

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO
TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

Cristina Maldaner Blauth

KOMBUCHA: tecnologia de produção e composição

Porto Alegre

2019

Cristina Maldaner Blauth

KOMBUCHA: tecnologia de produção e composição

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado ao Departamento de Nutrição da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Tecnologia em Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Graziela Bruschi Brinques

Coorientadora: Prof^a. Vivian Caetano Bochi

Porto Alegre

2019

Cristina Maldaner Blauth

KOMBUCHA: tecnologia de produção e composição

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado ao Departamento de Nutrição da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Tecnologia em Alimentos.

Data da aprovação: ___/___/___

Orientadora: Prof^a. Graziela Bruschi Brinques
Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Manuela Poletto Klein, Dr^a
Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Juliano Garavaglia, Dr.
Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Graziela, por toda ajuda, empenho e suporte que precisei, desde o dia da pimenta até chegarmos aqui. À minha coorientadora Vivian, por colaborar com seu conhecimento e muita dedicação. Sou grata por ambas estarem envolvidas na elaboração deste trabalho, vocês o tornaram uma realidade. Aos meus pais Paulo e Rosani, pelo amor, carinho e incentivo durante esses anos. Sem o apoio incondicional de vocês eu não teria conseguido. Devo muito desta conquista a vocês. Ao meu amor João Francisco, que foi compreensivo e paciente nos momentos de estresse e em que estive distante ou ausente. Por me fazer feliz e por todas as vezes que me fez esquecer todas as complicações e problemas da vida, para criar memórias e aproveitar momentos bons. Aos meus colegas e amigos, pelas risadas e desabafos, que fizeram esta jornada mais leve.

RESUMO

A kombucha está se popularizando por suas propriedades de saudabilidade empíricas e devido ao conhecimento dos consumidores sobre o papel biológico de componentes alimentares de sua dieta. A bebida vem sendo estudada por essas propriedades que dependem da sua composição química e microbiológica. Diferentes condições e parâmetros de fermentação influenciam nestas composições e contribuem para as características finais da bebida, bem como para sua segurança. Sendo assim, o presente trabalho trata-se de uma revisão de literatura cujo objetivo foi reunir informações em produções científicas de pesquisa e revisão acerca da produção de kombucha, utilização de substratos convencionais e não convencionais, alternativas de fontes de carbono, cinética de sua fermentação, composição química e microbiológica. Foram revisadas 59 publicações de periódicos nacionais e internacionais em língua inglesa, no período de 1994 a 2019. As produções foram obtidas nas bases de dados Scopus, Scielo e PubMed. Este estudo permitiu observar fatores determinantes ao processo de fermentação da bebida kombucha que acarretam modificações diversas em sua composição química e microbiológica, como a utilização de diferentes açúcares e concentrações, que podem induzir a produção de metabólitos de interesse, alterando a bebida kombucha sensorialmente ou ser um composto bioativo. Infusões e substratos não convencionais são aplicados na fermentação do SCOBY para a produção de novas bebidas agradáveis ao paladar com potencial profilático, para aumentar as propriedades antioxidantes destes substratos, além de melhorar a aceitação de bebidas sem apelo sensorial. Tempo, temperatura e tamanho do biorreator de fermentação influenciam na presença e atividade de microrganismos do SCOBY. Apesar do crescente interesse na kombucha, ainda são necessários mais estudos, principalmente envolvendo humanos, que corroborem com a hipótese da kombucha ser uma bebida funcional. Dificuldades de reprodução de formulações e de padronização de produto podem ser contornadas com maior conhecimento e controle dos processos fermentativos. Ainda há espaço e necessidade de explorar a bebida kombucha e as muitas possibilidades envolvidas em seu processo.

Palavras-chave: Kombucha. Fermentação. SCOBY. Tecnologia de produção. Substrato. Fonte de carbono. Composição química. Composição microbiológica.

ABSTRACT

The kombucha tea is becoming popular by its empirical health properties and by the consumers knowledge regarding their dietary component's biological role. The beverage is being studied for its properties which depend on its chemical and microbiological compositions. Different fermentation parameters and conditions weigh on these compositions and contribute to the beverage's characteristics, as well as its safety. Therefore, the aim of this study is to review information from research and review productions regarding the kombucha tea production, the utilization of conventional and non-conventional substrates, alternative carbon sources, fermentation kinetics, chemical and microbiological composition. Fifty-nine publications were reviewed, from national and international journals, in Portuguese and English, from 1994 to 2019. The articles were obtained from Scopus, Scielo e PubMed databases. This study allowed to observe the determinant factors regarding the fermentation process of the kombucha beverage, that imply on diversified modifications in its chemical and microbiological composition, such as the use of different sugar and its concentration, which can induce the production of a metabolite of interest that may change the kombucha tea sensorially or may be a bioactive compound. Non-conventional infusions and substrates were used in the SCOBY fermentation to produce new and pleasant beverages with prophylactic potential, to enhance the substrate's antioxidant properties, and to obtain better acceptability of beverages with no sensory appeal. Time, temperature and size of the bioreactor used for the fermentation influenced on the activity and even on the presence of some microorganisms. Although the growing interest on the kombucha tea and number of research involving it, more human-involved studies are necessary to corroborate with the functional claim hypothesis for the kombucha tea. Formulation reproduction and product standardization difficulties can be overcome with more knowledge and control over the fermentative processes. There is still room and need to explore the kombucha beverage and the many possibilities involved in its process.

Keywords: Kombucha. Fermentation. SCOBY. Production technology. Substrate. Carbon source. Chemical composition. Microbiological composition.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	OBJETIVOS	11
2.1	OBJETIVO GERAL	11
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3	MATERIAIS E MÉTODOS	12
4	REVISÃO DA LITERATURA.....	13
4.1	KOMBUCHA.....	13
4.1.1	CONCEITO E HISTÓRIA	13
4.1.2	INGREDIENTES EMPREGADOS NA PRODUÇÃO DE KOMBUCHA.....	14
4.1.2.1	CHÁS E OUTRAS INFUSÕES.....	14
4.1.2.2	AÇÚCARES E OUTRAS FONTES DE CARBONO.....	17
4.1.2.3	OUTROS SUBSTRATOS.....	19
4.1.2.4	SCOPY E MICROBIOLOGIA.....	22
4.1.3	TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO.....	26
4.1.3.1	FERMENTAÇÃO	29
4.1.4	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA KOMBUCHA	32
4.1.5	IMPACTOS NA SAÚDE.....	38
5	DISCUSSÃO.....	42
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	45
7	REFERÊNCIAS.....	47

1 INTRODUÇÃO

A busca dos consumidores por um estilo de vida saudável é um padrão comportamental já amplamente relatado em pesquisas de mercado (Specialty Food Association; Kroger; Food Navigator USA; Whole Foods; Innova Market Insights, 2018). Esse comportamento é em parte impulsionado pelo conhecimento de que as doenças crônicas não transmissíveis, como câncer e problemas cardiovasculares estão entre as principais causas de mortalidade mundial (HARRIS, 2019). Nesse cenário, o conhecimento do papel de componentes alimentares e da adoção dos padrões alimentares tem impulsionado pesquisa nas áreas de bioquímica, ciência e tecnologia de alimentos. Essa última área em especial alia os conhecimentos tecnológicos, químicos e bioquímicos no desenvolvimento de alternativas de processamento que atendam exigências de mercado (Innova Market Insights, 2018). Segundo essas mesmas pesquisas, as decisões tomadas pelos consumidores estão ligadas a saudabilidade e a conveniência de produtos alimentares. A kombucha, bebida fermentada a base de chá e de origem chinesa, é um dos produtos que se enquadram nessas características. No entanto, existem poucos trabalhos que reúnem resultados de pesquisa e evidências com comprovação científica acerca das tecnologias de produção adequadas e suas consequências sobre a composição química dessa bebida.

A kombucha é uma bebida produzida por uma técnica de fermentação tradicional envolvendo a fermentação de chá preto adoçado por uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras (SCOBY – *symbiotic culture of bacteria and yeast*) (JAYABALAN et al., 2014). O principal substrato utilizado para esta fermentação é o chá preto, que por si já é muito conhecido e estudado por suas propriedades profiláticas. O chá (*Camellia sinensis*) é a bebida industrializada mais consumida no mundo (*Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO*, 2018), e o aumento do seu consumo é esperado na próxima década devido ao crescente conhecimento sobre os seus efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes e no auxílio da redução de peso, segundo a FAO (2018). O chá possui um papel muito importante na produção da kombucha não só ao suprir muitas das necessidades nutricionais dos microrganismos, mas também por contribuir diretamente para o conteúdo de compostos bioativos da bebida. A atividade fermentativa dos microrganismos modifica a composição química da bebida e,

consequentemente, aumenta as atividades profiláticas destes compostos. Esse fenômeno foi estudado em modelos experimentais *in vitro* e com animais. Além deste efeito, os microrganismos também são capazes de produzir esses compostos em suas vias metabólicas. É pelo fato destas atividades microbianas causarem modificações positivas nos compostos bioativos do substrato que, além da utilização do chá, outras possibilidades de infusões e substratos não convencionais, que já possuem propriedades bioativas estão sendo testadas e avaliadas. Além disso, a fermentação também vem sendo utilizada como meio de melhorar atributos sensoriais de bebidas (AYED; HAMDI, 2015; AYED; ABID; HAMDI, 2016; TU et al., 2019; XIA et al., 2019).

A utilização de outros substratos para a fermentação da kombucha não é o único fator determinante para a composição química e para as características sensoriais da bebida. Outros fatores muito importantes são os parâmetros referentes à tecnologia de produção da bebida. Segundo Lončar et al. (2006) diversos parâmetros afetam a qualidade final da bebida, dentre eles o tempo, a temperatura e a concentração inicial do inóculo estão entre os parâmetros de maior impacto na fermentação. Variações na produção da kombucha também se estendem à escolha da fonte de carbono (açúcar) e a sua concentração. Considerando que a tecnologia de produção de kombucha possibilita uma grande variabilidade de procedimentos para a sua produção e que alguns desses aspectos já foram estudados na literatura, a revisão do tema é relevante para auxiliar no entendimento da influência desses parâmetros sobre a qualidade e composição final da bebida. Essas informações irão colaborar para aumentar a padronização de técnicas de produção com controle de qualidade, assim como, fomentar o desenvolvimento de pesquisas para relativas a comprovações de alegações de saudabilidade atribuídas à kombucha.

