



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS DE IMPERATRIZ - CCIM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E TECNOLOGIA

BRUNA MOURA CARDOSO SOUSA

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA TIPO KOMBUCHA DE PRÓPOLIS
VERMELHA E MEL DA ABELHA SEM FERRÃO *Melipona fasciculata* Smith**

IMPERATRIZ - MA

2026

BRUNA MOURA CARDOSO SOUSA

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA TIPO KOMBUCHA DE PRÓPOLIS VERMELHA E
MEL DA ABELHA SEM FERRÃO *Melipona fasciculata* Smith

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Saúde e Tecnologia. Área de concentração: Saúde e Tecnologia. Linha de Pesquisa: Tecnologias em Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Richard Pereira Dutra
Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Ana Lucia Fernandes Pereira

IMPERATRIZ-MA

2026

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Moura Cardoso Sousa, Bruna.

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA TIPO KOMBUCHA DE PRÓPOLIS
VERMELHA E MEL DA ABELHA SEM FERRÃO *Melipona fasciculata*
Smith / Bruna Moura Cardoso Sousa. - 2026.

71 f.

Coorientador(a) 1: Ana Lúcia Fernandes Pereira.

Orientador(a): Richard Pereira Ddutra.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Saúde e Tecnologia/ccim, Universidade Federal do Maranhão,
Imperatriz, 2026.

1. Bebidas Fermentadas. 2. Kombucha. 3. Própolis
Vermelha Amazônica. 4. Abelha Sem Ferrão. 5. Compostos
Fenólicos. I. Fernandes Pereira, Ana Lúcia. II. Pereira
Ddutra, Richard. III. Título.

BRUNA MOURA CARDOSO SOUSA

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA TIPO KOMBUCHA DE PRÓPOLIS VERMELHA E
MEL DA ABELHA SEM FERRÃO *Melipona fasciculata* Smith

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Saúde e Tecnologia. Área de concentração: Saúde e Tecnologia. Linha de Pesquisa: Tecnologias em Saúde.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Richard Pereira Dutra
Universidade Federal do Maranhão (UFMA-PPGST)

Profa. Dra. Ana Lúcia Fernandes Pereira
Universidade Federal do Maranhão (UFMA-PPGST)

Profa. Dra. Queli Cristina Fidelis
Universidade Federal do Maranhão (UFMA-PPGST) (Interno)

Profa. Dra. Tatiana de Oliveira Lemos
Universidade Federal do Maranhão (UFMA-CCIM) (Externo)

DEDICATÓRIA

Este grande momento chegou, e, primeiramente, agradeço a Deus, pois sem Ele nada seria possível.

Dedico esta conquista — que sempre foi um sonho desde a graduação — ao meu irmão gêmeo, Bruno Moura Cardoso Sousa (*in memoriam*). Sua memória é presença constante em minha vida e foi, sem dúvidas, uma das forças que me sustentaram até aqui.

Dedico também aos meus pais, Carmem Lucia Moura Cardoso e Claudemir da Silva Sousa, responsáveis por eu chegar aonde cheguei. Obrigada por cada esforço, e por acreditarem em mim.

Dedico, com todo o meu amor, à minha digníssima noiva, o amor da minha vida e para a minha vida, Ayla de Lucena Araújo. Sem você, nada disso teria sido possível. Obrigada por todo o apoio, carinho, paciência, amor e dedicação que me ofereceu durante todo este período em que estive intensamente dedicada ao mestrado. Você foi e é, meu abrigo, minha força e meu equilíbrio.

Também dedico em especial à minha família, família Cardoso, família Silva Sousa e família Barbosa.

AGRADECIMENTOS

A minha querida noiva, que esteve ao meu lado em absolutamente todos os momentos desta etapa, desde a graduação até agora. Aos meus amigos que estiveram ao meu lado durante toda esta trajetória, minha sincera gratidão. Em especial, Dianne Souza, Letícia Trajano, Bárbara Limeira e Jefferson Casarin, que compartilharam comigo os desafios e as incertezas dessa caminhada. Nos momentos em que pensei em desistir, vocês me lembraram que eu não estava sozinha. Seguimos juntos, no mesmo barco, e isso fez toda a diferença.

Agradeço profundamente ao meu orientador, Richard Pereira Dutra, pela orientação segura, pela confiança depositada em mim e por todos os ensinamentos que contribuíram significativamente para minha formação acadêmica e profissional.

