Food Science Today 3:1 (2024)
ISSN 2965-1190

RESEARCH ARTICLE

FOOD SCIENCE TODAY

Quantificação de compostos bioativos de kombucha de *Clitoria ternatea* L.

Quantification of bioactive compounds from *Clitoria ternatea* L. kombucha

Paula Juliana da Silva [a], Maycon Jonathan Brandt Gross [b], Marianne Ayumi Shirai [a*]

[a] Programa de Pós-graduação em Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 86036-370, Londrina, Paraná, Brasil.
[b] Departamento de Engenharia Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 86036-370, Londrina, Paraná, Brasil.

Resumo

A kombucha é uma bebida proveniente da fermentação de chá, açúcar e uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras (SCOBY). Dentre as matérias-primas para a produção de kombucha, as flores de *Clitoria ternatea* L. (CT) se destacam como substrato alternativo devido à concentração de antocianinas e propriedades antioxidantes. O objetivo deste trabalho foi preparar uma kombucha a partir do chá de flores de CT e quantificar os compostos fenólicos e a atividade antioxidante *in vitro*. Para obtenção da kombucha, preparou-se uma infusão das flores de CT com sacarose, SCOBY e kombucha previamente preparada. A determinação de polifenóis e atividade antioxidante foi realizada no chá (C) e nas kombuchas após 7 (K7) e 21 dias (K21) de fermentação através dos métodos FRAP, DPPH, ABTS e de fenólicos totais. Os resultados confirmaram que a kombucha apresentou atividade antioxidante significativamente superior à do chá inicial. O aumento no tempo de fermentação promoveu maior concentração de polifenóis e elevação da atividade antioxidante, atribuída à conversão de polifenóis em formas mais biodisponíveis ou bioativas do que os compostos fenólicos originais. Pode-se concluir que a *Clitoria ternatea* é um substrato viável para produção de kombucha, resultando em uma bebida funcional rica em compostos bioativos de grande relevância para a saúde.

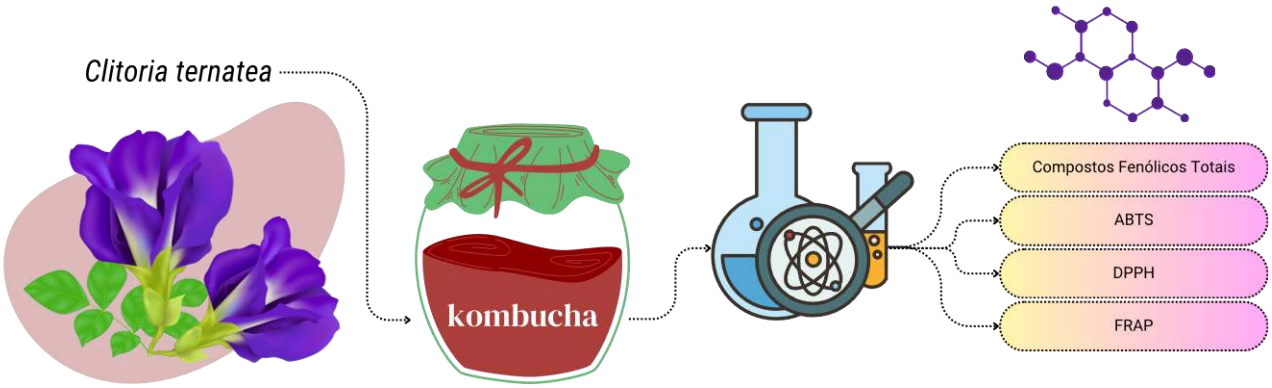
Palavras-chave: Compostos fenólicos. SCOBY. Antioxidantes. Fermentação. Bebidas. Chá. Flores.

