



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS, SAÚDE E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E TECNOLOGIA

GISLANE ROMANO MENDONÇA

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDAS TIPO KOMBUCHA OBTIDAS A PARTIR DE
CHÁS DAS FOLHAS E DOS CAULES DA VINAGREIRA (*Hibiscus sabdariffa* L.)**

IMPERATRIZ

2021

GISLANE ROMANO MENDONÇA

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDAS TIPO KOMBUCHA OBTIDAS A PARTIR DE
CHÁS DAS FOLHAS E DOS CAULES DA VINAGREIRA (*Hibiscus sabdariffa* L.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Tecnologia do Centro de Ciências Sociais, Saúde e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Tecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Lúcia Fernandes Pereira

Coorientadora: Profa. Dra. Virgínia Kelly Gonçalves Abreu

IMPERATRIZ - MA

2021

GISLANE ROMANO MENDONÇA

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDAS TIPO KOMBUCHA OBTIDAS A PARTIR DE
CHÁS DAS FOLHAS E DOS CAULES DA VINAGREIRA (*Hibiscus sabdariffa* L.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Tecnologia do Centro de Ciências Sociais, Saúde e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Tecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Lúcia Fernandes Pereira

Coorientadora: Profa. Dra. Virgínia Kelly Gonçalves Abreu

Aprovada em: 16 / 07 / 2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Ana Lúcia Fernandes Pereira (Orientadora)
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Prof.^a Dr.^a Virgínia Kelly Gonçalves Abreu (Coorientadora)
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Prof.^a Dr.^a Tatiana de Oliveira Lemos (1º membro)
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Prof. Dr. Aramys Silva dos Reis (2º membro)
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

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

Romano Mendonça, Gislane.

Desenvolvimento de bebidas tipo kombucha obtidas a partir de chás das folhas e dos caules da vinagreira *Hibiscus sabdariffa* L / Gislane Romano Mendonça. - 2021. 89 f.

Coorientador(a): Virgínia Kelly Gonçalves Abreu.

Orientador(a): Ana Lúcia Fernandes Pereira.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Saúde e Tecnologia/ccsst, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, 2021.

1. Bactéria. 2. Check-All-That-Apply. 3. Fermentação. 4. PANC. 5. SCOBY. I. Fernandes Pereira, Ana Lúcia. II. Gonçalves Abreu, Virgínia Kelly. III. Título.

Dedico este trabalho
ao meu pai Anates Ribeiro Mendonça e à
minha irmã Gisele Romano Mendonça,
pelo amor, companheirismo e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Ao meu pai Anates Ribeiro Mendonça, minha irmã Gisele Romano Mendonça e meus tios Epitácio Ribeiro Mendonça e Maria Sylvania de Oliveira, por toda confiança, por sempre acreditarem e embarcarem comigo nos meus projetos e ambições. Por todo amor, carinho, companhia e por nunca medirem esforços para me ajudar.

À minha mãe Salete Almeida Romano e meu irmão Lucas Alves Mendonça, por todo amor e por sempre torcerem por mim.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Ana Lúcia Fernandes Pereira, por todos os anos de orientação e ensinamentos, por mais uma vez me ajudar em uma etapa muito importante para a minha vida acadêmica. Por toda compreensão, paciência e confiança. Eu não poderia ter tido uma orientação melhor. Muito obrigada.

À minha coorientadora Prof.^a Dr.^a Virgínia Kelly Gonçalves Abreu, pelo apoio e colaboração durante toda a pesquisa.

À Prof.^a Dr.^a Tatiana de Oliveira Lemos, ao Prof. Dr. Richard Pereira Dutra e ao Prof. Dr. Aramys Silva dos Reis pela colaboração com a pesquisa e pelas considerações pertinentes. Foram contribuições de grande valor para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao meu amigo de laboratório Rodrigo Anacleto Pinto por toda ajuda e companhia, por ser tão dedicado e proativo em todos os passos do desenvolvimento da pesquisa.

Aos amigos de mestrado Marcos Marinho de Sousa Junior, Maria Simone Pereira Maciel Mignoni e Guilherme Martins Gomes Fontoura, pela amizade, companhia na UFMA nos dias de pandemia, por toda troca de conhecimento e auxílio em experimentos.

Ao meu querido amigo Apolo Araújo Soares, pela amizade sincera, companhia e incentivo, por sempre me ouvir. Sua amizade se tornou algo muito valioso para mim.

Aos meus amigos Ariane Lima Soeiro, Feliciano do Espírito Santo Silva Neto, Matheus dos Santos Miranda, Jannes de Carvalho Silva, Larissa Hellen de Lima Ribeiro e Eduarda Silva de Araújo, por todo apoio, carinho, por sempre torcerem por mim e estarem próximos nos momentos que precisei.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida.