À minha coorientadora, Ana Lúcia Fernandes Pereira, minha gratidão pelo apoio, pelas contribuições valiosas e por todo o auxílio durante este processo de amadurecimento e aprendizagem no Mestrado em Saúde e Tecnologia.

Ao Laboratório de Química de Produtos Naturais do Curso de Licenciatura em Ciências Naturais, e aos Laboratórios de Química de Alimentos e de Laboratório de Microbiologia do curso de Engenharia de Alimentos, meu reconhecimento pelo suporte técnico dos Técnicos de Laboratórios, pela infraestrutura disponibilizada e pelo apoio durante a execução das análises.

Aos membros da banca examinadora, pelas contribuições, sugestões e apontamentos que enriqueceram este trabalho e colaboraram para seu aprimoramento. Aos colegas de laboratório, pela troca de conhecimentos, pelo apoio e pelo companheirismo no dia a dia da pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Tecnologia (PPGST), pela oportunidade de crescimento acadêmico, científico e pessoal ao longo desta jornada.

À Universidade Federal do Maranhão (UFMA), especialmente ao Campus Bom Jesus, agradeço pela estrutura oferecida e pelo suporte institucional indispensável à realização desta pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), agradeço pelo fomento e financiamento concedido, fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do estado do Maranhão (FAPEMA) pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento do projeto.

À Rede de Pesquisa Fito Amazônia (Pró-Amazônia/CNPq processo 445615/2024-9) pelo auxílio financeiro.

À Rede de Pesquisa em Biodiversidade, potencialidades, preservação e saúde ambiental da Amazônia Oriental (PPBio/CNPq processo: 441189/2023-7) pelo auxílio financeiro.

À rede Agência de Financiamento de Estudos e Projetos (FINEP), Brasil (2362/24; 1449/24; 0721/24).

“Não existe progresso e desenvolvimento sem meio ambiente conservado. A sustentabilidade é fundamental para a perpetuação da espécie humana e animal.”

(Judson Clayton Maciel)

RESUMO

O desenvolvimento de alimentos funcionais tem despertado crescente interesse científico e industrial, especialmente no contexto de bebidas fermentadas com propriedades bioativas. Nesse cenário, a kombucha destaca-se como uma matriz fermentada versátil, capaz de incorporar diferentes substratos naturais, ampliando seu potencial nutricional e funcional. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo desenvolver uma bebida tipo kombucha utilizando como substratos a própolis vermelha amazônica (PvAm) e o mel da abelha sem ferrão *Melipona fasciculata* (tiúba), visando explorar o potencial bioativo desses produtos apícolas e avaliar sua aplicabilidade tecnológica na elaboração de uma bebida funcional. Inicialmente, foi preparado um extrato hidroalcoólico de PvAm, obtido por maceração em etanol 70% e posteriormente concentrado e liofilizado. Em seguida, foram produzidas bebidas tipo kombucha utilizando diferentes concentrações de própolis e mel, definidas por meio de um delineamento composto central rotacional, com metodologia de superfície de resposta para otimização das formulações. A viabilidade microbiana da cultura simbiótica de bactérias e leveduras foi utilizada como variável resposta do modelo experimental. Após o processo fermentativo, as bebidas foram avaliadas quanto ao pH, composição fenólica total, conteúdo de flavonoides, atividade antioxidante pelo método do radical DPPH, perfil químico por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (HPLC-ESI-IT-MS/MS) e atividade antibacteriana frente às cepas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Também foram conduzidos estudos de cinética de fermentação ao longo de 12 dias, com monitoramento do pH e da dinâmica das populações microbianas (bactérias acéticas, bactérias lácticas e leveduras). Complementarmente, foi realizada avaliação sensorial por meio da técnica de grupo foco, a fim de compreender a percepção dos consumidores quanto às características sensoriais e ao potencial de aceitação da bebida. Os resultados da otimização indicaram que a formulação contendo 0,84% de PvAm e 8,8% de mel de tiúba apresentou melhor equilíbrio entre viabilidade microbiana e estabilidade fermentativa. Durante a fermentação observou-se redução progressiva do pH, atingindo valores compatíveis com a faixa de segurança microbiológica estabelecida para bebidas tipo kombucha. A análise cinética demonstrou crescimento das populações microbianas ao longo do processo fermentativo. As análises químicas revelaram presença significativa de compostos fenólicos e flavonoides nas bebidas desenvolvidas, refletindo a contribuição da própolis vermelha e do mel utilizados como substratos. A atividade antioxidante observada foi consistente com esses teores, indicando elevado potencial redutor das formulações. A caracterização química por HPLC-ESI-IT-MS/MS permitiu identificar compostos característicos da própolis vermelha, incluindo isoflavonoides como formononetina, liquiritigenina, isoliquiritigenina e calicosina, demonstrando a permanência desses metabólitos bioativos na matriz fermentada. Além disso, as bebidas apresentaram atividade antibacteriana frente às cepas testadas, com efeito predominantemente bacteriostático. A análise sensorial indicou que formulações com maior teor de mel apresentaram melhor aceitação pelos participantes, sugerindo que a doçura residual contribuiu para equilibrar as notas sensoriais provenientes da própolis. Dessa forma, os resultados demonstram que a combinação de PvAm e mel de *Melipona fasciculata* em uma matriz fermentada do tipo kombucha representa uma estratégia promissora para o desenvolvimento de bebidas funcionais com propriedades antioxidantes e antibacterianas.

