

## AVALIAÇÃO DE DIFERENTES TIPOS DE INÓCULOS DE KOMBUCHA COMO STARTER PARA FERMENTAÇÃO DE LEITE BOVINO E CAPRINO

## EVALUACIÓN DE DIFERENTES TIPOS DE INOCULO DE KOMBUCHA COMO INICIADOR PARA LA FERMENTACIÓN DE LECHE BOVINA Y CAPRINA

## EVALUATION OF DIFFERENT TYPES OF KOMBUCHA INOCULUM AS STARTER FOR BOVINE AND GOAT MILK FERMENTATION

Elisandra Rabêlo da Silva<sup>1</sup>; Débora Ciriaco Pereira dos Anjos<sup>2</sup>; Suzana Pedroza da Silva<sup>3</sup> Tatiana Souza Porto<sup>4</sup>; Rodrigo Lira de Oliveira<sup>5</sup>

DOI: <https://doi.org/10.31692/IICIAGRO.0133>

### RESUMO

Kombucha é uma bebida levemente doce e acidificada produzida através da fermentação de uma infusão de folhas ou chás, por uma cultura simbiótica de leveduras e bactérias. Alguns micro-organismos presentes nesta cultura também são capazes de fermentar lactose, o que torna possível a utilização da kombucha com starter na formulação de produtos lácteos fermentados como iogurte e bebidas lácteas, que se apresentam como produtos probióticos, que auxiliam no melhoramento da saúde humana. A maioria dos estudos que reportam a capacidade de fermentar lactose por culturas de kombucha são realizados utilizando leite bovino. Entretanto, o leite caprino também apresenta características nutricionais elevadas e menor alergenicidade, contudo devido aos ácidos graxos apresenta um sabor forte e característico, assim é necessário o desenvolvimento de novas formulações para este produto. Desse modo, o objetivo do trabalho foi produzir e avaliar bebidas lácteas fermentadas por kombucha a partir de leites bovino (LB) e caprino (LC). Para isto, na fermentação utilizou-se amostras leites pasteurizados (bovino e caprino) com a adição de 20% de inóculo de kombucha preparados a partir de chás verde e preto. Posteriormente, as bebidas obtidas foram avaliadas em termos de parâmetros físico-químicos, teor de fenólicos totais e atividade antioxidante frente os radicais ABTS e DPPH. Foi observado que para ambos os tipos de leite, as bebidas preparadas com inóculos a base chá verde (LB: 1,45 g de ácido láctico/100 g; LC: 1,25 g de ácido láctico/100 g) apresentaram valores de acidez superiores aos obtidos para as obtidas por inóculos de chá preto (LB: 0,74 g de ácido láctico/100 g; LC: 0,91 g de ácido láctico/100 g). Por outro lado, uma tendencia contrária foi observada para os parâmetros proteína e cinzas, sendo o maior teor de proteína observado para a amostra de leite bovino fermentada com inóculo a base chá preto (3,67%). Com relação à atividade antioxidante, verificou-se que para o radical ABTS, não houve diferenças estatísticas entre as amostras. Entretanto, a maior capacidade sequestrante do radical DPPH (0,507 mM Trolox/mL) foi observada na amostra de leite caprino fermentada com inóculo a base chá verde, que também foi a que apresentou o maior teor de compostos fenólicos (73,69 mg EAG/100 mL). Os resultados obtidos, especialmente relacionados à atividade antioxidante são um indicativo do potencial de utilização de culturas de kombucha como *starter* para fermentação de leite, sobretudo no desenvolvimento de novos produtos com leite caprino.

**Palavras-Chave:** Kombucha, Leite caprino, Produtos lácteos fermentados.

<sup>1</sup> Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, [rabeloelisandra1@gmail.com](mailto:rabeloelisandra1@gmail.com)

<sup>2</sup> Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, [deb.dosanjos@gmail.com](mailto:deb.dosanjos@gmail.com)

<sup>3</sup> Doutora, Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, [suzana.pedroza@ufape.edu.br](mailto:suzana.pedroza@ufape.edu.br)

<sup>4</sup> Doutora, Universidade Federal Rural de Pernambuco, [rodriolira.pnpd@ufape.edu.br](mailto:rodriolira.pnpd@ufape.edu.br)

<sup>5</sup> Doutor, Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, [tatiana.porto@ufrpe.br](mailto:tatiana.porto@ufrpe.br)