À Universidade Federal do Maranhão e ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Tecnologia (PPGST) por possibilitarem a realização do mestrado.

A todos, que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste projeto.

E à Deus, pela vida, por me permitir conhecer pessoas excepcionais e vivenciar momentos que foram tão importantes nessa fase da vida.

À todos, muito obrigada.

“Para conseguir o que quer, você
deve olhar além do que você vê.”

Rafiki – O Rei Leão

RESUMO

A kombucha é definida como uma bebida doce fermentada que tem sido consumida em razão de seus benefícios a saúde. Embora os chás pretos e verdes sejam os substratos mais comuns para sua elaboração, há relatos de que infusões preparadas de diferentes plantas podem também ser usadas. Diante disso, esse estudo teve como objetivo desenvolver bebidas tipo kombucha dos chás das folhas e dos caules de *Hibiscus sabdariffa* L. Para isso, inicialmente o estudo foi dividido em duas etapas. Na primeira etapa, foi feita a caracterização dos extratos das farinhas das folhas (FV) e dos caules da vinagreira (CV). Na segunda etapa, foram produzidas as bebidas tipo kombucha a partir desses substratos. O processo de elaboração das bebidas, por sua vez, foi dividido em três etapas. Na primeira etapa, foram avaliadas as condições de crescimento dos microrganismos nos chás de FV e CV. Na segunda etapa, foi avaliada a cinética de crescimento dos microrganismos das melhores formulações durante 10 dias. Na terceira etapa, realizou-se a saborização das bebidas com uva. Além disso, os dados das bebidas de FV e CV foram comparados com a bebida tradicional de chá verde. As bebidas foram divididas em 3 tratamentos: não fermentadas, fermentadas e, fermentadas e saborizadas. De acordo com os resultados, os extratos de FV apresentaram maiores teores de fenólicos e flavonoides. Além disso, os extratos de FV e CV apresentaram ação antibacteriana contra cepas padrões de *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina, *Escherichia coli*, *S. aureus* e *Candida albicans*. Com relação ao desenvolvimento das bebidas, as condições ótimas para a produção a partir de FV foram 5,93% de farinha e 5,81% de sacarose. Para as bebidas de CV foram 4,75% de farinha e 9,30% de sacarose. Considerando o crescimento microbiano, CV se mostrou como matriz mais promissora para produção das bebidas. Quanto aos dados da terceira etapa, compostos fenólicos e atividade antioxidante aumentaram com a fermentação e a saborização das bebidas. Em relação as características físico-químicas, os valores de pH, acidez volátil e teor alcoólico estavam de acordo com os padrões de identidade e qualidade estabelecidos na legislação brasileira e os valores de teor alcoólico caracterizaram as bebidas como alcóolicas. Com relação a avaliação sensorial, as bebidas de FV e CV obtiveram boa aceitação. No entanto, a bebida de CV foi mais bem aceita que a bebida de FV. Dessa forma, FV e CV são bons substratos para a produção de bebidas tipo kombucha, tendo a bebida dos caules apresentado a melhor aceitação.

Palavras-chave: Bactérias. Leveduras. SCOBY. Fermentação. PANC. Antioxidante. *Check-All-That-Apply*.

ABSTRACT

Kombucha is defined as a sweet fermented beverage that has been consumed because of its health benefits. Although black and green teas are the most common substrates for the kombucha production, there are reports that infusions prepared from different plants can be used. Therefore, the aim of this study was to develop kombucha-type beverages from the leaf and stems teas of *Hibiscus sabdariffa* L. For this, the study was divided into two stages. In the first stage, the extracts from leaf (LV) and stems (SV) flours of vinegar characterization were carried out. In the second stage, they were produced as kombucha-type drinks from these substrates. The beverage production, in turn, was divided into three stages. In the first stage, the conditions for the microorganism's growth in LV and SV teas. In the second stage, the microorganism's kinetics of the best formulations were evaluated during 10 days. In the third stage, the beverages were flavored with grape. In addition, the data from the LV and SV beverages were compared with the traditional beverage from green tea. The beverages were divided into 3 treatments: non-fermented, fermented, and fermented and flavored. According to the results obtained, the extracts of LV had higher phenolics and flavonoids content. Moreover, the extracts of LV and SV had antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* resistant to methicillin, *Escherichia coli*, *S. aureus* and *Candida albicans*. For the beverage production, the optimum conditions for the LV production were 5.93% of flour and 5.81% of sucrose. For beverages from SV, it was 4.75% flour and 9.30% sucrose. For the microbial growth, SV presented as the most promising matrix for beverage production. For the data from the third stage, the phenolic compounds and antioxidant activity increased with fermentation and flavoring of the beverages. For the physico-chemical characteristics, the pH values, volatile acidity and alcoholic content were in accordance with the identity and quality standards established in the Brazilian legislation and the alcohol content values characterized the beverages as alcoholic. For the sensory evaluation, the LV and SV drinks had good acceptance. However, the SV beverage had better acceptance than the LV drink. Thus, LV and SV are good substrates for the kombucha-type beverages production, with the stem beverage showing the best acceptance.