Palavras-chave: Bebidas fermentadas; kombucha; abelha sem ferrão; própolis vermelha Amazônica; compostos fenólicos.

ABSCTRACT

The development of functional foods has sparked growing scientific and industrial interest, especially within the context of fermented beverages with bioactive properties. In this scenario, kombucha stands out as a versatile fermented matrix capable of incorporating different natural substrates, thereby expanding its nutritional and functional potential. Consequently, the present study aimed to develop a kombucha-type beverage using Amazonian red propolis (PvAm) and honey from the stingless bee *Melipona fasciculata* (tiúba) as substrates, seeking to explore the bioactive potential of these bee products and evaluate their technological applicability in the formulation of a functional Beverage. Initially, a hydroalcoholic extract of PvAm was prepared, obtained by maceration in 70% ethanol and subsequently concentrated and lyophilized. Following this, kombucha-type beverages were produced using different concentrations of propolis and honey, defined through a central composite rotatable design (CCRD) with response surface methodology (RSM) for formulation optimization. The microbial viability of the symbiotic culture of bacteria and yeast (*SCOBY*) was used as the response variable for the experimental model. After the fermentation process, the beverages were evaluated for pH, total phenolic composition, flavonoid content, antioxidant activity via the DPPH radical method, chemical profile by high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry (HPLC-ESI-IT-MS/MS), and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* strains. Fermentation kinetics studies were also conducted over 12 days, monitoring pH and the dynamics of microbial populations (acetic acid bacteria, lactic acid bacteria, and yeasts). Additionally, a sensory evaluation was performed using the focus group technique to understand consumer perception regarding sensory characteristics and the beverage's acceptance potential. Optimization results indicated that the formulation containing 0.84% PvAm and 8.8% tiúba honey presented the best balance between microbial viability and fermentative stability. During fermentation, a progressive reduction in pH was observed, reaching values compatible with the microbiological safety range established for kombucha-type beverages. Kinetic analysis demonstrated the growth of microbial populations throughout the fermentation process. Chemical analyses revealed a significant presence of phenolic compounds and flavonoids in the developed beverages, reflecting the contribution of the red propolis and honey used as substrates. The observed antioxidant activity was consistent with these levels, indicating high reducing potential in the formulations. Chemical characterization by HPLC-ESI-IT-MS/MS allowed for the identification of characteristic red propolis compounds, including isoflavonoids such as formononetin, liquiritigenin, isoliquiritigenin, and calycosin, demonstrating the persistence of these bioactive metabolites within the fermented matrix. Furthermore, the beverages exhibited antibacterial activity against the tested strains, with a predominantly bacteriostatic effect. Sensory analysis indicated that formulations with higher honey content showed better acceptance by participants, suggesting that residual sweetness contributes to balancing the sensory notes derived from the propolis. Thus, the results demonstrate that the combination of PvAm and *Melipona fasciculata* honey in a kombucha-type fermented matrix represents a promising strategy for the development of functional beverages with antioxidant and antibacterial properties.