No Brasil, a divulgação de informações empíricas por meio da internet popularizam a bebida e os benefícios à saúde com pouca ou nenhuma comprovação científica. Além disso, é divulgada uma relativa facilidade para a produção caseira da kombucha, sem a necessidade de equipamentos ou instrumentos específicos, apenas o acesso à um inóculo do SCOBY. Contudo, essas informações demonstram o desconhecimento acerca das possibilidades de modificação da microbiota envolvida e da dinâmica de fermentação. Também, as

produções caseiras são conduzidas, na maioria das vezes, por indivíduos sem os conhecimentos necessários para garantir a segurança da bebida e sobre os riscos envolvidos no seu consumo de produtos elaborados em condições inadequadas. Esses fatos evidenciam a importância na análise de dados e informações disponíveis na literatura científica, assim como, a divulgação do conhecimento com conteúdo adequado.

Sendo assim, este estudo tem como objetivo reunir informações de trabalhos já realizados sobre o processo de produção e composição da kombucha. Quanto a tecnologia de produção, serão abordados os principais substratos, os parâmetros que influenciam o processo de fermentação e a sua relação com a composição microbiológica e química da bebida. Além disso, serão abordadas informações já relatadas na literatura sobre possíveis benefícios relacionados ao consumo de kombucha na promoção da saúde.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Reunir informações existentes acerca da tecnologia de produção da kombucha e sua composição química e microbiológica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para que o objetivo geral fosse alcançado, foram reunidas produções científicas abordando:

- Substratos não convencionais;
- Parâmetros que influenciam no processo de fermentação e;
- Sua relação com composição química e microbiológica da kombucha;
- Potencial saudabilidade relacionada ao consumo da kombucha.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo trata-se de uma revisão bibliográfica narrativa sobre a tecnologia de produção, composição química e microbiológica da kombucha. As produções científicas foram buscadas nas bases de dados: SCOPUS, Scielo e PubMed, utilizando os descritores “kombucha”, “*fermentation*”, “*chemical composition*” e “*microbiological composition*”, utilizando do operador Booleano “and” para restringir a pesquisa. As buscas abrangeram apenas produções de pesquisa e revisão do ano de 1994 a 2019. Para a inclusão do trabalho científico foi feita a leitura dos resumos individualmente e, ao final, foram incluídas 59 produções em língua inglesa que abrangiam o conteúdo buscado para a elaboração desta revisão narrativa.

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1 KOMBUCHA

4.1.1 CONCEITO E HISTÓRIA

A kombucha é uma bebida refrescante levemente adoçada e ácida (CHEN; LIU, 2000) obtida a partir da fermentação de chá adoçado pela ação de um biofilme formado pela associação simbiótica de bactérias e leveduras. Uma película celulósica e o caldo líquido acidificado formam as duas partes da kombucha (JAYABALAN et al., 2014). Conforme a fermentação é conduzida, a kombucha pode possuir concentrações de etanol (CHEN; LIU, 2000; GAGGIÀ et al., 2018; RAHMANI et al., 2019) que, dependendo dos níveis ao final da produção, a enquadraria como bebida alcoólica (MAPA, 2019). Outros nomes são dados para a kombucha como *Eastern tea*, *Fungus japonicus*, *olinca*, *Pichia fermentans*, *Cembuya orientalist*, *Combuchu*, *Tschambucco*, *Volga spring*, *Mo-Gu*, *Champignon de longue vie*, *Teekwass*, *Kwassan*, e *Kargasok tea*, segundo trabalho de Dutta e Paul (2019).

Esta bebida fermentada é consumida em diversos lugares ao redor do mundo. Sua origem se deu no nordeste da China onde foi valorizada por suas supostas propriedades desintoxicantes e energizantes. Por volta de 220 a.C., e foi nomeada como o divino “*Ling-tche*” ou “*Che*”. Em 414 d.C. a bebida foi levada para o Japão por um médico coreano chamado Kombu, para curar os problemas digestivos do rei japonês Ikyo, originando então o nome kombucha no Japão (DUTTA; PAUL, 2019). Na mesma época a kombucha foi introduzida na Europa e, depois da Segunda Guerra Mundial, seu consumo se popularizou (JAYABALAN et al., 2014). Em alguns países das regiões da Ásia, onde acredita-se que possa ser originária, existem crenças etno-religiosas e tabus associados com a bebida e o SCOBY. A bebida era frequentemente preparada em locais ou casas religiosas, os quais eram necessariamente mantidos limpos e assim tendo menores riscos de contaminação. Essa prática fez com que a produção da kombucha passasse a ser considerada “divina” e a venda do SCOBY um ato profano, o qual e passou a ser distribuído entre as famílias como um presente (DUTTA; PAUL, 2019).

No Brasil, não existem registros de dados de consumo e produção disponíveis. No entanto, a produção industrial e comercialização da bebida é uma realidade nacional e, para tanto, recentemente foi publicado pelo Ministério da Agricultura,

Pecuária e Abastecimento (MAPA), a Instrução Normativa n° 41, de 17 de setembro de 2019 que estabelece o Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) da kombucha. Este documento define a kombucha como “a bebida fermentada obtida através da respiração aeróbia e fermentação anaeróbia do mosto obtido pela infusão ou extrato de *Camellia sinensis* e açúcares por cultura simbiótica de bactérias e leveduras microbiologicamente ativas (SCOBY)” (MAPA, 2019). Por esta mesma legislação, é limitada a graduação alcoólica de 0,5% (v/v) para alegações de kombucha “sem álcool”, e de 0,6 a 8,0% para a kombucha alcoólica. Para a alegação de kombucha “zero álcool”, o produto pode conter até no máximo 0,05% de álcool.

4.1.2 INGREDIENTES EMPREGADOS NA PRODUÇÃO DE KOMBUCHA

No recém estabelecido PIQ da kombucha, são citados como ingredientes obrigatórios: água potável; infusão ou extrato aquoso de *Camellia sinensis*; açúcares; a cultura de bactérias e leveduras adequadas para fermentação alcoólica e acética, desde que garantida a sua inocuidade à saúde humana. Além destes, ingredientes opcionais também são citados como permitidos para utilização na produção da kombucha, como a infusão de espécies vegetais em água, ou seus extratos; frutas; vegetais; especiarias; mel, melado e outros açúcares de origem vegetal; gás carbônico industrialmente puro. Ainda, segundo a legislação, só poderão ser adicionadas fibras, vitaminas, sais minerais, outros nutrientes, aditivos aromatizantes naturais e corantes naturais em kombucha não alcoólica (MAPA, 2019).

Para que ocorra o processo fermentativo e a consequente produção da kombucha, precisa-se suprir as necessidades nutricionais dos microrganismos presentes no SCOBY. Apesar de diversificados, eles utilizam nutrientes simples em suas vias metabólicas, como a água, oxigênio, carbono, nitrogênio e alguns elementos minerais. A seguir serão apresentados os principais ingredientes empregados na produção de kombucha, bem como outras alternativas não convencionais estudadas.

4.1.2.1 CHÁS E OUTRAS INFUSÕES

O chá, ou outra infusão utilizada, possui um papel muito importante na produção da kombucha. Proporciona muitos dos componentes requeridos pelos

microrganismos para seu crescimento, como compostos de nitrogênio, carboidratos e vitaminas. Ainda, é de grande influência nas características sensoriais do produto após a fermentação.

Os componentes do grupo das purinas presentes no chá, a cafeína e teofilina, são necessárias para os microrganismos para a produção de ácidos nucleicos e também são utilizadas como fonte de nitrogênio (HOFFMANN, 1998). Em geral, chá preto e açúcar refinado são os substratos utilizados para a preparação da kombucha. Além disso, a utilização do chá verde está se tornando popular devido aos benefícios relacionados aos polifenóis presente nele (JAYABALAN; MALBAŠA; SATHISHKUMAR, 2016).

O chá é a infusão obtida pela escalda de folhas de chá (*Camellia sinensis*), verdes (chá verde) ou fermentadas (chá preto) (VENTURINI FILHO, 2010). É no seu processamento que as principais alterações químicas acontecem. No chá preto, apesar de ser chamada de etapa de fermentação, as reações que determinam o seu escurecimento são as de oxidação enzimática (OWUOR, 2003). Esse chá é considerado o mais antigo medicamento herbal que se tem conhecimento, popular por suas propriedades estimulantes e desintoxicantes. A disponibilidade do chá, suas variadas formas e a sua contribuição para o bem-estar físico e mental são as chaves para a popularidade e a aceitação global da bebida, fazendo do chá a bebida industrializada mais consumida no mundo (DUTTA; PAUL, 2019). O chá verde se difere do chá preto tanto química quanto tecnologicamente. No seu processo de obtenção não há a etapa de oxidação como no chá preto, e a atividade enzimática das folhas é inibida mediante um tratamento térmico, com vapor ou calor seco o mais breve possível após sua coleta. Deste modo, as características do chá verde são determinadas, principalmente pela composição intrínseca das folhas no momento da coleta (VARNAM; SUTHERLAND, 1994).

Atualmente, a preparação da kombucha não está mais limitada à utilização de chá preto ou verde, apenas. Segundo Dutta e Paul (2019), qualquer extrato de planta comestível misturado com a quantidade certa de açúcar pode ser utilizado para o preparo da kombucha, desde que seus constituintes não venham a afetar ou inibir o crescimento do SCOBY (VITAS et al., 2013). Sendo assim, é possível utilizar o SCOBY para fermentar uma grande variedade de infusões, desde folhas de ervas a frutas secas, obtendo-se produtos diversificados e agradáveis ao paladar.

Rahmani et al. (2019) utilizaram folhas secas de *Brassica tournefortii* (mostarda africana) como infusão para receber o SCOBY, e foi identificado que a infusão teve suas atividades antioxidantes aumentadas ao passar pela fermentação. Além disso, foi observado que a cinética de consumo da sacarose, formação de etanol e ácido acético durante a fermentação da kombucha feita a partir da infusão de mostarda africana é muito similar comparado à feita de maneira tradicional com chá preto. Assim, os autores puderam concluir que a cultura de bactérias e de leveduras se adaptou ao novo meio, não sofrendo grandes alterações na sua população ao longo dos cultivos, fazendo com que a infusão com as folhas de mostarda africana seja uma alternativa para ser utilizada na fermentação e produção da bebida.