## RESUMEN

La kombucha es una bebida ligeramente dulce y ácida producida por la fermentación de una infusión de hojas o té por un cultivo simbiótico de levadura y bacterias. Algunos microorganismos presentes en este cultivo también son capaces de fermentar la lactosa, lo que permite utilizar la kombucha como iniciador en la formulación de productos lácteos fermentados como el yogur y las bebidas lácteas, que se presentan como productos probióticos, que ayudan a mejorar la salud humana. . . La mayoría de los estudios que informan la capacidad de fermentar lactosa por cultivos de kombucha se realizan con leche bovina. Sin embargo, la leche de cabra también tiene altas características nutricionales y menor alergenicidad, sin embargo, debido a los ácidos grasos tiene un sabor fuerte y característico, por lo que es necesario desarrollar nuevas formulaciones para este producto. Así, el objetivo de este trabajo fue producir y evaluar bebidas lácteas fermentadas por kombucha a partir de leche bovina (LB) y caprina (LC). Para ello, se utilizaron muestras de leche pasteurizada (bovina y caprina) en la fermentación con la adición de un 20% de inóculo de kombucha preparado a base de té verde y negro. Posteriormente, las bebidas obtenidas fueron evaluadas en cuanto a parámetros fisicoquímicos, contenido de fenoles totales y actividad antioxidante frente a los radicales ABTS y DPPH. Se observó que, para ambos tipos de leche, las bebidas preparadas con inóculo a base de té verde (LB: 1,45 g de ácido láctico/100 g; LC: 1,25 g de ácido láctico/100 g) presentaron valores de acidez superiores a los obtenidos por leche negra. inóculo de té (LB: 0,74 g de ácido láctico/100 g; LC: 0,91 g de ácido láctico/100 g). Por otro lado, se observó una tendencia opuesta para los parámetros de proteína y cenizas, observándose el mayor contenido de proteína para la muestra de leche bovina fermentada con inóculo a base de té negro (3,67%). En cuanto a la actividad antioxidante, se encontró que para el radical ABTS no hubo diferencias estadísticas entre las muestras. Sin embargo, la mayor capacidad de captación de radicales DPPH (0,507 mM Trolox/mL) se observó en la muestra de leche de cabra fermentada con inóculo a base de té verde, que también presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos (73,69 mg EAG/100 mL). Los resultados obtenidos, especialmente los relacionados con la actividad antioxidante, son indicativos del potencial uso de los cultivos de kombucha como iniciador de la fermentación de la leche, especialmente en el desarrollo de nuevos productos con leche de cabra.

**Palabras Clave:** Kombucha, Leche de cabra, Productos lácteos fermentados.

## ABSTRACT

Kombucha is a slightly sweet and acidic beverage produced by fermenting an infusion of leaves or teas by a symbiotic culture of yeast and bacteria. Some microorganisms present in this culture are also capable of fermenting lactose, which makes it possible to use kombucha as a starter in the formulation of fermented dairy products such as yogurt and dairy drinks, which are presented as probiotic products, which help to improve human health. Most studies reporting the ability to ferment lactose by kombucha cultures are performed using bovine milk. However, goat milk also has high nutritional characteristics and lower allergenicity, however due to the fatty acids it has a strong and characteristic flavor, so it is necessary to develop new formulations for this product. Thus, the objective of this work was to produce and evaluate dairy beverages fermented by kombucha from bovine (LB) and goat (LC) milk. For this, samples of pasteurized milk (bovine and goat) were used in the fermentation with the addition of 20% of kombucha inoculum prepared from green and black teas. Subsequently, the drinks obtained were evaluated in terms of physicochemical parameters, total phenolic content, and antioxidant activity against ABTS and DPPH radicals. It was observed that for both types of milk, beverages prepared with inoculum based on green tea (LB: 1.45 g of lactic acid/100 g; LC: 1.25 g of lactic acid/100 g) presented acidity values higher than those obtained by black tea inoculum (LB: 0.74 g of lactic acid/100 g; LC: 0.91 g of lactic acid/100 g). On the other hand, an opposite trend was observed for the protein and ash parameters, with the highest protein content observed for the bovine milk sample fermented with black tea-based inoculum (3.67%). Regarding the antioxidant activity, it was found that for the ABTS radical, there were no statistical differences between the samples. However, the highest DPPH radical scavenging capacity (0.507 mM Trolox/mL) was observed in the sample of goat milk fermented with green tea-based inoculum, which also showed the highest content of phenolic compounds (73.69 mg EAG/100 mL). The results obtained, especially related to the antioxidant activity, are indicative of the potential use of kombucha cultures as a starter for milk fermentation, especially in the development of new products with goat milk.

**Keywords:** Kombucha, Goat milk, Fermented dairy products.

## INTRODUÇÃO

A kombucha é uma bebida oriental milenar produzida através da atividade metabólica de bactérias e levedura em simbiose em uma base de chá verde ou preto (*Camellia sinensis*) adoçado com sacarose. Dessa forma, a kombucha consiste em duas fases: a primeira composta por um biofilme produzido por bactérias acéticas denominado Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts (SCOBY); e a segunda trata-se de uma bebida ácida contendo diversos compostos como aminoácidos, vitaminas, etanol, ácidos orgânicos e compostos fenólicos (MALBAŠA *et al.*, 2009). Assim, esses compostos são responsáveis por definir o sabor único da bebida e possibilitar benefícios à saúde devido a suas propriedades antioxidantes e anticarcinogênica, por exemplo (MORALES, 2020).

Tradicionalmente utiliza-se como substrato para a kombucha o chá verde ou preto adoçado, no entanto, diversos estudos comprovam a possibilidade de fermentação com outros açúcares, como lactose, glucose e frutose, formando bebidas com diferenças significativas no teor de ácido lático e etanol (KANURIĆ *et al.*, 2018). Assim, os produtos obtidos utilizando como substrato o leite bovino apresenta características sensoriais semelhantes a produtos já conhecidos no mercado, como iogurtes e kefir (SARKAYA; AKAN; KINIK, 2021). Em termos metabólicos, sabe-se que durante a produção da bebida kombucha, a glicose é convertida em ácido lático sob influência de bactérias ácido lácticas e, caso haja a presença de leveduras, essa é convertida em etanol e CO<sub>2</sub>. Assim, caso bifidobactérias existam, a conversão de lactose em ácido lático também é possível (ILIČIĆ *et al.*, 2011).