Keywords: Bacteria. Yeasts. SCOBY. Fermentation. PANC. Antioxidant. Check-All-That-Apply.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	<i>Hibiscus sabdariffa</i> L. (a), folhas e caules de vinagreira (b) e caules de vinagreira (c).....	26
Figura 2 –	Imagens utilizadas no grupo foco da kombucha tradicional de chá verde (kombucha 1) e das bebidas tipo kombucha de folhas da vinagreira (kombucha 2) e caules de vinagreira (kombucha 3).....	38
Figura 3 –	Cromatogramas do extrato hidroalcoólico das folhas de vinagreira (EHFV) e da fração de acetato de etila (FAE) e dos padrões em 254 nm. (1) ácido gálico, (2) ácido protocatecuico, (3) quercetina glicosídeo, (4) canferol-3-O-rutinosídeo, (5) quercetina e (6) canferol.....	44
Figura 4 –	Cromatogramas do extrato hidroalcoólico dos caules de vinagreira (EHCV) e da fração clorofórmica (FC) e dos padrões em 254 nm. (1) ácido gálico, (2) ácido protocatecuico, (3) quercetina glicosídeo, (4) canferol 3-O-rutinosídeo, (5) quercetina e (6) canferol.....	45
Figura 5 –	Estruturas químicas dos compostos identificados nos extratos e frações das folhas e dos caules de vinagreira e suas respectivas frações.....	46
Figura 6 –	Superfícies de resposta da viabilidade de bactérias acéticas (log UFC/mL) de bebidas tipo kombucha da (a) farinha das folhas e dos (b) caules de vinagreira e das bactérias lácticas (log UFC/mL) de bebidas da (c) farinha das folhas e dos (d) caules de vinagreira.....	54
Figura 7 –	Viabilidade de (a) bactérias acéticas, (b) bactérias lácticas, (c) leveduras e (d) valores de pH durante a fermentação do chá elaborado com farinhas das folhas (■) e dos caules (●) de vinagreira.....	55
Figura 8 –	Componentes de cor (a) L*, (b) a*, (c) b* e (d) diferença total da cor de bebidas tipo kombucha de farinha das folhas e caules de vinagreira.....	58
Figura 9 –	Cromatogramas do (a) chá verde, do (b) chá verde fermentado, da (c) bebida tradicional de chá verde saborizada e dos (d) padrões em 254 nm. (1) ácido gálico, (2) ácido protocatecuico, (3) quercetina glucosídeo, (4) canferol 3-O-rutinosídeo, (5) quercetina e (6) canferol.....	64
Figura 10 –	Cromatogramas do (a) chá de farinhas folhas de vinagreira e do (b) chá da farinha das folhas de vinagreira fermentado, da (c) bebida tipo kombucha saborizadas e dos (d) padrões em 254 nm. (1) ácido gálico, (2)	

	ácido protocatecuico, (3) quercetina glucosídeo, (4) canferol 3-O-rutinosídeo, (5) quercetina e (6) canferol.....	65
Figura 11 –	Cromatogramas do (a) chá de farinhas dos caules de vinagreira, do (b) chá da farinha dos caules de vinagreira fermentado, da (c) bebida tipo kombucha do saborizadas e dos (d) padrões em 254 nm. (1) ácido gálico, (2) ácido protocatecuico, (3) quercetina glucosídeo, (4) canferol 3-O-rutinosídeo, (5) quercetina e (6) canferol.....	66
Figura 12 –	Análise dos componentes principais (ACP) da (a) aceitação da cor, (b) aparência, (c) aroma, (d) sabor e (e) impressão global de kombucha tradicional de chá verde e das bebidas tipo kombucha de folhas e caules da vinagreira.....	72
Figura 13 –	Representação do kombucha tradicional e das bebidas tipo kombucha de folhas e caules da vinagreira e dos termos usados nas primeira e segunda dimensões da Análise de Correspondência nos dados do CATA.....	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Ensaios do planejamento experimental das kombuchas de folhas ou caules de vinagreira.....	34
Tabela 2 –	Roteiro de temas para as sessões de grupo de foco sobre kombucha.....	37
Tabela 3 –	Concentração de fenóis totais (mg EAG/g) e flavonóide totais (mg EQ/g) dos extratos hidroalcoólicos das folhas e dos caules de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. e das frações hexânica (FH), clorofórmica (FC) acetato de etila (FAE) e hidroalcólica residual (FR).....	42
Tabela 4 –	Atividade antioxidante dos extratos hidroalcoólicos das folhas (EHFV) e da fração de acetato de etila (FAE) e dos extratos hidroalcoólicos dos caules e da fração clorofórmica (FC).....	43
Tabela 5 –	Atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólicos das folhas (EHFV) e dos caules (EHCV) de vinagreira testados contra cepas patogênicas.....	47
Tabela 6 –	Viabilidade das bactérias acéticas e lácticas e das leveduras das bebidas tipo kombucha elaboradas a partir do chá das folhas e dos caules de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.....	49
Tabela 7 –	Viabilidade das bactérias acéticas, lácticas e leveduras da kombucha tradicional e das bebidas tipo kombucha de folhas e caules da vinagreira....	59
Tabela 8 –	Compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante da kombucha tradicional e das bebidas tipo kombucha de folhas e caules da vinagreira....	61
Tabela 9 –	Características físico-químicas da kombucha tradicional e das bebidas tipo kombucha de folhas e caules da vinagreira.....	67
Tabela 10 –	Tópicos de discussão e as percepções que surgiram nas sessões do grupo de foco.....	70
Tabela 11 –	Percentuais de frequência dos descritores mais utilizadas pelos avaliadores na metodologia do CATA, para coletar informações sobre a percepção dos consumidores a respeito das características sensoriais do kombucha tradicional e das bebidas tipo kombucha de folhas e caules da vinagreira.....	74