Abstract

Kombucha is a beverage derived from the fermentation of tea, sugar, and a symbiotic culture of bacteria and yeast (SCOBY). Among the raw materials for kombucha production, the flowers of *Clitoria ternatea* L. (CT) stand out as an alternative substrate due to their high anthocyanin concentration and antioxidant properties. This study aimed to prepare kombucha from CT flower tea and quantify the phenolic compounds and antioxidant activity in vitro. To produce the kombucha, an infusion of CT flowers was prepared with sucrose, SCOBY, and previously fermented kombucha. The determination of polyphenols and antioxidant activity was conducted on the tea (C) and kombucha samples after 7 (K7) and 21 days (K21) of fermentation using the FRAP, DPPH, ABTS, and total phenolic methods. The results confirmed that the kombucha exhibited significantly higher antioxidant activity compared to the initial tea. The extended fermentation time led to a higher concentration of polyphenols and enhanced antioxidant activity, attributed to the conversion of polyphenols into more bioavailable or bioactive forms than the original phenolic compounds. It can be concluded that *Clitoria ternatea* is a viable substrate for kombucha production, resulting in a functional beverage rich in bioactive compounds of great relevance to health.

Keywords: Phenolic compounds. SCOBY. Antioxidants. Fermentation. Drinks. Tea. Flowers.

Graphical Abstract



*Corresponding author: Marianne A. Shirai. Email Address: marianneshirai@utfpr.edu.br
Submitted 14 December 2024; Accepted: 24 December 2024; Published: 26 December 2024.
© The Author(s) 2024. Open Access (CC BY 4.0).

ROYALDATASET

1. Introdução

A kombucha é uma bebida obtida pela fermentação de um chá adocicado, normalmente o chá verde ou chá preto, obtidos da planta *Camellia sinensis*. Essa fermentação se dá por ação de bactérias e leveduras adicionadas intencionalmente, conferindo um sabor agridoce e levemente gaseificado à bebida (Villarreal-Soto et al., 2018).

As bactérias responsáveis pela fermentação são várias, entre elas as bactérias ácido láticas e as acetobactérias, além das leveduras. Esses microrganismos agem em simbiose no meio e através do processo de respiração aeróbia e fermentação anaeróbia tornam a kombucha uma bebida de composição rica em substâncias com propriedades bioativas, como os compostos fenólicos, que representam um importante grupo de antioxidantes e são responsáveis pelos supostos benefícios à saúde. E ainda, ao longo do processo de fermentação da kombucha, forma-se um biofilme na superfície do líquido, esse biofilme é chamado de SCOBY (*Symbiotic Culture Of Bacteria And Yeast*), o qual é rico em celulose e microrganismos (Januário et al., 2020). A literatura relata que existe uma vasta variedade de microrganismos nas culturas de kombucha, que também podem ser cruciais no desenvolvimento e nas propriedades das bebidas (Almeida et al., 2024).

A planta *Clitoria ternatea* L. (CT), popularmente conhecida como feijão borboleta ou cunhã é uma leguminosa, nativa da Ásia. Suas flores azuis arroxeadas (ou roxo-azuladas) são usadas na medicina popular oriental como remédio caseiro para várias enfermidades, sendo o pigmento concentrado nas flores utilizado para colorir uma variedade de receitas alimentícias (Jeyaraj et al., 2021; Kushargina et al., 2024).

Os compostos fenólicos são substâncias presentes em diversas plantas e fazem parte da classe dos compostos bioativos. Eles regulam a estrutura e função das plantas, agindo em favor de seu crescimento e desenvolvem os pigmentos que dão coloração às elas. Nos seres humanos, eles podem atuar como antioxidantes. Sua estrutura básica é composta de um anel aromático ligado a uma hidroxila e um esqueleto carbônico. De acordo com a posição de grupamentos hidroxila, originam-se os flavonoides, ácidos fenólicos simples, ácidos fenólicos e tocoferóis. No grupo dos flavonoides, que são considerados um dos grandes grupos de antioxidantes naturais, estão inclusas as antocianidinas responsáveis pela coloração azulada e que estão presentes de forma significativa nas flores da planta CT (Silva et al., 2021).

Conforme Jayabalan et al. (2014), as diversas variedades e quantidades de substratos usados na obtenção da kombucha resultam em bebidas com composições químicas e atividades biológicas variadas. E ainda, o tempo de fermentação, a composição da cultura de kombucha, a concentração dos substratos e o tipo de açúcar utilizado também podem afetar as características do produto final. Então, se faz necessário o estudo de kombuchas produzidas com novos substratos, pois eles podem melhorar as características da bebida. Assim, o presente trabalho teve como objetivo preparar uma kombucha com as flores da planta *Clitoria ternatea* e quantificar os compostos fenólicos e a atividade antioxidante *in vitro*.

