero, não foi influenciado pelas diferentes concentrações de suco de uva. No entanto, à medida que o tempo de fermentação aumentou, houve uma diminuição de aproximadamente 6% no teor de compostos fenólicos, nas concentrações de 40% e 50% de suco de uva, respectivamente, enquanto na kombucha com 60% de suco de uva não houve modificação.

O teor de flavonoides aumentou conforme o aumento da concentração de suco de uva. A adição de 60% de suco de uva na kombucha aumentou o teor de flavonoides em 39% e 16% quando comparadas as kombuchas com 40% e 50% de suco de uva. Durante a fermentação, não houve alteração nos teores de flavonoides.



27 A 29 DE OUTUBRO DE 2020



ON LINE

7º Simpósio de  
Segurança Alimentar

Inovação com sustentabilidade

O suco de uva é reconhecido por ser uma das maiores fontes de compostos fenólicos, sendo os principais: os flavonoides (antocianinas, quercetina, caempferol), os estilbenos (resveratrol), os ácidos fenólicos (gálico, vanílico e siríngico) e os taninos (Cosme et al., 2018). Assim, o suco de uva contribuiu no aumento do teor de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante na kombucha. A redução no teor de compostos fenólicos durante a fermentação pode ser devido à utilização de compostos fenólicos pelos microrganismos remanescentes na bebida (Amarasinghe et al., 2018). Por outro lado, os flavonoides não foram alterados durante o armazenamento, o que pode indicar uma preferência pelos compostos de estruturas mais simples, como os ácidos fenólicos.

A atividade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH aumentou conforme o aumento da concentração de suco de uva na kombucha (Tabela 1). No entanto, durante a fermentação, foi observado um aumento da atividade antioxidante pelo método ABTS e uma diminuição pelo método DPPH. Foi verificada correlação positiva e significativa do radical DPPH com o teor de fenólicos ( $R=0,8588$ ) e flavonoides ( $R=0,7419$ ), enquanto para o radical ABTS só foi observada correlação positiva e significativa com o teor de flavonoides ( $R=0,6797$ ).

O aumento da atividade antioxidante frente ao radical ABTS pode ser devido aos peptídeos liberados pelas leveduras durante o processo de autólise (Ayed et al., 2017). Por outro lado, a redução na atividade antioxidante frente ao radical DPPH pode ser devido à redução no teor de compostos fenólicos totais, visto que esses são os maiores contribuintes para a atividade antioxidante em alimentos, devido a capacidade de capturar as espécies de radicais livres e oxigênio (Cosme et al., 2018).

## 4. CONCLUSÕES

A adição de suco de uva e o tempo de fermentação secundária influenciaram no teor de açúcares redutores, compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante das kombuchas. O suco de uva pode ser utilizado como um meio para aumentar os compostos bioativos na kombucha.

## 5. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Mestrado Profissional em Nutrição e Alimentos do Instituto Tecnológico em Alimentos para Saúde - itt Nutrifor e à Universidade do Vale do Rio dos Sinos - UNISINOS.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amarasinghe, H., Weerakkody, N., Waisundara, V. (2018). Evaluation of physicochemical properties and antioxidant activities of kombucha “Tea Fungus” during extended periods of fermentation. *Food science & nutrition* (v. 6, n. 3, p. 659-665). Disponível em <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/fsn3.605>
- Angelo, P., Jorge, N. (2007). Compostos fenólicos em alimentos - uma breve revisão. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* (v.66, n.1). São Paulo. Disponível em [http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0073-98552007000100001&lng=pt](http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552007000100001&lng=pt)
- Ayed, L., Abid, S., Hamdi, M. (2017). Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. *Annals of microbiology* (v. 67, n. 1, p. 111-121). Disponível em <https://link.springer.com/article/10.1007/s13213-016-1242-2>
- Cosme, F., Pinto, T., Vilela, A. (2018). *Phenolic compounds and antioxidant activity in grape juices: A chemical and sensory view*. Beverages (v. 4, n. 1, p. 22). Basel, Switzerland.
- Kapp, J., Sumner, W. (2019). Kombucha: a systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Annals of Epidemiology* (v. 30, p. 66-70). Disponível em <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1047279718307385?via%3Dihub>
- Martínez, J., Suárez, L., Jayabalan, R., Oros, J., Aburto, A. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *Journal of food* (v. 16, p. 390-399). Disponível em <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19476337.2017.1410499>
- Oliveira, V., Espeschit, A., Peluzio, M. (2006). Flavonóides e Doenças Cardiovasculares: Ação Antioxidante. *Rev Med Minas Gerais* (v. 16, n. 4).

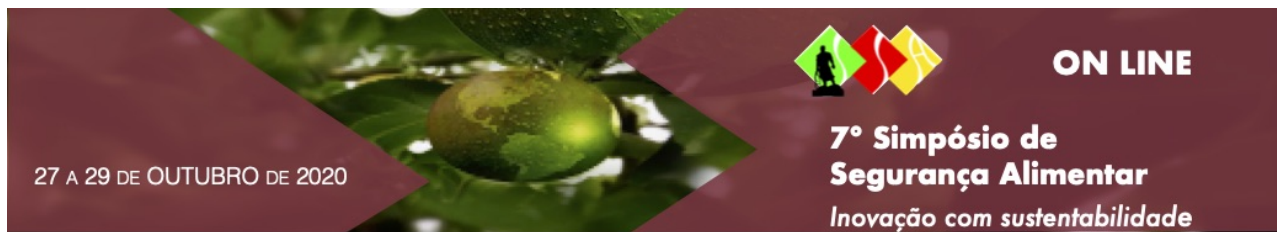
REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



[www.officeeventos.com.br](http://www.officeeventos.com.br)



Robaskewicz, F., Dambrós, B., Santin, N. (2016). Determinação do teor de polifenóis totais e outras características físico-químicas em sucos de uva comerciais. *Unoesc & Ciência - ACBS*, 7(2), 159-166.