A infusão obtida de folhas de rooibos (*Aspalathus linearis*) foi utilizada por Gaggia et al. (2018) para fazer a kombucha e comparar com as feitas a partir de chá verde e chá preto quanto à biodiversidade microbiana, polifenóis totais, flavonoides e atividade antioxidante. Os autores observaram uma concentração mais baixa de etanol e ácido acético na kombucha de rooibos (KR), o que pode resultar em um produto com sabor mais suave e agradável. A atividade antioxidante da KR se mostrou baixa nos ensaios com DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazil) e de poder de redução de metais, pelo fato do rooibos não ser uma fonte de catequinas.

O estudo realizado por Velićanski, Cvetković e Markov (2013) para testar a possibilidade de se obter kombucha a partir de ervas medicinais, utilizou as infusões de erva-cidreira (*Melissa officinalis* L.), tomilho selvagem (*Thymus serpyllum* L.), sálvia-comum (*Salvia officinalis* L.), hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) e amostra controle de chá preto. Para fazer as infusões, utilizaram 0,5; 0,5; 0,5; 0,6 e 0,2% (m/V) das folhas, em água adoçada (7% m/V). As fermentações se passaram em biorreatores pequenos (0,72 L, 8 cm de diâmetro) e biorreatores tradicionais (5 L, 16 cm de diâmetro). A kombucha foi considerada “pronta” quando a acidez ótima para consumo foi atingida, aproximadamente 4 g/L de ácido acético. Para as kombuchas feitas no biorreator pequeno, as de erva-cidreira e hortelã-pimenta encurtaram em aproximadamente dois dias o tempo de fermentação, comparadas com a amostra controle, até atingir a acidez ótima para consumo. No biorreator tradicional, a kombucha de erva-cidreira também foi a mais eficiente, levando três dias a menos que a amostra de chá preto para ser considerada pronta. Os autores

concluíram que, além de ser possível utilizar as ervas testadas como substrato para a kombucha, o tempo de fermentação aumentou em cerca de 4 dias do biorreator pequeno para o tradicional em todos os meios utilizados, incluindo o controle. Este fenômeno pode ser explicado com a maior disponibilidade de oxigênio no meio para as bactérias acéticas nos biorreatores menores, em que a razão entre a área superficial e volume do biorreator era maior.

Abuduaibifu e Tamer (2019) realizaram preparos de kombucha a partir de infusões de *goji berry* (*Lycium barbarum* L.) e *goji berry* preto (*Lycium ruthenicum* Murr.), para analisar suas propriedades físico-químicas e sensoriais, e compará-las com a kombucha tradicional de chá preto. O objetivo do trabalho era produzir uma kombucha com características sensoriais agradáveis, além de um produto com alto poder e bioacessibilidade antioxidante. Para as preparações das infusões, foram utilizadas frutas secas dos dois tipos de *goji berry*, com a mesma concentração (% m/V) das folhas de chá preto, a fermentação durou 48h para todas as amostras. Os autores concluíram que as infusões testadas são apropriadas como uma alternativa para a produção de kombucha, sendo a kombucha de *goji berry* preto a mais bem avaliada em suas propriedades sensoriais.

4.1.2.2 AÇÚCARES E OUTRAS FONTES DE CARBONO

No caso dos microrganismos envolvidos na produção de kombucha, que são quimiorganotróficos, a fonte de carbono é também a sua fonte de energia. Sendo assim, sacarose é a fonte de carbono mais utilizada para a fermentação da kombucha. A fonte de carbono é necessária para a biossíntese de diversos constituintes celulares dos microrganismos, como carboidratos, lipídeos, ácidos nucléicos. As macromoléculas das fontes de carbono são convertidas a unidades menores por enzimas despolimerizantes. Caminhos metabólicos dos microrganismos são utilizados para transformar estes compostos em metabólitos capazes de ser catabolizados por vias metabólicas centrais (PEREIRA JUNIOR; BON; FERRARA, 2008).

As leveduras e as bactérias do SCOBY estão envolvidas nas atividades metabólicas que utilizam sacarose. As leveduras têm um papel fundamental na fermentação da kombucha ao serem responsáveis por hidrolisar a sacarose por invertase em açúcares mais simples: frutose e glicose. Estes açúcares mais

simples, por sua vez são transformados em etanol via glicólise e também produzem o gás carbônico. As bactérias acéticas utilizam a glicose para produzir ácido glucónico, glicose e frutose para produzir celulose, e etanol para produzir ácido acético (JAYABALAN et al., 2014; MAY et al., 2019).

Reiss (1994) realizou um estudo para avaliar a influência de diferentes açúcares na atividade metabólica do SCOBY na produção de kombucha. Foram utilizadas sacarose, lactose, glicose e frutose como fontes de carbono para a fermentação, além de chá preto. Foi constatado que a concentração de sacarose (50 g/L) que produz as maiores quantidades de etanol e ácido láctico é também a concentração mais utilizada em receitas tradicionais para a produção de kombucha, segundo o autor. Independente do substrato utilizado e sua concentração inicial, o conteúdo de etanol e de ácido láctico das kombuchas atingiram seu máximo de concentração ao 6º dia de fermentação, seguindo para um declínio. Dentre os quatro açúcares, foi utilizando sacarose e frutose que se obtiveram as maiores concentrações de etanol, sendo 6,3 g/L aos 10 dias de incubação com sacarose a 50g/L, e 8,11 g/L de etanol aos 10 dias utilizando a frutose a 150 g/L.

A utilização de melão de beterraba para adoçar o chá preto foi estudada por Malbaša, Lončar e Djurić (2008), com o objetivo de compará-la quimicamente com a kombucha de chá preto adoçado com sacarose. O trabalho também objetivou observar qual kombucha obteve maior produção de ácido L-láctico, por este ser um produto de grande interesse da fermentação devido à sua ação profilática potencial. Foram utilizadas três amostras de melões, resíduo proveniente de três diferentes indústrias de açúcar de beterraba. As concentrações de ácidos totais das kombuchas adoçadas com o melão (KMs) foram maiores, inclusive na concentração inicial, pela presença de ácidos graxos livres e também ácidos orgânicos não voláteis residuais. As produções de ácido L-láctico nas KMs foram maiores, conforme esperado pelo autor, devido ao conteúdo de açúcar invertido, biotina e amino nitrogênio livre do melão. A produção de ácido acético pelas bactérias na kombucha com sacarose (KS) foi maior, sendo a concentração final aproximadamente o dobro da concentração nas KMs. A produção de biomassa também foi maior nas KMs, devido à quantidade de matéria orgânica presente no melão.

As bactérias também utilizam o açúcar para produzir a película celulósica do SCOBY. Diferentes fontes de carbono, com ou sem suplementos, foram utilizados com sucesso para a produção desta película, como melão, sacarose, frutose, manitol, sucos de frutas e outros resíduos e extratos (JOZALA et al., 2016; MAY et al., 2019). Com o objetivo de investigar a produção de celulose pelas bactérias e a influência da concentração da fonte de carbono, Goh et al. (2012) prepararam substratos de chá preto com 70, 90 e 110 g/L de sacarose. A concentração de 90 g/L obteve a maior rendimento de produção de celulose 67% (valor obtido da divisão entre peso líquido da celulose bacteriana pela concentração de sacarose), contra 44 e 27% das concentrações de 70 e 110 g/L, respectivamente.

No trabalho de Xia et al. (2019) utilizou a bebida preparada de soja como substrato. A fonte de carbono e energia já presente na bebida de soja é constituída de sacarose, glicose, frutose, galactose, estaquiose e rafinose, não sendo adicionada nenhuma outra fonte para a fermentação. Apenas a estaquiose não foi esgotada pelas bactérias, nas configurações de fermentação testada pelos autores (72 h a 37°C e 96 h a 28°C), indicando que este polímero não é uma fonte primária de carbono para os microrganismos da kombucha. Outras conclusões sobre a utilização deste substrato serão abordadas no item a seguir.

4.1.2.3 OUTROS SUBSTRATOS

Outros substratos têm sido utilizados como meio para a fermentação da kombucha para, além de criar um novo produto, potencializar suas propriedades antioxidantes e também sensoriais. Segundo Vitas et al. (2013) já foram utilizados substratos como sucos de frutas, vinho, leite, cerveja e chás de ervas. Nesta seção serão apresentados alguns destes substratos não-convencionais.

Como citado anteriormente, Xia et al. (2019) conduziram a fermentação de bebida preparada a base de soja pelo SCOBY, para testar o desenvolvimento de um novo produto. Duas configurações de fermentação foram testadas, 28°C por 96 horas (A) e 37°C por 72 horas (B). Os autores aplicaram uma avaliação sensorial da bebida, a configuração B recebeu uma melhor avaliação em todos os atributos e na aceitação global, atribuindo o sabor avinagrado da configuração A como responsável pela sua baixa aceitação. Ao explicar a presença deste sabor, os autores apenas citam a temperatura como fator causador. Sabe-se que a

temperatura de fermentação influencia no produto, mas não foi levado em consideração o tempo de fermentação em cada uma das configurações, sendo que a conduzida a 28°C foi realizada em um tempo maior, acumulando uma maior quantidade de ácidos orgânicos e resultando em um sabor avinagrado. Esta característica já foi atribuída ao tempo de fermentação em outros trabalhos realizados por autores como Chen e Liu (2000), Jayabalan et al. (2014), Ayed e Hamdi (2015), Ayed, Abid e Hamdi (2016), entre outros. Com outro produto a base de soja, Tu et al. (2019) utilizaram o inóculo de kombucha para verificar a possibilidade de criar uma bebida fermentada de soro de soja, melhorando seu sabor e biofuncionalidade. O produto desejado foi obtido após uma fermentação de 6 dias, observando-se um aumento na aceitabilidade da bebida pela troca de odores desagradáveis do soro de soja por novos compostos voláteis produzidos na fermentação.

Ayed, Abid e Hamdi (2016) utilizaram suco de uva vermelha como substrato para a kombucha, com o objetivo de avaliar o potencial desta alternativa. As propriedades sensoriais do suco fresco e de kombuchas de 6 e 12 dias de fermentação, foram avaliadas nos quesitos intensidade do aroma, doçura, acidez, cor e aceitabilidade global, em uma escala hedônica de 1 a 9 pontos. Foi observado pelas avaliações que o suco fermentado por 12 dias teve uma aceitação menor nos atributos avaliados. A aceitação global do suco de uva fermentado por 6 dias foi considerada boa, ao contrário do fermentado por 12 dias, que foi considerado ter um sabor avinagrado e não teve uma boa aceitação pelo painel. Em um estudo muito similar, Ayed e Hamdi (2015) utilizou o suco de figo-da-índia (*Opuntia ficus-indica*) para fazer a bebida fermentada. Da mesma maneira, foram avaliados sensorialmente o suco fresco, e os fermentados por 6 e 12 dias quanto ao aroma, doçura, acidez, cor e aceitabilidade global, em uma escala hedônica de 1 a 9 pontos. Os autores concluíram que 6 dias de fermentação foram o suficiente para obter-se uma bebida sensorialmente satisfatória, e igualmente ao estudo anterior, não foi recomendada a fermentação prolongada pelo acúmulo de ácidos orgânicos, implicando em um sabor avinagrado ao suco.