A aplicação da kombucha como cultura starter de bebidas lácteas ainda está sob estudos devido tradicionalmente a alimentação comum destes micro-organismos ser a sacarose. Análises microbiológicas mostraram que algumas bactérias pertencentes a kombucha são do grupo *Acetobacter*, enquanto os fungos são *Saccharomyces ludwigii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces bisporus*, *Torulopsis sp.* e *Zygosaccharomyces sp.* As propriedades benéficas da kombucha para o organismo humano estão associadas a composição da bebida, já que essa produz compostos como ácido acético, vitamina B e ácido fólico (ILIČIĆ *et al.*, 2011).

Além do leite bovino como substrato para a fermentação da kombucha, estudos mostram a possibilidade também de inoculação de leites de outras espécies para a produção de bebidas lácteas devido a características semelhantes favoráveis. O leite caprino, por possuir glóbulos de gordura menores, quando comparados ao leite de vaca, é digerível com maior facilidade pelas enzimas do corpo humano, estando relacionado também ao teor elevado de ácidos graxos insaturados e de cadeia curta/média (ABREU *et al.*, 2019). Assim, o presente trabalho teve

como objetivo a produção e avaliação dos parâmetros físico-químicos, colorimétricos e atividades antioxidantes de bebidas lácteas fermentadas a partir de leite bovino e caprino utilizando kombucha como cultura *starter*.

## REFERENCIAL TEÓRICO

Os produtos lácteos fermentados, como iogurtes, leites fermentados, bebidas lácteas fermentados, são definidos como produtos provenientes da coagulação e diminuição do pH do leite de qualquer espécie, através da fermentação láctica por meio da ação de bactérias ácido-láticas. Sendo inclusos nesse grupo o iogurte, o leite fermentado, o leite acidófilo, kefir, kumys e coalhada (BRASIL, 2007).

O iogurte é resultado da fermentação realizada por micro-organismos específicos, *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, podendo ser ou não adicionado de outras bactérias. Enquanto a bebida láctea fermentada é obtida pela mistura do leite com o soro de leite, podendo ser ou não adicionada de outros componentes, com uma base láctea de pelo menos 51% dos ingrediente totais (BRASIL, 2005). O leite fermentado apresenta características semelhantes a bebida láctea, e são vistos como substitutos de produtos como iogurte. As principais diferenças entre esses produtos são a utilização do soro de leite, teor mínimo de proteínas lácteas, a contagem de bactérias ácido-láticas e a obrigatoriedade dos micro-organismos utilizados (PECENIN *et al.*, 2020; PFRIMER, 2018).

Os microrganismos fermentadores mais utilizados na fermentação do iogurte, leite fermentado e bebida láctea são *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, entretanto podem ser adicionados outros microrganismos, como *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus johnsonii* e *Lactobacillus casei*. Esses microrganismos são considerados probióticos e o seu consumo em quantidades adequadas pode ser muito benéfica a saúde humana (GRANIER *et al.*, 2013; HILL *et al.*, 2017). Dentre os principais benefícios associados ao consumo de probiótico estão a melhoria do sistema imunológico, manutenção do equilíbrio da microbiota intestinal, melhora da absorção de minerais, redução do colesterol e da pressão arterial. Além disso, os prebióticos estão relacionados com a diminuição das chances de desenvolvimento de câncer de cólon (MOINEAU-JEAN *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2019).

A utilização da kombucha na formulação dos produtos lácteos tem se mostrado promissora, com a obtenção de produtos com características semelhantes ao kefir e iogurte. De modo geral, esses produtos devem compor um novo grupo de leites fermentados, devido a complexidade do inóculo utilizado e também pelas características de qualidade dos produto

final, onde a qualidade dos leites fermentados, assim como, as características nutricionais, reológicas e sensoriais está relacionada com a composição do leite, a concentração de kombucha, o tipo de chá e a temperatura de processamento. (ILIČIĆ *et al.*, 2017; MALBAŠA *et al.*, 2014; VITAS *et al.*, 2013).

A kombucha é um tipo de bebida fermentada levemente adocicada e acidificada, sendo obtida a partir da fermentação de infusão de folhas ou chás, adicionado de sacarose, por uma cultura simbiótica de leveduras e bactérias (SCOBY). O kombucha ainda pode passar por uma segunda fermentação com o intuito de carbonatar a bebida, para isso, se pode adicionar mais sacarose a bebida. A composição pode variar conforme a produção, o tipo de SCOBY inoculado, o chá utilizado e temperatura de produção (DUTTA; PAUL, 2019; KAPP; SUMNER, 2019).

A microbiota do SCOBY é composta por bactérias e leveduras, no qual é estabelecida uma relação simbiótica capaz de inibir o crescimento de microrganismos contaminantes. Os principais microrganismos encontrados no SCOBY são *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Schizosaccharomyces pompe*, *Saccharomyces ludwigii*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Candida spp.*, *Pichia spp* (VILLARREAL-SOTO *et al.*, 2020). Esses microrganismos se apresentam como simbióticos, o que pode conferir a bebida características probióticas que são responsáveis pela melhoria da saúde humana. Dentre os benefícios do kombucha se tem a ação antioxidante, o equilíbrio da flora intestinal (VITAS *et al.*, 2013; WATAWANA *et al.*, 2015).