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1	Kombucha.....	18
2.2	Saborização da kombucha.....	24
2.3	<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.....	25
2.4	Propriedades biológicas da kombucha.....	27
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1	Caracterização dos extratos das folhas e dos caules de vinagreira.....	29
3.1.1	<i>Extração e fracionamento dos extratos.....</i>	29
3.1.2	<i>Determinação do conteúdo fenólicos total e flavonoides totais.....</i>	30
3.1.3	<i>Identificação dos compostos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.....</i>	30
3.1.4	<i>Determinação da atividade antioxidante.....</i>	31
3.1.5	<i>Determinação da atividade antimicrobiana in vitro.....</i>	32
3.2	Desenvolvimento das bebidas tipo kombucha.....	33
3.2.1	<i>Obtenção da matéria-prima, SCOBY e produção de bebidas.....</i>	33
3.2.2	<i>Condições de crescimento dos microrganismos presentes na cultura simbiótica nos chás das farinhas das folhas e dos caules da vinagreira.....</i>	34
3.2.3	<i>Determinações.....</i>	35
3.2.3.1	<i>Enumeração dos microrganismos.....</i>	35
3.2.3.2	<i>pH.....</i>	35
3.2.3.3	<i>Cor instrumental.....</i>	35
3.2.3.4	<i>Determinação do teor de compostos fenólicos e flavonoides totais, atividade antioxidante e identificação dos compostos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.....</i>	36
3.2.3.5	<i>Acidez volátil.....</i>	36
3.2.3.6	<i>Teor alcoólico.....</i>	36
3.2.3.7	<i>Avaliação sensorial.....</i>	36
3.2.3.7.1	<i>Grupo de foco.....</i>	37
3.2.3.7.2	<i>Escala hedônica.....</i>	38
3.2.3.7.3	<i>Check-All-That-Apply (CATA).....</i>	39
3.3	Análise estatística.....	39
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
4.1	Extração e caracterização de extrato das folhas e caules da vinagreira.....	41
4.1.1	<i>Rendimento dos extratos, identificação dos compostos fenólicos e flavonoides totais e atividade antioxidante.....</i>	41
4.1.2	<i>Atividade antimicrobiana in vitro.....</i>	46
4.2	Desenvolvimento das bebidas tipo kombuchas.....	48
4.2.1	<i>Condições de crescimento dos microrganismos presentes na cultura simbiótica no chá das farinhas das folhas e dos caules da vinagreira.....</i>	48
4.2.2	<i>Cinética de crescimento dos microrganismos, pH e cor das bebidas tipo kombucha.....</i>	54

4.2.3	<i>Enumeração dos microrganismos, fenólicos totais, flavonoides totais, acidez volátil e teor alcoólico da kombucha tradicional e das bebidas tipo kombucha das folhas e dos caules de vinagreira.....</i>	59
4.2.4	<i>Avaliação sensorial de kombucha tradicional e das bebidas tipo kombucha das folhas e dos caules de vinagreira.....</i>	68
4.2.4.1	<i>Grupo de foco.....</i>	68
4.2.4.2	<i>Aceitação sensorial por escala hedônica.....</i>	71
4.2.4.3	<i>CATA – Check-All-That-Apply.....</i>	74
5	CONCLUSÃO.....	79
	REFERÊNCIAS.....	81