Ulusoy e Tamer (2019) adicionaram ao chá verde sucos concentrados de louro-cerejeiro (*Prunus laurocerasus*), framboesa (*Rubus idaeus*), abrunho (*Prunus spinosa*) e cenoura negra (*Daucus carota* L. ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef) todos

ricos em antocianinas para produzir kombuchas com alta capacidade antioxidante. Foi também feita uma kombucha de chá verde para fins de comparação. As fermentações duraram 2 dias, e as kombuchas foram envasadas e acondicionadas a 4°C, para serem utilizadas para posteriores análises. As atividades antioxidantes das kombuchas foram maiores quando comparadas aos substratos não fermentados, porém o conteúdo de antocianinas diminuiu durante o armazenamento. Análises sensoriais realizadas mostraram que as kombuchas que receberam os sucos concentrados melhoraram a aceitabilidade da bebida, comparando-as com a kombucha de chá verde.

Com o objetivo de aumentar a ação e biodisponibilidade de compostos bioativos do pólen coletado por abelhas, Uțoiu et al. (2018) submeteram este produto à fermentação do SCOBY. Os autores utilizaram chá verde como substrato, adoçados com 7% (g/L) de sacarose. Foram realizados dois procedimentos diferentes para os testes, quanto ao momento de adição de pólen. Em um dos procedimentos foram adicionados 50 g de pólen imediatamente após a inoculação do chá (KP), e então fermentado por 30 dias. No segundo procedimento, a mesma quantidade de pólen foi adicionada na kombucha fermentada por 20 dias (KF), e então deixado fermentar por mais 10 dias. Os autores analisaram a formação de compostos bioativos, a cinética de bactérias ácido-láticas, formação de ácidos orgânicos, evolução de açúcar, a influência da fermentação na morfologia do pólen. Os autores observaram que na KP a fase líquida da kombucha solubilizou e enfraqueceu, pela ação de polifenóis e aminoácidos, as paredes celulares do pólen fazendo com que fossem liberados os seus nutrientes na kombucha, aumentando a biodisponibilidade dos compostos bioativos. Na KF, o pólen adicionado, por sua vez, contribuiu para uma maior atividade dos microrganismos do SCOBY por trazer consigo bactérias ácido-láticas específicas do mel e derivados, aumentando a biodiversidade da cultura simbiótica e sua atividade. Logo, o pólen foi considerado um “ativador” ou “melhorador” da fermentação do SCOBY pelos autores.

Já Zubaidah et al. (2018) utilizaram o suco da fruta de diferentes cultivares da espécie de palma *Salak* (*Salak Doyong*, *Salak Madu*, *Salak Pondoh*, *Salak Segaran* e *Salak Suwaru*) para preparar kombuchas. Esta fruta (*snake fruit - Salacca zalacca*) é uma fonte de vitaminas, minerais, fibras e compostos bioativos com atividades antioxidantes. Os autores concluíram que a bebida produzida no seu estudo tem um

grande potencial para o desenvolvimento de uma bebida funcional, por ter elevado as atividades antioxidantes e antibacterianas do suco natural não fermentado.

4.1.2.4 SCOBY E MICROBIOLOGIA

O SCOBY utilizado para a fermentação da kombucha, é uma cultura em matriz esponjosa celulósica em formato de sino, também é conhecido como “*tea fungus*” (*fungo de chá*, tradução livre) (DUTTA; PAUL, 2019), e cresce em condições adequadas de pH e temperatura. Ainda, segundo Jayabalan et al. (2014), um nome comum dado a este biofilme contendo a cultura de espécies de bactérias acéticas e leveduras osmofílicas, pode ser o próprio nome da bebida: kombucha. Este biofilme celulósico é adicionado ao chá ou substrato a ser fermentado, sendo chamado de “cultura mãe”. À medida que a fermentação evolui, uma nova camada de SCOBY se forma na superfície do líquido, e este, poderá ser utilizado para inocular um próximo substrato.

A microbiota da kombucha pode ser dividida em duas partes, uma sendo a presente no biofilme celulósico e a outra, os microrganismos presentes na porção líquida da kombucha (CHAKRAVORTY et al., 2016). Embora a microbiota envolvida na fermentação da kombucha seja diferente de acordo com a localização geográfica na qual se encontra, da fonte do inóculo e do tempo de fermentação (SREERAMULU; ZHU; KNOL, 2000; MALBAŠA et al., 2011), pode se apontar as principais famílias, gêneros e espécies de leveduras e bactérias presentes em ambas porções da kombucha.

Os procariotos mais abundantes no SCOBY são as bactérias do gênero *Acetobacter* e *Gluconobacter*. A principal bactéria responsável por criar rede celulósica flutuante na superfície do líquido é a *Acetobacter xylinum*. Esta rede que é um metabólito secundário da fermentação da kombucha, serve como a estrutura-base física para o desenvolvimento simbiótico, sendo uma das características singulares da cultura (JAYABALAN et al., 2014; DUTTA; PAUL, 2019). Dutta e Paul (2019) citaram como as principais bactérias identificadas tradicionalmente no SCOBY as cepas *Acetobacter xylinoides*, *Komagataeibacter xylinus*, *Gluconacetobacter xylinus*, *Acetobacter aceti*, e *Acetobacter pasteurianus*. A taxonomia da *Gluconacetobacter* foi recentemente atualizada e este gênero foi subdividido em três gêneros: *Nguyenibacter*, *Komagataeibacter* e

Gluconacetobacter, porém as bases de dados microbianas não foram modificadas ainda para suportar a reclassificação (FILIPPIS et al., 2018).

Além de bactérias acéticas existem muitas espécies de leveduras na kombucha. Um grande espectro de leveduras já foi encontrado, incluindo *Saccharomyces*, *Saccharomicodes*, *Schizosaccharomyces*, *Brettanomyces/Dekkera*, *Candida*, *Torulospora*, *Koleckera*, *Pichia*, *Mycotorula* e *Mycoderma* (JAYABALAN et al., 2014). De acordo com análises feitas por Chakravorty et al. (2016) que avaliaram a cinética microbiológica e química da kombucha utilizando ferramentas modernas de sequenciamento, o gênero *Candida* foi a levedura dominante nas duas porções (biofilme e líquido) da kombucha produzida pelos autores, o que não havia sido observado até o momento do estudo. Diferentemente, os resultados apresentados por Marsh et al. (2014) apresentou a dominância de *Saccharomyces* e *Zygosaccharomyces* nas amostras analisadas, sendo a primeira levedura encontrada em proporções muito baixas e a segunda não encontrada no trabalho de Chakravorty et al. (2016).

Os principais gêneros de bactérias e leveduras da kombucha em análises de identificação de microrganismos estão listados na Tabela 1.

Tabela 1 – Principais gêneros de bactérias e leveduras em kombuchas de diferentes origens.

(Continua)

Bactérias	Leveduras	Origem do SCOBY	Fonte
<i>Gluconacetobacter xylinus</i> , <i>Gluconacetobacter saccharivorans</i> , <i>Gluconacetobacter intermedius</i> , <i>Gluconacetobacter kombuchae</i> , <i>Gluconobacter oxydans</i>	<i>Pichia</i> sp., <i>Brettanomyces/Dekkera anomala</i> , <i>Candida</i> sp., <i>Zygosaccharomyces bailii</i>	Ucrânia	Reva et al. (2015)
<i>Gluconacetobacter</i> sp., <i>Gluconobacter</i> sp., <i>Bifidobacterium</i> , <i>Collinsella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Weissella</i> , <i>Lactobacillus</i>	<i>Candida stellimalicola</i> , <i>Candida tropicalis</i> , <i>Candida parapsilosis</i> , <i>Lachancea fermentati</i> , <i>Eremothecium cymbalariae</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Meyerozyma caribbica</i> , <i>Zygowilliopsis californica</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Saccharomycopsis fibuligera</i>	Índia	Chakravorty et al. (2016)
<i>Gluconacetobacter intermedius</i> , <i>Gluconacetobacter rhaeticus</i> , <i>Gluconobacter entanii</i>	<i>Zygosaccharomyces parabailii</i> , <i>Brettanomyces/Dekkera bruxellensis</i>	Inglaterra	Gaggia et al. (2018)

Tabela 1 – Principais gêneros de bactérias e leveduras em kombuchas de diferentes origens.

(Conclusão)			
Bactérias	Leveduras	Origem do SCOBY	Fonte
Oenococcus oeni, Lactobacillus nagelii, Lactobacillus satsumensis, Gluconobacter oxydans, Acetobacter okinawensis, Acetobacter tropicalis, Acetobacter syzygii, Gluconacetobacter europaeus, Gluconacetobacter xylinus	<i>Brettanomyces/Drekkera anomala</i> , <i>Brettanomyces/Drekkera bruxellensis</i> , <i>Hanseniaspora valbyensis</i> , <i>Zygorulaspora florentina</i> , <i>Pichia membranifaciens</i> , <i>Pichia anomala</i> , <i>Saccharomyces uvarum</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	França	Coton et al. (2017)
<i>Acetobacter</i> , <i>Gluconacetobacter</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Thermus</i> ,	<i>Zygosaccharomyces</i> , <i>Brettanomyces/Dekkera</i> , <i>Davidiella</i> , <i>Pichia</i> , <i>Wallemia</i> , <i>Lachancea</i> , <i>Leucosporidiella</i> ,	Canada	Marsh et al. (2014)
<i>Gluconacetobacter</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Thermus</i> ,	<i>Zygosaccharomyces</i> , <i>Brettanomyces/Dekkera</i> , <i>Kazachstania</i>	Reino Unido	Marsh et al. (2014)
<i>Gluconacetobacter</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Allobaculum</i> , <i>Ruminococcaceae Incertae Sedis</i> ,	<i>Zygosaccharomyces</i> , <i>Brettanomyces/Dekkera</i> , <i>Kazachstania</i>	Estados Unidos	Marsh et al. (2014)
<i>Acetobacter</i> , <i>Gluconacetobacter</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Thermus</i> , <i>Propionibacterium</i>	<i>Zygosaccharomyces</i> , <i>Brettanomyces/Dekkera</i> , <i>Pichia</i> , <i>Kazachstania</i> , <i>Kluyveromyces</i> , <i>Naumovozyma</i> ,	Irlanda	Marsh et al. (2014)

Fonte: Elaborada pela Autora (2019).