A maioria dos estudos envolvendo o uso de culturas de kombucha como cultura starter para fermentação de leite é realizada utilizando leite bovino. Entretanto, o leite caprino apresenta uma série de atributos que o caracteriza como um produto com alto valor nutricional e também uma alergenicidade menor quando comparado a leite bovino, entretanto o leite caprino apresenta um sabor forte devido ao seu alto conteúdo de ácidos graxos livres de cadeia curta e média. Dessa forma, se faz necessário o desenvolvimento de novas formulações para camuflar esse sabor forte. Além disso, essas formulações se apresentam como um caminho promissor, uma vez que existe pouca diversidade de produtos lácteos caprinos com características probióticas (CAIS-SOKOLINSKA; WALKOWIAK-TOMCZAK, 2021; RANADHEERA *et al.*, 2019). Dentre os produtos lácteos que estão sendo elaborados com leite caprino se destacam o kefir de leite caprino, queijos e iogurte. No primeiro caso, se utiliza um microbiota controlada com o intuito de camuflar o sabor característico desse produto. Em relação aos queijos, a utilização de probióticos na formulação demonstrou boas características sensoriais (MORAES *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2021).



## METODOLOGIA

### Matérias-primas

A cultura de kombucha comercial utilizada para a inoculação foi adquirida on-line através da empresa canadense Tonica Kombucha. A inoculação ocorreu em chás preparados com infusão de 8 g/L de *Camellia sinensis* nos tipos chá preto e verde por 10 minutos a 90 °C. Esses foram suplementados com 80 g/L de sacarose, e inoculados, após o resfriamento até temperatura ambiente ( $25 \pm ^\circ\text{C}$ ), com 10% do caldo de uma fermentação anterior de kombucha. Foram cobertos com papel absorvente e reservados em BOD à 30 °C. Foram utilizados leites bovinos e caprino adquirido no comércio local de Garanhuns-PE e cedido por produtores rurais de Capoeiras-PE, respectivamente. As amostras dos leites bovino e caprino foram pasteurizadas por 30 minutos a 65 °C e resfriados à temperatura ambiente ( $25 \pm ^\circ\text{C}$ ).

### Processo fermentativo

Alíquotas (250 mL) dos leites pasteurizados foram pré-aquecidos a 43 °C em banho-maria. Em seguida, se adicionou 20% de inóculo de kombucha preparado previamente em chás verde e preto. As amostras foram cobertas e levadas ao banho-maria na temperatura de 43 °C. O pH foi medido a cada 30 minutos, até atingir o valor de 4,5 e encerrar a fermentação. Em seguida as amostras foram postas em reservatórios de vidro e guardadas sob refrigeração.

### Análises físico-químicas e colorimétricas

As análises físico-químicas realizadas foram, acidez total titulável, proteína pelo método de Kjeldahl, cinzas em mufla a 550 °C, seguindo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008), todas realizadas em triplicatas para uma maior confiabilidade. Os parâmetros de cor foram medidos usando o sistema CIELAB (L, a\* e b\*) através de colorímetro portátil (Konica Minolta CR10, Tóquio, Japão).

### Determinações de fenólicos totais e atividade antioxidante

A determinação de fenólicos totais foi realizada conforme a metodologia proposta por Singleton e Rossi (1965), com adaptações. Primeiramente foi realizada a mistura de 0,2 mL do leite fermentado e 1,0 mL do reagente Folin-Ciocalteu. Após 1 minuto foi adicionado 0,8 mL de uma solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (75 g/L). Após isso a amostra foi homogeneizada e mantida sob o abrigo da luz por duas horas. Em seguida as amostras foram submetidas a leitura em espectrofotômetro em absorvância de 765 nm. Assim, o teor de fenólicos totais foi calculado utilizando ácido gálico como padrão e expresso em mg/100 mL de Equivalentes de Ácido Gálico (EAG).

A capacidade de remoção de radicais livres de 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) das soluções fermentadas de leite utilizando Kombucha foram medidas de acordo Mizuta *et al.* (2020), com adaptações. A 2,0 mL de cada amostra foi adicionado 2,0 mL da solução etanólica do radical DPPH (0,1 mmol/L). A mistura foi agitada e deixada em repouso ao abrigo da luz por 20 minutos. Em seguida, foi realizada a medida da absorbância em espectrofotômetro a 517 nm. A atividade antioxidante sob o radical livre ABTS (2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico) foi realizada de acordo com Mizuta *et al.* (2020), com adaptações. Foi realizada a mistura reacional de 30 µL de cada amostra com 3,0 mL de radical ABTS, após 6 minutos de reação foi realizada a leitura da absorbância a 734 nm. Os resultados de ambas as atividades antioxidantes foram calculados a partir de curva de calibração utilizando Trolox como padrão e foram expressos em mM de trolox/mL de amostra.