2. Material e Métodos

Para obtenção da kombucha, adotou-se os procedimentos de acordo com Jayabalan et al. (2008), com algumas adaptações. Inicialmente preparou-se uma infusão das flores secas de CT (5 g/L), em seguida adicionou-se sacarose (50 g/L), SCOBY (4%, m/v) e kombucha previamente preparada (10%, v/v). A mistura foi fermentada em frasco de vidro coberto com um pano a temperatura ambiente (**Fig. 1**). A determinação de polifenóis e atividade antioxidante foi realizada no chá (C) antes do processo de fermentação e nas kombuchas após 7 (K7) e 21 dias (K21) de fermentação.



Fig. 1 Kombuchas de infusão de flor de *Clitoria ternatea* após 7 e 21 dias de fermentação

A capacidade antioxidante foi analisada pelo método de redução do ferro (FRAP) de acordo com Rufino et al. (2006), com modificações, e captura dos radicais ABTS (Rufino et al., 2007a) e DPPH (Rufino et al., 2007b). Os resultados foram expressos em mM Trolox equivalente por mL de kombucha. Já a concentração de compostos fenólicos totais foi determinada pelo método Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965) e os resultados expressos em µg EAG por mL de kombucha.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre as médias identificadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando-se o software Statistica® 14.0 (TIBCO Software Inc.).

3. Resultados e Discussão

Na **Tabela 1** estão expressos os resultados de atividade antioxidante e polifenóis do chá e da kombucha de CT durante 7 e 21 dias de fermentação. No caso da quantificação de antioxidantes, observou-se uma significativa variação entre os diferentes tempos de fermentação em relação ao chá.

Tabela 1 Compostos fenólicos totais (CFT) e capacidade antioxidante do chá e kombucha de *Clitoria ternatea*

Amostra	CFT (µg EAG/mL)	FRAP (mM Trolox/mL)	DPPH (mM Trolox/mL)	ABTS (mM Trolox/mL)
C	20 ± 0,1^{a}	255,69 ± 3,91^{a}	258,66 ± 5,78^{a}	278,61 ± 4,81^{b}
K7	20 ± 0,1^{a}	490,30 ± 3,45^{b}	600,66 ± 8,89^{b}	194,16 ± 11,11^{a}
K21	100 ± 0,1^{b}	512,23 ± 3,80^{b}	580,00 ± 2,67^{b}	399,72 ± 7,03^{c}

C, Chá; K7, kombucha 7 dias; K21, kombucha 21 dias. Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

De acordo com a **Tabela 1**, os compostos fenólicos apresentaram aumento significativo apenas após 21 dias de fermentação. No trabalho de Perioto et al. (2022), a maior concentração de compostos fenólicos foi constatada no tempo de

35 dias de fermentação, com concentração de 0,374 g/L, representando uma alta de 9,6 % em relação ao chá inicial. Isso indica que o tempo foi fundamental para o aumento dos fenólicos. No trabalho de Cardoso et al. (2020), os autores avaliaram kombucha de chá verde e chá preto com dez dias de fermentação. O chá preto obteve um valor de 1,09 mg EAG/mL e o chá verde 0,70 mg EAG/mL, elucidando que o substrato faz diferença no produto final. Segundo os autores, o aumento na concentração de fenólicos totais pode ser explicado pela maior variedade e abundância de classes de compostos fenólicos no chá preto do que no verde.

Para o método FRAP, com sete dias de fermentação, houve um aumento dos antioxidantes que se manteve relativamente estável nos 21 dias. Estatisticamente, não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre esses dois tempos. No entanto, quando comparados ao chá inicial, o aumento foi significativo. No trabalho de Jayabalan et al. (2014), foi observado que a kombucha teve maior atividade antioxidante do que o chá e isso pode ocorrer devido à produção de componentes de baixo peso molecular e alterações nas estruturas dos polifenóis do chá, sendo causadas por enzimas produzidas pelas bactérias e leveduras durante a fermentação. Em um trabalho sobre kombucha de chá de videira com resíduos de chá, Saimaiti et al. (2022) relataram que os valores de FRAP aumentaram inicialmente com o prolongamento do tempo de fermentação, atingindo o pico no sexto dia, seguido por uma redução. Por outro lado, na amostra de kombucha de chá de videira sem resíduos de chá, os valores de FRAP permaneceram praticamente estáveis até o nono dia, quando começaram a diminuir, mostrando que o comportamento da atividade antioxidante é variável conforme vários fatores, incluindo as matérias-primas.