O trabalho realizado por Filippis et al. (2018), tinha como objetivo caracterizar a microbiota envolvida na fermentação da kombucha e experimentar quais seriam os

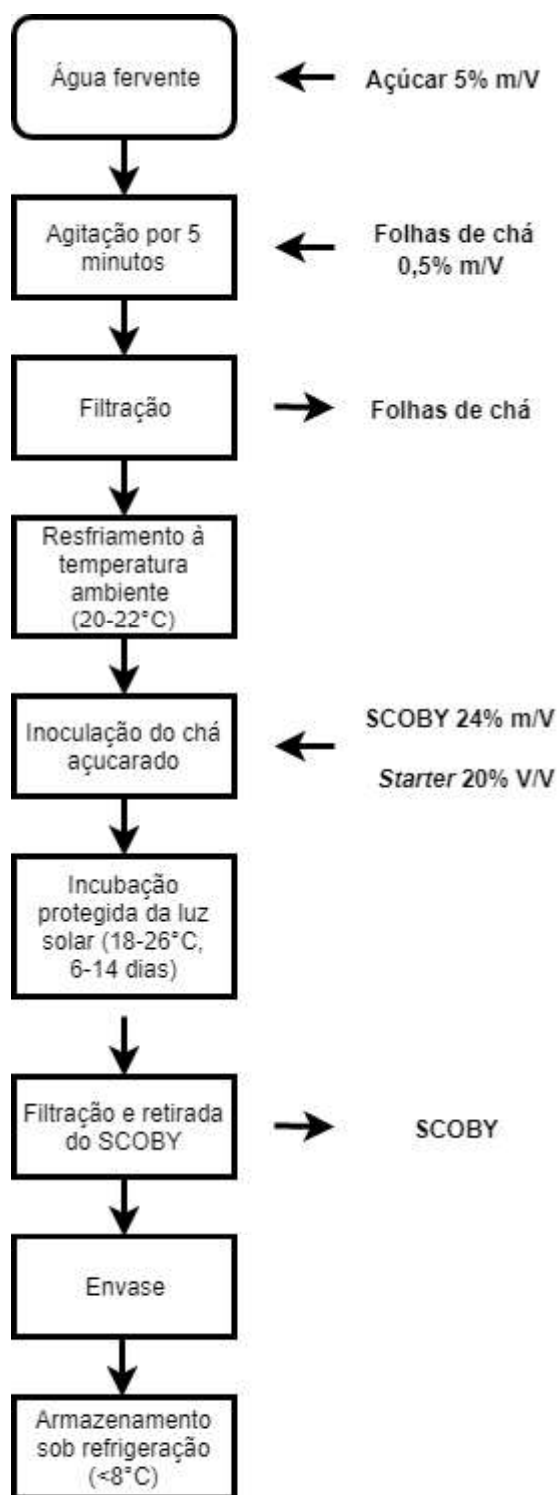
efeitos nela implicados com duas temperaturas de fermentação diferentes, para então poder definir qual condição iria aumentar a produção de ácido glucónico e glicurônico. Foi concluído no trabalho que não houve diferença no crescimento de bactérias acéticas nas diferentes temperaturas (20 e 30°C), porém, foi encontrada uma maior diversidade na composição microbiana na kombucha fermentada a 30°C. Também na temperatura de 30°C, ocorreu um maior desenvolvimento de bactérias não dominantes, caracterizadas como contaminantes ambientais, e bactérias ácido-láticas, quando comparado com a kombucha fermentada a 20°C.

Devido à grande importância das condições em que é conduzida a fermentação, mais variações de condições e informações características do processo de tecnologia de produção da kombucha serão abordados no tópico a seguir.

4.1.3 TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO

Tradicionalmente, segundo Jayabalan et al. (2014), a kombucha é preparada colocando-se o SCOBY em um caldo de chá açucarado para fermentar. As quantidades de chá, de açúcar e do SCOBY variam, porém, tendo como referência o volume de água utiliza-se (m/V): 0,5% de folhas de chá para a infusão, 5% (m/V) de sacarose; 24% (m/V) do SCOBY e 20% (V/V) de caldo de kombucha já fermentada, o *starter*. Após o resfriamento da infusão adoçada à temperatura ambiente (20 a 22°C), é adicionado o SCOBY em um recipiente previamente esterilizado. Ao adicionar-se kombucha já fermentada, ocorrerá a diminuição do pH da mistura à aproximadamente 5, inibindo o crescimento de microrganismos indesejáveis. O recipiente deve ser coberto com um anteparo permeável a gases, mas que evite a entrada de insetos. A temperatura ótima para a fermentação, segundo o autor, é entre 18 e 26°C. Ao passar dos primeiros dias de fermentação, uma fina e pequena nova colônia de bactérias e leveduras irá se formar e flutuar na superfície do líquido. Nesta fase do processo, o chá começará a exalar um odor típico da fermentação e aparecerão bolhas de gás da produção de ácido carbônico. Os processos de produção da kombucha estão esquematizados no Fluxograma 1 a seguir.

Fluxograma 1 – Processo de produção da kombucha.



Fonte: Adaptado de Jayabalan, Malbaša e Sathishkumar (2016).

A cultura mãe permanece no seu volume original, abaixo da nova cultura formada, e afunda no líquido fermentado para a base recipiente. Ao passar dos dias, há a formação completa do novo SCOBY. As culturas são removidas, o líquido

remanescente é filtrado e envasado em garrafas, estas são tampadas e então armazenadas sob refrigeração (JAYABALAN et al., 2014).

O tempo de fermentação da kombucha é determinante para o sabor do produto, mais comumente variando de 2 a 14 dias. A concentração de açúcar, de chá e a procedência do SCOBY será diferente de acordo com as preferências dos consumidores e/ou produtores (JAYABALAN; MALBAŠA; SATHISHKUMAR, 2016). O sabor da kombucha se altera durante a fermentação, de um sabor agradável e frutado, a um sabor azedo e gaseificado após alguns dias, e avinagrado após um longo período de incubação (JAYABALAN et al., 2014). A fermentação cumulativa de açúcar por bactérias e leveduras resulta na formação de ácidos e etanol, os quais são conservantes naturais responsáveis pela longa vida de prateleira da bebida (DUTTA; PAUL, 2019).

Envasar a kombucha após a retirada do SCOBY e armazená-la à temperatura ambiente por alguns dias, é uma prática que faz parte de um processo de segunda fermentação, comum à população que produz a kombucha de modo caseiro. Leveduras permanecem na bebida, e sob condições anaeróbicas, fermentam o substrato ainda disponível aumentando o conteúdo de gás carbônico dissolvido nela. No item 4.1.4 é abordado um estudo que realizou análises da concentração de etanol durante o armazenamento da kombucha a 22°C. Esta segunda fermentação também é citada por Dutta e Paul (2019).

Em fermentações caseiras ou industriais, ter um controle do processo não é muito comum, podendo muito facilmente, uma batelada de kombucha ser diferente da outra. A produção da kombucha pode suportar diversas configurações diferentes dos fatores que influenciam em seu resultado como tempo e temperatura de fermentação, quantidade de cultura *starter*, diversos tipos e concentrações de substratos e fontes de carbono. Na Tabela 2 são citadas algumas destas condições.

Tabela 2 – Substrato, fonte de carbono, tempo e temperatura de fermentação.

Substrato (m/V)	Fonte de carbono (m/V)	Tempo (dias)	Temperatura (°C)	Autor
Rooibos 0,8%	Sacarose 8%	14	27 ± 1	Gaggia et al. (2018)
Chá verde 0,8%	Sacarose 8%	14	27 ± 1	Gaggia et al. (2018)
Chá preto 0,8%	Sacarose 8%	14	27 ± 1	Gaggia et al. (2018)
Mostarda africana 0,95%	Sacarose 7%	14	25	Rahmani et al. (2019)
Erva cidreira 0,5%	Sacarose 7%	4	28 ± 1	Velićanski et al. (2014)
Erva cidreira 0,5%	Sacarose 7%	5	28 ± 1	Velićanski, Cvetković e Markov (2013)
Tomilho 0,5%	Sacarose 7%	12	28 ± 1	Velićanski, Cvetković e Markov (2013)
Hortelã 0,6%	Sacarose 7%	9	28 ± 1	Velićanski, Cvetković e Markov (2013)
Goji berry 1%	Sacarose 6%	2	28 ± 2	Abuduaibifu e Tamer (2019)
Goji berry preto 1%	Sacarose 6%	2	28 ± 2	Abuduaibifu e Tamer (2019)
Chá preto 1%	Sacarose 6%	2	28 ± 2	Abuduaibifu e Tamer (2019)
Chá preto 0,3%	Melaço de beterraba 7%	14	22 ± 1	Malbaša, Lončar e Djurić (2008)
Chá preto 0,6%	Sacarose 7%	8	30 ± 3	Goh et al. (2012)
Chá preto 0,6%	Sacarose 9%	8	30 ± 3	Goh et al. (2012)
Chá preto 0,6%	Sacarose 11%	8	30 ± 3	Goh et al. (2012)
<i>Snake fruit</i> 50%	Sacarose 10%	14	N.I.	Zubaidah et al. (2018)
Suco de figo-da-índia	N.A.	12	30	Ayed e Hamdi (2015)
Bebida de soja	N.A.	4	28	Xia et al. (2019)
Bebida de soja	N.A.	3	37	Xia et al. (2019)
Soro de soja	N.A.	8	28	Tu et al. (2019)

Legenda: N.A. = Não adicionado.

Fonte: Elaborada pela autora (2019).

4.1.3.1 FERMENTAÇÃO

O processo de fermentação da kombucha acontece espontânea e rapidamente, graças ao biofilme celulósico rico em espécies de bactérias e

leveduras e adição de kombucha fermentada que diminui o pH. Sabe-se que estas comunidades de bactérias e leveduras têm uma relação simbiótica durante a fermentação. Este biofilme faz o processo de fermentação da kombucha ser muito similar ao de produção de vinagre, e cada fermentação leva a uma nova camada de biofilme produzida, que pode ser utilizada em futuras fermentações. Fermentações espontâneas em geral são consideradas mais difíceis de controlar em comparação com fermentações induzidas (COTON et al., 2017), pois não se conhece completamente a microbiota envolvida que por sua vez impacta diretamente nas condições em que devem ser conduzidas as fermentações e finalmente na bebida final produzida.