### **Análise estatística**

As análises estatísticas foram realizadas para os resultados obtidos para os parâmetros físico-químicos, colorimétricos, teor de fenólicos totais e atividade antioxidante foram realizadas utilizando o software Minitab 17.0. Para essa finalidade, foram realizadas o teste de Tukey a um nível de 95% de confiança.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O processo fermentativo da amostra de leite bovino com kombucha feita em chá preto ocorreu em 8,5 horas. O decréscimo do pH foi acompanhado até atingir o valor de 4,5, com decréscimo mais acentuado após 5 horas. Já para as demais amostras o processo fermentativo foi finalizado após o período de 24 horas. Com relação à fermentação do leite bovino utilizando kombucha como starter, experimentos realizados por Kanuric *et al.* (2018), sob os mesmos parâmetros, mostraram que a fermentação levou 8 horas e 15 minutos, com maior decréscimo de pH observado após 2 horas.

Os resultados obtidos para os parâmetros físico-químicos acidez, cinzas e teor de proteína encontram-se dispostos na Tabela 01. A acidez das bebidas fermentadas foi maior nas que utilizaram o inóculo elaborado com chá verde (LB:  $1,45 \pm 0,21$  g de ácido láctico/100 g; LC:  $1,24 \pm 0,71$  g de ácido láctico/100 g) para ambos os tipos de leite. A tendência oposta foi observada para o teor de proteínas, que apresentou maiores valores para o inóculo de chá preto (LB:  $3,67 \pm 0,31\%$ ; LC:  $1,76 \pm 1,45\%$ ). Os resultados para estes dois parâmetros estão relacionados e indicam que a extensão da proteólise foi maior nas amostras que apresentam inóculo de chá verde, resultando assim em produtos com maior acidez e menor teor de proteína.

Os resultados para o parâmetro acidez, especialmente para as amostras de leite caprino, apresentaram-se semelhantes a resultados obtidos por outros autores como reportado por Abreu (2019) que obteve uma acidez de 0,73 g de ácido láctico/100 g para o iogurte de fermentação com inóculo comercial. De modo semelhante, Nurliyani *et al.* (2019) obteve uma acidez de 1,02% para o iogurte de leite de cabra inoculado com 10% de kombucha e 2% de *Lactobacillus casei*.

**Tabela 01:** Parâmetros físico-químicos de iogurtes produzidos a partir de leites e inóculos diferentes.

Parâmetro	Tipo de inóculo	
	CV	CP
<b>Leite bovino</b>		
Acidez (g de ácido láctico/100 g)	1,45 ± 0,21 <sup>a</sup>	0,74 ± 0,14 <sup>b</sup>
Proteína (%)	1,67 ± 1,33 <sup>b</sup>	3,67 ± 0,31 <sup>a</sup>
Cinzas (%)	0,13 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,36 ± 0,00 <sup>a</sup>
<b>Leite caprino</b>		
Parâmetro	Tipo de inóculo	
	CV	CP
Acidez (g de ácido láctico/100 g)	1,24 ± 0,71 <sup>a</sup>	0,91 ± 0,14 <sup>b</sup>
Proteína (%)	1,21 ± 0,51 <sup>b</sup>	1,76 ± 1,45 <sup>a</sup>
Cinzas (%)	0,36 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,56 ± 0,00 <sup>a</sup>

CV – Chá verde; CP – Chá preto. Amostras com diferentes letras são significativamente diferentes umas das outras a um nível de 95% de confiança.

**Fonte:** Própria (2023).

A análise de cinzas está relacionada à quantidade de compostos inorgânicos presentes na amostra, já que durante a carbonização os compostos orgânicos são incinerados. Os teores de cinzas para as bebidas fermentadas a partir dos leites bovino e caprino variaram entre 0,13-0,36% e 0,36-0,56%, respectivamente, sendo os maiores resultados obtidos nas amostras preparadas com o inóculo de chá preto. As diferenças podem estar relacionadas à composição inicial das amostras de leite e a alterações ocorridas durante à fermentação. Os resultados obtidos no presente estudo foram inferiores aos reportados por Malbasa *et al.* (2009) (0,82-0,84%) e Hrnjez *et al.* (2014) (0,73%) para bebidas fermentadas à base de leite bovino utilizando starter de kombucha.

Os resultados das análises colorimétricas encontram-se dispostos na Tabela 02. Verificou-se que para as amostras de leite bovino, a amostras com inóculo de chá preto



apresentou maior luminosidade ( $L = 11,63 \pm 0,49$ ), ao passo que para este parâmetro não foram observadas diferenças nas amostras de leite caprino. Para a coordenada  $a^*$  (vermelho/verde), verificou-se diferenças entre as amostras de leite bovino, sendo o maior resultado ( $a^* = 3,50 \pm 0,10$ ) observado para a que foi preparada com inóculo de chá preto. Já para a coordenada  $b^*$  (amarelo/azul), verificaram diferenças estaticamente significativas para as amostras provenientes dos diferentes tipos de leite, sendo os maiores resultados obtidos nas bebidas de leite bovino e caprino nos inóculos de chá verde ( $b^* = 3,33 \pm 0,21$ ) e chá preto ( $b^* = 6,20 \pm 0,26$ ), respectivamente. É importante ressaltar a escassez de resultados sobre parâmetros colorimétricos de produtos lácteos fermentados utilizando kombucha como cultura *starter*, destacando assim a contribuição dos resultados obtidos no presente estudo.

**Tabela 02:** Análise colorimétrica nos parâmetros L,  $a^*$  e  $b^*$  de iogurtes obtidos com leites e inóculos diferentes.