Keywords: Fermented beverages; kombucha; stingless bee; Amazonian red propolis; phenolic compounds.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Própolis vermelha <i>in natura</i>	15
Figura 2- Kombucha tradicional	23
Figura 3- <i>SCOPY</i>	23
Figura 4- Atividade metabólica da kombucha	24
Figura 5- Amostras das bebidas tipo kombucha à base de própolis vermelha e mel de tíuba	32
Figura 6- Superfície de resposta da viabilidade de bactérias acéticas (Log UFC/mL) em bebidas tipo kombuchas elaboradas a partir de extrato de própolis e mel	39
Figura 7- Perfil cinético do pH durante o processo fermentativo das bebidas tipo kombucha ao longo de 12 dias a 30 °C	47
Figura 8- Curva de crescimento das bactérias acéticas (Log ₁₀ UFC/mL) durante a fermentação das bebidas tipo kombucha por 12 dias	49
Figura 9- Cinética de crescimento da população de bactérias lácticas (LAB) nas formulações BK-CO e BK-S ao longo de 12 dias	50
Figura 10- Cinética de desenvolvimento das leveduras nas formulações BK-CO e BK-S	51
Figura 11- Perfil Cromatograma referente ao extrato de própolis vermelha (A); Cromatograma referente a bebida tipo kombucha condições ótimas(B).....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Níveis reais e codificados das variáveis independentes utilizadas no Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR).....	29
Tabela 2- Bebidas a serem avaliadas pelo grupo foco	31
Tabela 3- Matriz do planejamento composto central rotacional (2 ²) para duas variáveis independentes e a viabilidade de bactérias acéticas da bebida tipo kombucha (log ₁₀ UFC/mL)	38
Tabela 4- Valores de pH final das bebidas tipo kombucha após 7 dias de fermentação, conforme as condições do DCCR.....	41
Tabela 5- Contagem de microrganismos (log UFC/mL) durante a fermentação das bebidas BK-CO e BK-S por 12 dias	45
Tabela 6- Valores referente aos sólidos solúveis, DPPH, e conteúdos de fenólicos totais e flavoides da bebida tipo Kombucha de própolis vermelha e mel	52
Tabela 7- Resultados dos espectros de massa e padrões de fragmentação.....	54
Tabela 8- Atividade antibacteriana (CIM e CBM) das bebidas tipo kombucha frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i>	56

LISTA DE SIGLAS

ADH	Aldeído desidrogenase
ADLH	Álcool desidrogenase
ANOVA	Análise de Variância
BAA	Bactérias do Ácido Acético
BK-CO	Bebida tipo Kombucha Condições Ótimas
BK-S	Bebida tipo Kombucha Escolhida na Análise Sensorial
CBM	Concentração Inibitória Máxima
CI	Concentração Inibitória
CIM	Concentração Inibitória Mínima
DCCR	Delineamento composto central Rotacional
DPPH	Método de sequestro de radical livre (2,2 Difetil - 1 - picril-hidrazila)
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MRS	Metodologia de Superfície de Resposta
PVB	Própolis Vermelha Brasileira
PvAM	Própolis Vermelha amazônica
RTIQ-Mel	Regulamento Técnico de identidade e qualidade do mel
SCOBY	Cultura Simbiótica de bactérias e leveduras
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 Própolis vermelha	14
2.2 Mel	21
2.3 Kombucha	23
2.4 Marco Regulatório para Kombucha no Brasil	26
3. MATERIAIS E MÉTODOS	28
3.1 Coleta e preparo do extrato de própolis vermelha	28
3.2 Mel de <i>Melipona fasciculata</i> Smith	28
3.3 Produção de bebida tipo kombucha de própolis vermelha e mel	29
<i>3.3.1 Determinação das concentrações de extrato de própolis e mel</i>	29
<i>3.4.2 Enumeração de microrganismos</i>	30
3.5 Análise sensorial	30
<i>3.5.1 Seleção e caracterização dos participantes</i>	30
<i>3.5.2 Procedimentos experimentais</i>	31
3.6 Cinética de fermentação	33
<i>3.6.1 Determinação do pH</i>	34
3.7 Fenólicos totais	34
3.8 Flavonoides	34
3.9 Identificação do Perfil Fenólico do Extrato PV-AM e das Bebidas por HPLC-ESI-IT-MS/MS	35
3.10 Atividade Antioxidante	35
3.11 Atividade Antibacteriana das bebidas	36
3.12 Análise estatística	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1 Determinação das concentrações de extrato de própolis e mel	38
4.2 Análise de pH das bebidas tipo kombucha	40
4.3 Análise sensorial: percepções do grupo foco	42
4.4 Cinética de fermentação	45
4.5 Composição de compostos fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante bebidas tipo Kombucha	52
4.6 Perfil Fenólico das Bebidas por HPLC-ESI-IT-MS/MS	53

4.7 Atividade Antibacteriana das Bebidas tipo Kombucha	56
CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS	59