Kallel et al. (2012) estudaram a bioquímica da fermentação da kombucha, e embora a fermentação em kombucha de chá verde (GTK) e chá preto (BTK) sejam similares, conseguiram identificar alguns comportamentos específicos de cada um. Na BTK, a fonte de carbono, glicose e frutose, foi consumida mais rapidamente. Também, algumas mudanças bioquímicas aconteceram mais rapidamente na BTK do que na GTK, resultando em maiores níveis de celulose, equivalentes de ácido acético, etanol, compostos fenólicos, cafeína e proteínas. Os autores também concluíram que, após 9 dias de fermentação para a BTK e 12 dias para GTK, o consumo dos substratos glicose e frutose diminuiu e favoreceu o consumo de fontes alternativas de carbono como o carbono proveniente do chá (carboidratos não celulósicos, aminoácidos, ácidos orgânicos e álcoois, entre outros). Os autores concluíram, porém, ao observar os valores de substratos utilizados *versus* produtos formados, no décimo quinto dia, que a massa de produtos formados foi maior do que a de substratos utilizados, aproximadamente 7 g/L. Essa diferença de massa representa pouco mais da metade da concentração de chá adicionado inicialmente, fazendo com que seja improvável ser a única fonte alternativa de carbono. Sendo assim, foi concluído que a película celulósica do SCOBY seja outra fonte de carbono alternativa no sistema, ao se esgotarem as principais.

Já Lončar et al. (2006) avaliaram que o tempo de fermentação, a temperatura e concentração inicial do inóculo são de grande influência no resultado da bebida em termos de composição de produtos da fermentação. A concentração de ácidos totais, etanol e a hidrólise da sacarose em glicose e frutose foram maiores com o aumento destas três variáveis. Após serem aplicados modelos matemáticos para

análises das respostas de glicose, frutose, metabólitos (ácidos totais e etanol) e vitamina C, para as diferentes condições das variáveis tempo, temperatura e concentração do inóculo, os autores concluíram neste trabalho que a duração do processo de fermentação é o fator de maior influência no produto. Chu e Chen (2006) avaliaram as atividades antioxidantes da kombucha e sua fração de polifenóis ao longo da fermentação em diversos ensaios, como o de DPPH, radical ABTS (2,2'-azino-bis), inibição de peroxidação de ácido linoleico, como quelante de metais, entre outros. Os resultados obtidos pelos autores mostraram que o poder antioxidante dos polifenóis aumentou conforme o aumento do tempo de fermentação da bebida.

Dentre os parâmetros de processo, a geometria dos biorreatores influencia de forma bastante importante a bebida a ser produzida, impactando entre outros aspectos, nas trocas gasosas e na transferência de energia. Nesse sentido, Villarreal-Soto et al. (2019) realizaram um estudo para avaliar o impacto da geometria do recipiente utilizado na fermentação da kombucha, realizando análises a cada dois dias durante o processo para acompanhar o consumo de substratos e geração de produtos. Os dois recipientes utilizados possuíam a mesma altura (15 cm), porém diâmetros diferentes (A= 9 cm e B= 23 cm), aumentando então a superfície disponível para o crescimento do SCOBY. Quanto ao consumo de substratos, no recipiente B ocorreu mais rápida e bruscamente o consumo de sacarose, assim como o consumo de glicose e frutose que também aconteceu de forma mais rápida, do que em comparação com o recipiente A. Conseqüentemente, a produção de etanol no recipiente B aconteceu mais rapidamente, tendo seu pico de concentração de $32,8 \pm 4,7$ g/L no 11º dia de fermentação, enquanto que o pico do recipiente B encontra-se no 16º dia com $23,1 \pm 2,4$ g/L. Aos 21 dias de fermentação, porém, a concentração de etanol em ambos os recipientes foi muito similar, cerca de 11 g/L. A concentração final de ácido acético no recipiente A aos 21 dias de fermentação foi muito superior à identificada no recipiente B, de 15,1 e 6,0 g/L respectivamente. Bactérias acéticas geralmente oxidam o etanol em acetaldeído, que por sua vez é oxidado a ácido acético, porém foi identificado que a concentração de ácido acético no recipiente B foi muito inferior à de etanol, o que, segundo os autores, pode ser explicado pela concentração de células de bactérias acéticas do SCOBY ou pela rota metabólica utilizada em cada meio de cultura.

A composição química da kombucha varia e depende diretamente da fonte do inóculo, das concentrações de chá e açúcares, tempo de fermentação e temperatura. Quaisquer variações nestas condições podem afetar o produto final da fermentação, tanto na própria presença ou não de alguns componentes e metabólitos, quanto nas suas concentrações.

4.1.4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA KOMBUCHA

A composição química da kombucha está intimamente relacionada aos ingredientes utilizados em sua fabricação e aos processos aplicados. A bebida apresenta composição complexa e extensa, o que pode ser atribuído à variedade de microrganismos presentes no SCOBY e seus diferentes metabólitos. Em adição a isto, variações de condições da fermentação e substratos, resultam em concentrações diferentes e até influenciam na presença ou não de compostos.

Ao reunir os componentes predominantes na kombucha, Jayabalan et al. (2014) citou os ácidos glucónico e acético, ambos produzidos pelas bactérias acéticas, o primeiro a partir de glicose e o segundo a partir de etanol. Outros ácidos produzidos por bactérias acéticas, com presença minoritária são os glicurônico, cítrico, láctico, málico, tartárico, malônico, oxálico, succínico, pirúvico e úsnico (JAYABALAN et al., 2014). Devido ao seu conteúdo de ácidos, o produto fermentado terá um pH baixo, geralmente próximo a 3 (COTON et al., 2017).

O açúcar, fonte de carbono tradicionalmente utilizada na produção de kombucha, pode não ser totalmente utilizado pelos microrganismos. Malbaša, Lončar e Kolarov (2000) demonstraram em seu trabalho que 34% da sacarose não é metabolizada após 7 dias de fermentação. Esta sacarose também é um constituinte majoritário na kombucha, bem como os produtos de sua hidrólise por leveduras: glicose e frutose (JAYABALAN et al., 2014).

Greenwalt, Steinkraus e Ledford (2000) incluíram o etanol no grupo de componentes predominantes da kombucha. Este componente é produzido pelas leveduras e auxiliam as bactérias acéticas na produção de ácido acético, que por sua vez, estimula as leveduras a produzirem etanol. O etanol é produto da hidrólise de açúcares menores (glicose e frutose), que é produzido em concentrações dependentes de variações no processo e tempo de fermentação. O pico da concentração de etanol se dá aproximadamente no 6º dia de fermentação (Reiss,

1994) e, então, segue para um declínio à medida em que o etanol é utilizado por bactérias acéticas para produzir ácido acético. Além disso, o declínio na concentração de etanol também pode ser explicado pela diminuição da sua produção por leveduras, causada pelo baixo pH e a baixa concentração de açúcares no meio (CHEN; LIU, 2000). Contudo, Talebi et al. (2017) estudaram a variação do conteúdo de etanol em kombuchas comerciais, e observaram valores de concentração mais altos do que o padrão que determina a classificação de uma bebida como não alcoólica, 0,5% (V/V). As análises foram feitas em cromatógrafo gasoso, por amostragem de *headspace* (vapor do espaço sobre a amostra), método analítico mais rápido, correto e preciso que o método de quantificação enzimática. Foram analisadas 18 amostras de kombuchas comerciais, de 5 produtores diferentes. Todas as amostras continham concentrações superiores a 0,5% de etanol, variando de 1,12 a 2,00%. Segundo os autores, este resultado obtido não é comum em kombuchas produzidas e que tem sua fermentação acompanhada em escala de bancada pois a população de organismos e as condições de fermentação de kombuchas produzidas em escalas comerciais são diferentes das produzidas em laboratório.

Ainda no estudo de Talebi et al. (2017) foram analisadas amostras de kombucha do mesmo lote armazenadas em temperaturas de 4 e 22°C, para verificar o comportamento das concentrações de etanol. Na kombucha armazenada a 22°C, o conteúdo de etanol aumentou significativamente nos primeiros 7 dias, atingindo seu máximo de 1,57% aos 14 dias, seguido por uma diminuição e estabilidade em 1,50%. A concentração de etanol na kombucha armazenada a 4°C demonstrou uma evolução mais lenta e gradual até a estabilidade, atingindo seu máximo entre o 20° e 30° dia de armazenamento, com aproximadamente 1,35%. Esses resultados evidenciam que após ser envasada, a kombucha passa por uma fermentação secundária (citada em 4.1.3). Os autores explicam que nesta fermentação em vasilhame fechado, ocorre um acúmulo de dióxido de carbono, o qual inibe a conversão de etanol à ácido acético, implicando no aumento da concentração de etanol durante o armazenamento da kombucha.

Chen e Liu (2000) avaliaram diferenças entre kombuchas feitas de chá preto de fermentação prolongada (60 dias) com relação a concentração de ácidos orgânicos, açúcares e etanol. Nesse trabalho, a concentração final de frutose foi

maior que a de glicose, indicando que os seus destinos metabólicos foram diferentes. Os autores atribuíram este comportamento por parte da glicose ser direcionada para a produção de ácidos orgânicos como o glucónico e para a biossíntese de celulose, explicando sua menor concentração durante a fermentação. O pico da concentração de etanol foi atingido entre o décimo e vigésimo dia de fermentação, chegando a 0,55% (V/V), finalizando em um valor de aproximadamente 0,15%. O ácido glucónico teve sua concentração aumentada até o último dia de fermentação proposto pelo trabalho, chegando a 3,9 g/ 100 mL no 60° dia, porém foi detectado apenas após 6 dias de fermentação.

Quanto às proteínas da kombucha, estudos realizados por Jayabalan, Marimuthu e Swaminathan (2007) e Sreeramulu, Zhu e Knol (2000), mostraram um leve aumento em seus níveis, sem ter qualquer outra fonte de nitrogênio adicionada antes de iniciar a fermentação. Os autores concluíram que estas representam proteínas extracelulares secretadas por leveduras e bactérias durante o processo de fermentação.