**Leite bovino**

Parâmetro	Tipo de inóculo	
	CV	CP
L	$10,67 \pm 0,058^b$	$11,63 \pm 0,49^a$
$a^*$	$2,57 \pm 0,42^b$	$3,50 \pm 0,10^a$
$b^*$	$3,33 \pm 0,21^b$	$6,20 \pm 0,26^a$

**Leite caprino**

Parâmetro	Tipo de inóculo	
	CV	CP
L	$10,50 \pm 0,26^a$	$10,80 \pm 0,52^a$
$a^*$	$2,10 \pm 0,10^a$	$1,53 \pm 0,35^a$
$b^*$	$3,33 \pm 0,30^a$	$2,57 \pm 0,21^b$

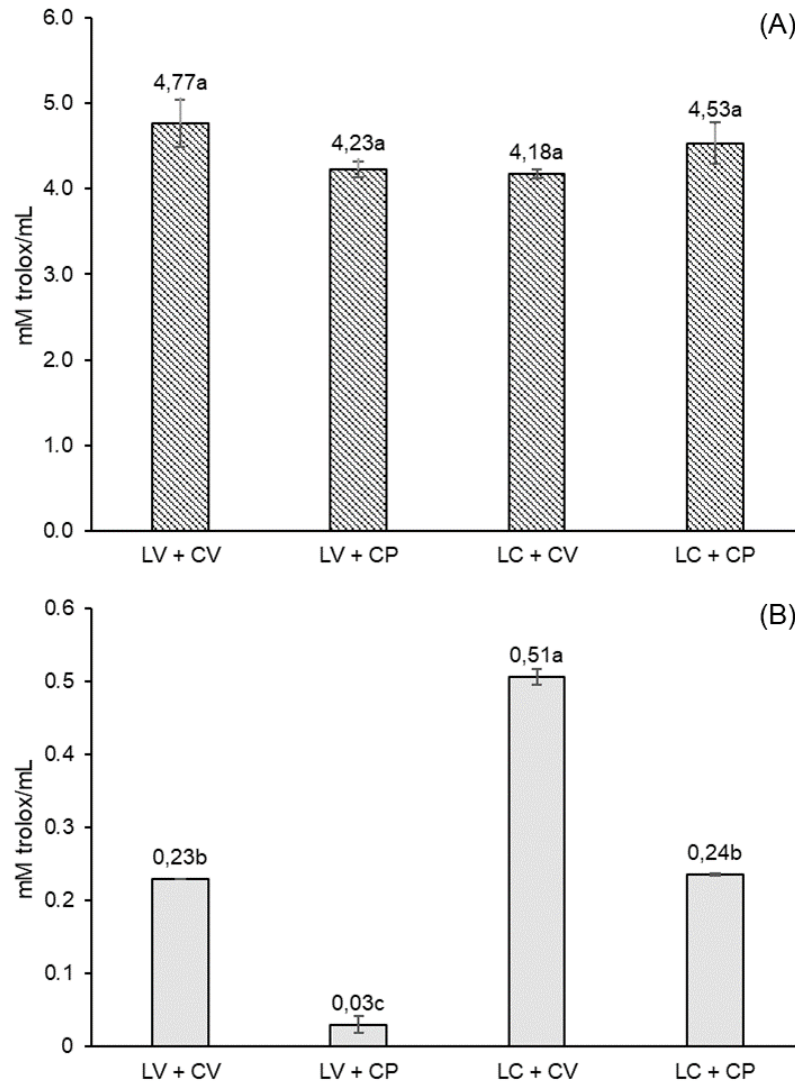
CV – Chá verde; CP – Chá preto. Amostras com diferentes letras são significativamente diferentes umas das outras a um nível de 95% de confiança.

**Fonte:** Própria (2023).

Foram avaliadas a atividade antioxidante das bebidas fermentadas a partir do diferentes inóculos frente aos radicais ABTS e DPPH, os resultados podem ser observados na Figura 01. A capacidade sequestrante do radical ABTS variou entre 4,17 e 4,77 mM Trolox/mL, não apresentando diferentes estatisticamente significativas entre as amostras dos diferentes tipos de leite e inóculos. Já para o radical DPPH, a máxima atividade antioxidante (0,507 mM Trolox/mL) foi observada na bebida de leite caprino fermentada por inóculo de chá verde,

apresentando diferença estatisticamente significativa das demais amostras. Fu *et al.* (2014) observou um comportamento similar ao avaliar a atividade antioxidante frente ao radical DPPH em kombuchas de chá verde e preto, sendo verificados 95,3% e 38,7% de inibição do radical para as bebidas de chá verde e preto, respectivamente.

**Figura 01:** Atividade antioxidante frente aos radicais ABTS (A) e DPPH (B) das bebidas lácteas fermentadas de leite bovino e caprino a partir de diferentes inóculos de kombucha.