Similarmente ao ocorrido na técnica de FRAP, para o método DPPH ocorreu um aumento significativo ($p<0,05$) dos antioxidantes entre o chá inicial e a amostra K7. Entretanto, não houve diferença significativa entre os dois tempos de fermentação (K7 e K21). No trabalho de Januário et al. (2020), os autores analisaram as melhores condições de preparo da kombucha de hibisco para se obter maior teor de antioxidante pelo método DPPH. Eles analisaram a relação entre a quantidade de SCOBY, tempo de fermentação e a temperatura e constataram que a melhor resposta foi com menor quantidade de SCOBY e o menor tempo. Assim, a melhor formulação levando em conta o teor antioxidante foi um tempo de 2 dias, uma temperatura de 18ºC e quantidade de SCOBY de 10 g/L. Os autores sugerem ainda que, quanto maior a quantidade de SCOBY, a solução fica mais saturada pelos possíveis produtos da fermentação, interferindo negativamente na ação antioxidante do chá. Isso corrobora com a premissa de que vários fatores contribuem para a quantidade de antioxidantes na kombucha.

Pelo método ABTS, o resultado mais expressivo foi observado aos 21 dias de fermentação, com diferença significativa tanto em relação ao chá inicial, quanto ao sétimo dia de fermentação. Na pesquisa de Cardoso et al. (2020), ao avaliarem kombuchas com dez dias de fermentação, os autores constataram o valor máximo de 13,59 µmol TE/mL. Eles sugerem que a concentração e composição de antioxidantes na kombucha se dá por uma variedade de metabólitos produzidos durante a fermentação, como ácido ascórbico e outros ácidos orgânicos, e todos podem alterar a capacidade antioxidante.

Ainda, de acordo com Dada et al. (2021), a fermentação do chá colabora com o aumento da atividade antioxidante, pois as bactérias alteram a sua estrutura e produzem compostos bioativos, como os polifenóis, então, o tempo e a composição do substrato são os fatores determinantes para a composição da bebida final. Mesmo com discussões na literatura acerca da origem da atividade antioxidante na kombucha, estudos comprovam a sua presença, então, a bebida pode ser julgada como contendo propriedades benéficas à saúde.

4. Conclusão

No geral, pode-se concluir que o chá de flor de *Clitoria ternatea* é um substrato alternativo viável para produção de kombucha com significativas quantidade de compostos bioativos. Os valores obtidos comparados com outras literaturas, indicam uma diversidade significativa de fatores durante a produção da kombucha que interferem na composição desses compostos no produto final. Novas pesquisas mais aprofundadas devem ser desenvolvidas a fim de elucidar quais substâncias ou metabólitos produzidos durante a fermentação causam essas variações, especificamente na kombucha de CT, uma vez que esse substrato ainda é tão pouco estudado.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer à Fundação Araucária e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro e ao Laboratório Multiusuário do Campus Londrina da Universidade Tecnológica Federal do Paraná pelas análises realizadas.

Contribuições dos Autores

P.J.S.: Investigação, Escrita – Rascunho Original; M.J.B.G.: Visualização, Redação - Preparação do Rascunho Original; M.A.S.: Conceitualização, Redação - Revisão e Edição, Supervisão, Administração de Projetos. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

Disponibilidade de dados e materiais

Todos os dados e materiais que dão suporte aos resultados deste trabalho serão disponibilizados pelos autores quando solicitado.

Conflitos de Interesse

Os autores declaram que não têm interesses conflitantes.