Na Tabela 3, estão demonstradas as concentrações de componentes químicos majoritários da kombucha de chá preto, nos dias 0, 7, 14 e 21 de fermentação. Na preparação da kombucha foram utilizados 10% de sacarose (m/V) e 10% (V/V) de cultura *starter*. Temperatura mantida para a fermentação foi de 28 ± 2 °C.

Tabela 3 – Concentração dos componentes químicos majoritários da kombucha de chá preto.

Parâmetros	Dias de fermentação			
	0	7	14	21
Ácido acético (g/L)	0,65	5,72	12,53	16,57
Ácido glucónico (g/L)	0,33	2,44	6,38	7,36
Etanol (g/L)	0,05	0,28	0,14	0,07
Açúcar redutor (g/L)	6,80	8,20	3,50	2,25
TFs (g/L)	1,76	1,84	2,84	3,32
TRs (g/L)	21,50	19,08	17,60	11,39
Cafeína (g/L)	1,06	0,95	0,71	0,64
DSL (g/L)	0,48	0,85	1,32	2,24

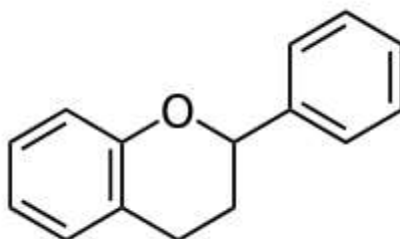
TFs = Teaflavinas. TRs = Tearubiginas.

Fonte: Adaptado de Chakravorty et al. (2016).

Outros componentes minoritários da kombucha são provenientes dos microrganismos e da fermentação conduzida por eles, como o dióxido de carbono, as enzimas (invertase e amilase), proteínas, o ácido D-sacárico-1, 4-lactona (DSL) (JAYABALAN et al., 2014; CHAKRAVORTY et al., 2016). Vitaminas B2, B2, B6 e C, caroteno, enzimas (polifenoloxidasas), purinas, pigmentos, polifenóis e minerais são provenientes do chá (CHAKRAVORTY et al., 2019).

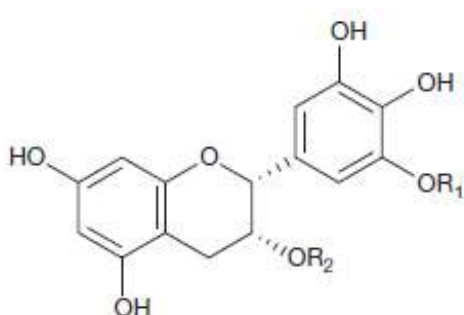
Um destaque pode ser dado aos polifenóis do chá. Esses compostos mesmo sendo um componente minoritário na kombucha, são relevantes na discussão de potenciais benefícios à saúde relacionados ao consumo da bebida. Os polifenóis ou compostos fenólicos são de um grupo de fitoquímicos presentes nas plantas, frutas, vegetais e ervas. Não são formados no metabolismo basal e, sim em reações secundárias as interligadas. Por essa razão, estão classificados como metabólitos secundários do metabolismo de plantas cujas funções fisiológicas ou ecológicas são bem estabelecidas. Representam um grupo de compostos muito diverso e multifuncional, com um vasto potencial benéfico à saúde em diversas áreas. Seus grupos funcionais capazes de aceitar elétrons, transferir prótons e complexar radicais livres atuando como antioxidantes. Essa ação uma das explicações relacionadas à possíveis atividades no corpo humano (SWANSON, 2003; WATSON et al., 2018). Atualmente, discussões relativas à biodisponibilidade desses compostos em diferentes sistemas alimentares e a descoberta de mecanismos de modulação de enzimas, interação com membranas celulares e com mediadores celulares estão entre os principais mecanismos de ação (FRAGA et al., 2010). Os principais grupos de polifenóis são os flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, estilbenos e lignanas. Cada uma dessas classes apresenta características químicas específicas e uma grande variabilidade de estruturas químicas. Somente para o grupo dos flavonoides, cuja a característica química comum se deve a presença de dois anéis aromáticas interligados por uma ponte de três carbonos (Figura 1), a diversidade de estruturas químicas é dividida em subclasses: flavanóis, flavanonas, flavonas, isoflavonas, flavonóis e antocianinas (ARYEE; AGYEI; AKANBI, 2019; BALENTINE; WISEMAN; BOUWENS, 1997). Dentro do grupo dos flavonoides, os flavanóis ou catequinas (Figura 2), são os compostos fenólicos presentes no chá.

Figura 1 – Estrutura química central dos flavonoides.

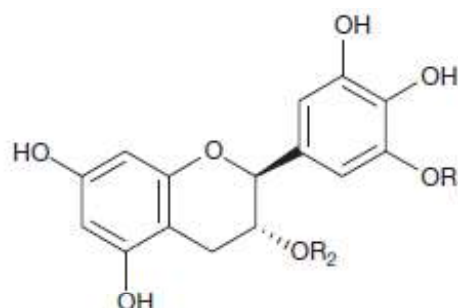


Fonte: A Balentine et al. (2015).

Figura 2 – Estrutura química das catequinas.



Epicatequina: $R_1 = R_2 = H$
 Epigalocatequina: $R_1 = OH, R_2 = H$
 Epicatequina galato: $R_1 = H, R_2 = \text{Galoil}$
 Epigalocatequina galato: $R_1 = OH, R_2 = \text{Galoil}$



Catequina: $R_1 = R_2 = H$
 Galocatequina: $R_1 = OH, R_2 = H$
 Catequina galato: $R_1 = H, R_2 = \text{Galoil}$
 Galocatequina galato: $R_1 = OH, R_2 = \text{Galoil}$

Fonte: Adaptado de Sang (2016).

Segundo Lamarão e Fialho (2009), “a maioria dos polifenóis do chá verde se apresentam como flavanóis, e dentre estes, predominam as catequinas”. São quatro as principais catequinas do chá, sendo elas: epicatequina (EC), epicatequina galato (ECG), epigalocatequina (EGC) e epigalocatequina galato (EGCG) (LEUNG et al., 2001). Ainda, outras catequinas também estão presentes no chá, a galocatequina galato (GCG), galocatequina (GC), catequina galato (CG), catequina (C), epigalocatequina digalato, epicatequina digalato, 3-O-metil EC, 3-O-metil EGC, e afzelequina, identificadas em menores quantidades. A catequina mais abundante nos chás preto e verde é a EGCG (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2008; ENGELHARDT, 2010; SANG, 2016). O chá verde é uma das principais fontes de catequinas dentre os alimentos, conforme ilustrado na Tabela 4. Estes flavanóis representam 25% do peso seco das folhas de chá, e quanto à infusão, uma xícara de chá contém, em peso seco, 30-40% de catequinas (BALENTINE; WISEMAN; BOUWENS, 1997).

Tabela 4 – Conteúdo de catequinas em alimentos.

Fonte alimentar	Catequinas (mg/100g)
Amora	9-11
Cereja	5-22
Chá verde	10-80
Chá preto	6-50
Chocolate	46-61
Damasco	10-25
Framboesa	2-48
Maçã	10-43
Morango	2-50
Pêssego	5-14
Uva	3-17
Vinho tinto	8-30

Fonte: Adaptado de Gadkari e Balaraman (2015).

Teaflavinas (TFs) e tearubiginas (TRs) são os principais polifenóis do chá preto, e são formados pela oxidação e polimerização das catequinas durante a fermentação das folhas de *Camellia sinensis*. As TFs são responsáveis pela coloração avermelhada da infusão do chá preto e são formadas a partir da oxidação de selecionados pares de catequinas, cada um formando um isômero de TF. As responsáveis pela pigmentação marrom são as TRs, polímeros heterogêneos de catequinas, que podem representar até 60% do peso seco do extrato de chá preto e informações sobre sua formação e estruturas ainda são muito limitadas. Uma oxidação enzimática prolongada (durante a fermentação das folhas do chá) pode levar as concentrações de TFs à um máximo e, então, uma diminuição quando TFs são parcialmente convertidas em TRs (ENGELHARDT, 2010; SANG, 2016).

O trabalho de Jayabalan, Marimuthu e Swaminathan (2007) foi o primeiro estudo a tratar da estabilidade dos polifenóis do chá durante a fermentação da kombucha. Para a preparação das amostras de kombucha, foram utilizados os chás verde e preto, e também resíduos da fabricação de chá. Foi relatado que as TFs e TRs foram relativamente mais estáveis que os isômeros de EC durante a fermentação da kombucha. Para todas as amostras, nos 18 dias de fermentação

propostos no trabalho, todos os isômeros de EC foram degradados até o 9º dia, e um aumento na sua concentração foi constatado no 12º dia de fermentação. Para EGC e EC, sua concentração foi maior no 12º dia de fermentação em comparação com sua concentração inicial. Os autores acreditam que este efeito se deve a biotransformação de EGCG para EGC e, de ECG para EC por enzimas excretadas por microrganismos do SCOBY.

As análises de Chakravorty et al. (2016) quanto aos polifenóis do chá, estão em concordância com o estudo de Jayabalan, Marimuthu e Swaminathan (2007), que mostrou o aumento de polifenóis e flavonoides durante a fermentação da kombucha. Em adição, o autor ainda comenta que é possível que a levedura do gênero *Candida* seja a responsável por degradar enzimaticamente os polifenóis e flavonoides em moléculas menores, resultando no aumento de alguns isômeros durante a fermentação. Quanto aos teores de TF e TR, Chakravorty et al. (2016) constataram que enquanto as TFs tiveram um aumento de quase 89%, a concentração de TRs diminuiu em 47% após os 21 dias de fermentação. A cafeína também sofreu uma diminuição em seu conteúdo, cerca de 40%.

4.1.5 IMPACTOS NA SAÚDE

São atribuídos à kombucha diversos benefícios à saúde, e sua popularização se deu principalmente a este fato. Porém, estes aspectos preventivos e terapêuticos não são relatados cientificamente com estudos experimentais envolvendo humanos. Os estudos atuais são em sua maior parte estudos *in vitro* das atividades de compostos químicos, dos quais já se tem conhecimento sobre possíveis atividades no corpo humano, bem como em modelos biológicos os quais serão abordados nesta seção.