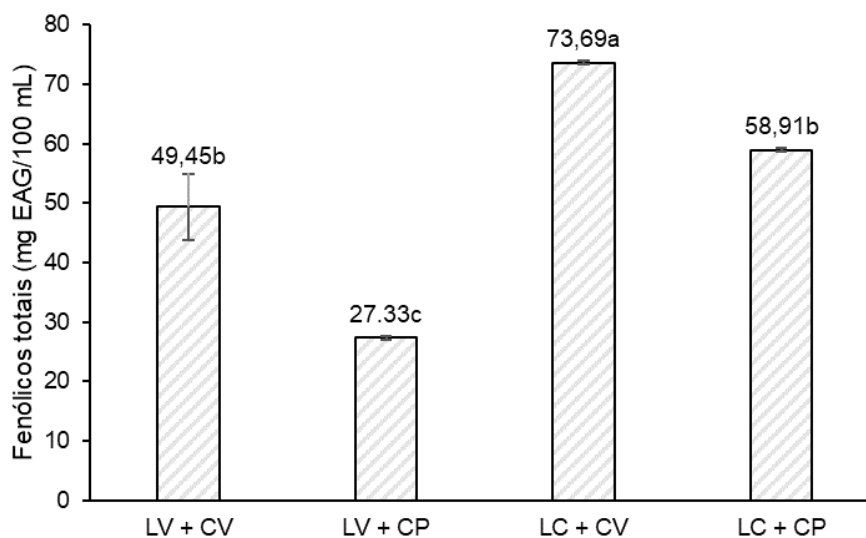
LV + CV- Leite de vaca e chá verde; LV + CP – Leite de vaca e chá preto; LC + CV – Leite de cabra e chá verde e LC + CP – Leite de cabra e chá preto. Amostras com diferentes letras são significativamente diferentes umas das outras a um nível de 95% de confiança.

**Fonte:** Própria (2023).

O perfil de atividade antioxidante frente ao radical DPPH apresentou similaridade ao perfil de fenólicos totais das bebidas fermentadas conforme pode ser observado na Figura 02, onde verifica-se que a bebida de leite caprino fermentada com chá verde apresentou a maior

concentração de compostos fenólicos (73,69 mg EAG/100 mL). Em geral, por ser submetido a processamento mais brando, o chá verde pode apresentar maior teor de fenólicos totais em relação ao chá preto. Logo, o inóculo proveniente deste chá irá transferir maiores quantidades destes compostos para a bebida fermentada além daqueles gerados durante a fermentação.

**Figura 02:** Teores de fenólicos totais presentes em amostras de iogurte obtidos com diferentes leites e inóculos de kombucha.



LV + CV - Leite de vaca e chá verde; LV + CP - Leite de vaca e chá preto; LC + CV - Leite de cabra e chá verde e LC + CP - Leite de cabra e chá preto. Amostras com diferentes letras são significativamente diferentes umas das outras a um nível de 95% de confiança.

**Fonte:** Própria (2023).

## CONCLUSÕES

As culturas de kombucha preparadas nos chás verde e preto apresentaram capacidade para fermentar lactose, sendo os processos fermentativos nos leites bovino e caprino conduzidos durante 8,5 a 24 horas. A partir da análise dos parâmetros físico-químicos das amostras verificou-se que houve uma maior extensão da proteólise nas bebidas fermentadas a partir do inóculo de chá verde evidenciada por maiores valores na acidez e do teor de proteínas. Além disso, os dados obtidos para os parâmetros colorimétricos serão particularmente úteis, em virtude da escassez dessas informações para bebidas lácteas fermentadas por kombucha. Verificou-se maior atividade antioxidante sobre o radical DPPH na bebida de leite caprino fermentada a partir do inóculo preparado com chá verde (0,507 mM Trolox/mL), sendo também o que apresentou o maior teor de compostos fenólicos (73,69 mg EAG/100 mL) em sua composição. Os resultados obtidos no presente estudo apresentam a utilização bem-sucedida de kombucha como cultura starter para fermentação de leites bovino e caprino. Sendo neste último

tipo de leite, obtido produto com boa atividade antioxidante configurando assim possibilidades para o desenvolvimento de novos produtos a partir de leite caprino, resultando em valorização desta matéria-prima.

## REFERÊNCIAS

ABREU, A. K. F.; SOUSA, K. S. M.; CARDOSO, R. C.; ARAÚJO, H. R. R.; COELHO, B. E. S. C.; SILVA, V. P. Elaboração de iogurte probiótico de leite de cabra adicionado de polpa de goiaba. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 6, n. 1, p.34-41, 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2005). Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea. Instrução Normativa n.16, de 23 de agosto de 2005. **Diário Oficial da União**.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2007). Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Instrução Normativa n.46, de 23 de outubro de 2007. **Diário Oficial da União**.

FU, C., YAN, F., CAO, Z., XIE, F., AND LIN, J. Antioxidant activities of kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotica during storage. **Food Sciences Technology-Brazil**, v. 34, 123-126, 2014.

GRANIER, A.; GOULET, O.; HOARAU, C. Fermentation products: immunological effects on human and animal models. **Pediatric research**, 74(2), 238-244, 2013.

HILL, D.; ROSS, R. P.; ARENDT, E.; STANTON, C. Microbiology of yogurt and bio-yogurts containing probiotics and prebiotics. In *Yogurt in health and disease prevention* (pp. 69-85). **Academic Press**. 2017.

HRNJEZ, D.; VAŠTAG, Ž.; MILANOVIĆ, S.; VUKIĆ, V., ILIČIĆ, M.; POPOVIĆ, L.; KANURIĆ, K. The biological activity of fermented dairy products obtained by kombucha and conventional starter cultures during storage. **Journal of functional foods v. 10, 336-345, 2014.**

ILICIC M.; KANURIĆ, K.; MILANOVIĆ, S.; LONČAR, E., DJURIĆ, M.; MALBAŠA, R. Lactose fermentation by Kombucha – a process to obtain new milk-based beverages. **Romanian Biotechnological Letters**, v. 17, No. 1, 2012.