Referências

Almeida, A. da R., Stegemann, C., Maciel, M. V. O. B., Costa, A. de B. da, Schadeck, T. R. C., Medeiros, H. de S., Stegemann, M., & De Armas, R. D. (2024). Produção de celulose bacteriana (CB) em diferentes meios a partir de culturas de kombucha. *Food Science Today*, *3*(1), 20–25. https://doi.org/10.58951/fstoday.2024.004

Cardoso, R. R., Oliveira Neto, R., D'Almeida, C. T. dos S., Nascimento, T. P. do, Pressete, C. G., Azevedo, L., Martino, H. S. D., Cameron, L. C., Ferreira, M. S. L., & Barros, F. A. R. de. (2020). Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*, *128*, 108782. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108782

Dada, A. P., Lazzari, A., Cestário, A. C. de O., Silva, D. S. da, Saraiva, B. R., Rosa, C. I. L. F., & Matumoto-Pintro, P. T. (2021). Caracterização de kombucha elaborado a partir de chá verde. *Research, Society and Development*, *10*(15), e576101522992. https://doi.org/10.33448/rsd-v10i15.22992

Januário, J. B., Moreira, B. R., Paraiso, C. M., Mizuta, A. G., & Madrona, G. S. (2020). Kombucha à base de *Hibiscus sabdariffa* L: avaliação tecnológica para produção de uma nova bebida. *Brazilian Journal of Development*, *6*(1), 3720–3732. https://doi.org/10.34117/bjdv6n1-264

Jayabalan, R., Subathradevi, P., Marimuthu, S., Sathishkumar, M., & Swaminathan, K. (2008). Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chemistry*, *109*(1), 227–234. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.037

Jayabalan, Rasu, Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & 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*, *13*(4), 538–550. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073

Jeyaraj, E. J., Lim, Y. Y., & Choo, W. S. (2021). Extraction methods of butterfly pea (*Clitoria ternatea*) flower and biological activities of its phytochemicals. *Journal of Food Science and Technology*, *58*(6), 2054–2067. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04745-3

Kushargina, R., Rimbawan, R., Dewi, M., & Damayanthi, E. (2024). Metagenomic analysis, safety aspects, and antioxidant potential of kombucha beverage produced from telang flower (*Clitoria ternatea* L.) tea. *Food Bioscience*, *59*, 104013. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104013

Perioto, C. Z., Brandão, É. C. T. dos A., Moreira, J. de M., Prado, A. A. O. S., Leite Neta, M. T. S., & Narain, N. (2022). Potencial antioxidante e caracterização físico-química e microbiológica do kombucha / Antioxidant potential and physicochemical and microbiological characterization of kombucha. *Brazilian Journal of Development*, *8*(1), 739–751. https://doi.org/10.34117/bjdv8n1-049

Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Morais, S. M., Sampaio, C. G., Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. D. (2006). Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). *Embrapa Agroindústria Tropical*, 125, Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/664098>.

Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Morais, S. M., Sampaio, C. G., Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. D. (2007a). Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. *Embrapa Agroindústria Tropical*, 127, Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/426953>.

Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Morais, S. M., Sampaio, C. G., Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. D. (2007b). Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS+. *Embrapa Agroindústria Tropical*, 128, Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/426954>.

Saimaiti, A., Huang, S. Y., Xiong, R. G., Wu, S. X., Zhou, D. D., Yang, Z. J., Luo, M., Gan, R. Y., & Li, H. Bin. (2022). Antioxidant capacities and polyphenol contents of kombucha beverages based on vine tea and sweet tea. *Antioxidants*, *11*(9), 1655. https://doi.org/10.3390/antiox11091655

Silva, G. F. A. da, Santos, L. G. dos, Gomes, B. M., & Martins, V. G. (2021). Clitoria ternatea: Avaliação do tempo de extração de compostos fenólicos obtidos pela técnica assistida por ultrassom. *Revista Brasileira de Agrotecnologia*, *11*(2), 990–994. https://doi.org/10.18378/REBAGRO.V12I2.8940

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144–158. https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144

Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. P., & Taillandier, P. (2018). Understanding kombucha tea fermentation: A review. *Journal of Food Science*, *83*(3), 580–588. https://doi.org/10.1111/1750-3841.14068

FOOD SCIENCE TODAY

journals.royaldataset.com/fst