ILIČIĆ, M. D.; MILANOVIĆ, S. D.; KANURIĆ, K. G.; VUKIĆ, V. R.; POPOVIĆ, S. S.; VUKIĆ, D. V. Content of sugar, organic acids and ethanol in fermented milk beverages obtained with different types of kombucha inoculum. **Acta Periodica Technologica**, (48), 109-116, 2017.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008, 1020 p.

KANURIĆ G. K.; MILANOVIĆ, S. D.; IKONIĆ B. B.; LONČAR E. S.; ILIČIĆ M. D.; VUKIĆ V. R.; VUKIĆ D. V- Kinetics of lactose fermentation in milk with kombucha starter. **Journal of Food and Drug Analysis**, Volume 26, Issue 4, p. 1229-1234, 2018.

MALBAŠA, R.; LONČAR, E.; MILANOVIĆ, S.; KOLAROV, L. A. Use of milk-based kombucha inoculum for milk fermentation. **Acta Periódica Tecnología**, 40, 1-220, 2009.

MALBAŠA, R., VITAS, J., LONČAR, E., GRAHOVAC, J., MILANOVIĆ, S. Optimisation of the antioxidante activity of kombucha fermented milk products. **Czech Journal of Food Sciences** 32 (5), 477-484, 2014.

MILANOVIĆ, S. D.; LONČAR, E. S.; ĐURIĆ, M. S.; MALBAŠA, R. V.; TEKIĆ, M. N.; ILIČIĆ, M. D.; DURAKOVIĆ, K. G. Low energy kombucha fermented milk-based beverages. **Acta Period Technol**, p. 39:37-46, 2008.

MIZUTA, A. G.; MENEZES, J. L.; DUTRA, T. V.; FERREIRA, T. V.; CASTRO, J. C.; SILVA, C. A. J.; ABREU FILHO, B. A. **Evaluation of antimicrobial activity of green tea kombucha at two fermentation time points against *Alicyclobacillus* spp.** LWT, v.130, 2020.

MOINEAU-JEAN, A.; CHAMPAGNE, C. P.; ROY, D.; RAYMOND, Y.; Y LAPOINTE, G. Effect of Greek-style yoghurt manufacturing processes on starter and probiotic bacteria populations during storage. **International Dairy Journal**, 93, 35-44, 2019.

MORAES, G. M. D.; SANTOS, K. M. O.; BARCELOS, S. C.; LOPRES, S. A.; EGITO, A. S. Potentially probiotic goat cheese produced with autochthonous adjunct culture of *Lactobacillus mucosae*: microbiological, physicochemical and sensory attributes. **LWT-Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 94, p. 57–63, 2018.

MORALES, D. Biological activities of kombucha beverages: The need of clinical evidence. **Trends in Food Science and Technology**, v. 105, p. 323-333, 2020.

NURLIYANI, INDRATININGSIH, WIDODO, A S SUKARNO, F SUCIATI. Characteristics of fermented goat milk using combination of kombucha and *Lactobacillus casei* starters. 2019, IOP Conf. Ser.: **Earth Environ. Sci.** 387 012077, 2019.

PECENIN, J. M.; CARNEIRO, G. B.; BADARÓ, A. C. L.; SARTOR, S.; BURGARDT, V. C. F.; CISLAGHI, F. P. C. Avaliação do perfil de consume de lácteos fermentados em Francisco Beltrão – PR. **7º Simpósio de Segurança Alimentar**, 2020.

PFRIMER, R. T. Desenvolvimento e avaliação de bebida láctea fermentada acrescida de leiteiro e saborizada com polpa de cagaita (*Eugenia dysenterica*). 91 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2018.

RANADHEERA, C. S., EVANS, C. A., BAINES, S. K., BALTHAZAR, C. F., CRUZ, A. G., ESMERINO, E. A. & VASILJEVIC, T. Probiotics in goat milk products: delivery capacity and ability to improve sensory attributes. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 18(4), 867-882, 2019.

SARKAYA, P.; AKAN, E.; KINIK, O. Use of kombucha culture in the production of fermented dairy beverages, **LWT**, v. 137, 2021.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 16, p. 144–158, 1965.

VITAS, J., MALBAŠA, R., GRAHOVAC, J., LONČAR, ES. The antioxidant activity of kombucha fermented milk products with stinging nettle and winter savory. **Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly**, v. 19, n. 1, p. 129-139, 2013.

WANG, H., SUN, X., SONG, X., GUO, M. Effects of kefir grains from different origins on proteolysis and volatile profile of goat milk kefir. **Food Chemistry**, 339, 128099, 2021.

WATAWANA, M. I., JAYAWARDENA, N., GUNAWARDHANA, C. B., & WAISUNDARA, V. Y. Health, Wellness, and Safety Aspects of the Consumption of Kombucha. **Journal of Chemistry**, v. 2.015, p. 1-11, 2015.

ZHANG, T., JEONG, C. H., CHENG, W. N., BAE, H., SEO, H. G., PETRIELLO, M. C., Y HAN, S. G. Moringa extract enhances the fermentative, textural, and bioactive properties of yogurt. **LWT**, 101, 276-284, 2019.