Os polifenóis são conhecidos por seu potencial antioxidante. Sua ação é altamente relacionada à prevenção do desenvolvimento de lesões e danos em distúrbios e doenças metabólicas causadas por radicais livres, como catarata, degeneração da retina, dermatites, psoríase, envelhecimento, alergias, asma, diabetes, doenças crônicas do rim, gota, doenças cardiovasculares, aterosclerose, hipertensão, anemia, epilepsia, Alzheimer, Parkinson, inflamações crônicas, artrite, diversos tipos de câncer, entre outros, como citado nas pesquisas de Malbaša et al. (2011, Vīna et al. (2014)), Kumar e Joshi (2016).

Sistemas biológicos quando em um estado de estresse oxidativo, ou seja, quando as reservas de antioxidantes endógenos e aqueles obtidos da dieta não são capazes de neutralizar os radicais livres formados durante o metabolismo ou por exposição à agente agressor, podem apresentar dano celular. O surgimento de diversas patologias e doenças crônicas degenerativas é relacionada ao surgimento dessas reações e, por essa razão, o uso e consumo de produtos ricos em antioxidantes diariamente pode auxiliar na redução do risco de desenvolvimento dessas patologias.

A kombucha por conter compostos fenólicos e outras substâncias com propriedades antioxidantes, como tocoferóis, ácido ascórbico, betacaroteno e outros carotenoides (VINA et al., 2014) possui potencial para o estudo de suas propriedades como antioxidantes ou fonte de compostos bioativos. Grzesik et al. (2018) avaliaram a capacidade antioxidante das catequinas (ECG, EGCG, catequina, EGC e EC), que se mostraram superiores em comparação com outros antioxidantes mais conhecidos como ácido ascórbico, glutatona, Trolox (produto análogo solúvel em água da vitamina E, vendido por laboratório americano para reduzir estresse oxidativo).

No trabalho de Fu et al. (2014), os autores realizaram análises em kombuchas preparadas a partir de um chá verde de baixo custo, chá preto e chá em pó, para avaliar e comparar as habilidades de eliminação de DPPH, radical hidroxila e superóxido. Para estas análises, o tempo de fermentação da kombucha foi de 90h com agitação de 100 rpm. Entre as três kombuchas, a feita a partir de chá verde foi a que teve uma atividade mais alta contra todos os radicais livres, chegando a uma taxa de 95% para o DPPH.

O estudo de Ram et al. (2000), avaliou os efeitos da ingestão de kombucha em ratos albinos com estresse oxidativo induzido por cromo hexavalente. Os ratos receberam a kombucha oralmente, na proporção de 0,6 mL/200 g de peso corporal. Foi observado que a ingestão de kombucha melhorou consideravelmente a resposta humoral e a resposta da hipersensibilidade tardia (DTH), indicando que a kombucha possui uma atividade anti-inflamatória em ratos. Também é relatado que a bebida aliviou a atividade imunossupressora do cromo por sua ação antioxidante e auxiliou na excreção de cromo dos tecidos pela ação do ácido glicurônico (RAM et al., 2000). Em outro estudo realizado com ratos, segundo Zubaidah et al. (2019),

as kombuchas de chá preto e de *snake fruit* tiveram atividades efetivas como possíveis agentes antidiabéticos, por inibir a ação da α -amilase e suprimir os níveis de glicose no sangue. Em testes realizados com ratos, foi diminuída a glicemia de jejum, e melhorado o estado de estresse oxidativo e dos perfis lipídicos (diminuição de colesterol, triglicerídeos e lipoproteína de alta densidade). A kombucha de *snake fruit* foi tão efetiva quanto a metformina (medicamento antidiabético oral) ao controlar a diabetes induzida nos ratos, e consideravelmente mais efetiva que a kombucha de chá preto.

O ácido glicurônico possui efeitos desintoxicantes, como citado por Lončar et al. (2000). Trata-se da ação do ácido de se ligar com toxinas no fígado, tornando-as solúveis em água, e assim, mais fáceis de serem eliminadas pela urina. Já a presença do ácido glucônico, como exemplo, facilita a absorção de ferro pelo corpo, ajudando a prevenir sua deficiência, segundo Vīna et al. (2014).

Yang et al. (2009) avaliaram os efeitos hipolipidêmicos e antioxidantes da kombucha tradicional de chá preto (TKT) e de uma kombucha modificada fermentada apenas com a bactéria *Gluconacetobacter* sp A4 (MKT), também foram realizadas as avaliações no chá preto não fermentado para comparação posterior. Esta bactéria foi selecionada pois tem a capacidade de produzir o DSL, componente funcional da kombucha. Os resultados obtidos pelos autores mostraram que ambas kombuchas foram bons antioxidantes contra a oxidação de LDL (lipoproteína de baixa densidade), sendo mais efetivas que o chá preto não fermentado. Quanto à prevenção de hiperlipidemia, as kombuchas diminuíram os níveis séricos do colesterol total, sendo o DSL da kombucha parcialmente responsável por este efeito.

Seguindo uma linha diferente de estudo com a kombucha, um trabalho realizado por Bhattacharya et al. (2016) estudou a atividade antibacteriana da fração polifenólica da bebida contra bactérias entéricas patogênicas. A fermentação da kombucha preparada com chá preto durou 14 dias. Dos polifenóis presentes, a catequina e a isoramnetina, são os principais compostos com maiores atividades antibacterianas. Ambos polifenóis exerceram atividades bactericidas e bacteriostáticas contra todos os microrganismos testados (*E. coli* O157:H7, *Vibrio cholerae* N16961, *Shigella flexneri* 2a 2457T, *Salmonella* Typhimurium NCT 572, *E. coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923). Foi o primeiro estudo a

verificar a presença de isoramnetina na kombucha e, também é válido ressaltar que, até a data do estudo realizado pelos autores, não havia sido relatada a presença da isoramnetina no chá, o que sugere que a fermentação do chá preto pelo SCOBY seja responsável por sua presença na kombucha.

Ainda no estudo de Villarreal-Soto et al. (2019), já citado no item 4.1.3.1, após os 21 dias de fermentação foram avaliados parâmetros como conteúdo fenólico total, e as atividades antioxidantes, de antiproliferação e anti-inflamatórias dos compostos bioativos naturais da kombucha nos diferentes recipientes de fermentação. Comparando os dois biorreatores, as propriedades anti-inflamatórias e de antiproliferação foram mais altas no recipiente de maior diâmetro, o que sustenta a conclusão de que utilizando recipientes de geometrias diferentes podem produzir metabólitos de fermentação e compostos bioativos diferentes.

Ao realizar uma revisão sistemática sobre os efeitos benéficos da kombucha, Kapp e Sumner (2019) citaram que estudos sugerem que os supostos benefícios à saúde da bebida estejam relacionados aos componentes derivados do chá e produtos da sua fermentação. Estes efeitos e a atividades dos compostos foram estudados em ensaios *in vitro* e envolvendo animais, porém os autores ressaltam que não identificaram estudos que examinaram em humanos, qualquer benefício da kombucha à saúde.

5 DISCUSSÃO

Ao reunir as produções científicas abordando diferentes infusões e substratos não convencionais para a fermentação da kombucha, pôde-se observar a obtenção de novos produtos diversificados e agradáveis ao paladar (GAGGIÀ et al., 2018; ABUDUAIBIFU; TAMER, 2019; RAHMANI et al., 2019). A escolha de outros substratos para a utilização na fermentação apenas é limitada ao evitar constituintes que venham a inibir ou afetar o crescimento do SCOBY (VITAS et al., 2013). Autores escolheram e testaram substratos utilizando a base de soja, que não possuíam apelo sensorial e, após a fermentação, ao serem avaliados, receberam uma maior aceitabilidade devido, principalmente, às alterações no seu aroma pelo fato de produzirem novos compostos voláteis durante a fermentação (TU et al., 2019; XIA et al., 2019).

A utilização do chá verde para a produção da kombucha se deu pelo conhecimento dos benefícios à saúde relacionados aos seus polifenóis. Seguindo essa tendência, em outros trabalhos, foram utilizados substratos não convencionais por serem ricos em compostos bioativos. Foram realizadas comparações do substrato fermentado e não fermentado, principalmente em relação às suas atividades antioxidantes, mas também quanto a características sensoriais. Em todas as comparações, obteve-se no produto fermentado o resultado de aumento destas atividades, o que faz com que a fermentação conduzida pelo SCOBY seja de grande interesse na descoberta e desenvolvimento de novos produtos com potencial funcional (VELIĆANSKI et al., 2014; AYED; HAMDI, 2015; AYED; ABID; HAMDI, 2016; GAGGIÀ et al., 2018; UŢOIU et al., 2018; ZUBAIDAH et al., 2018; ABUDUAIBIFU; TAMER, 2019; RAHMANI et al., 2019; ULUSOY; TAMER, 2019; TU et al., 2019). Alguns substratos também se mostraram mais eficientes ao ter uma atividade microbiana mais alta, em biorreatores do mesmo tamanho, resultando em uma maior utilização de substratos e produção de metabólitos em um espaço de tempo menor (VELIĆANSKI; CVETKOVIĆ; MARKOV, 2013).

Os microrganismos do SCOBY utilizam a fonte de carbono em diferentes vias metabólicas, resultando no esgotamento ou diminuição da concentração de açúcares de preferência dos microrganismos durante a fermentação, variando de maneira singular para cada açúcar (XIA et al., 2019). Concentrações diferentes da fonte de carbono são capazes de influenciar na produção de celulose pelas

bactérias, obtendo-se uma concentração de melhor rendimento. Tal informação pode vir a contribuir quando o produto de interesse for o biofilme celulósico para aplicações tecnológicas alternativas (GOH et al., 2012). A utilização de diferentes açúcares no meio de cultivo mostrou, pela composição química do produto obtido da fermentação, que se pode induzir os microrganismos a terem uma maior produção de um metabólito de interesse, podendo ser compostos que irão alterar a bebida kombucha sensorialmente como o etanol (REISS, 1994; MALBAŠA; LONČAR; DJURIĆ, 2008). A concentração de etanol durante o armazenamento da kombucha pode aumentar, influenciada pela inibição da conversão de etanol a ácido acético, devido ao acúmulo de dióxido de carbono dentro da garrafa da bebida (TALEBI et al., 2017). A escolha do açúcar utilizado também pode contribuir para a produção de um composto de ação profilática potencial, como a de ácido L-láctico na kombucha adoçada com melão de beterraba (MALBAŠA; LONČAR; DJURIĆ, 2008).

Os estudos que trataram da atividade das bactérias e leveduras durante a fermentação, constataram que o tempo e a temperatura do processo também influenciaram na presença de microrganismos (MARSH et al., 2014; FILIPPIS et al., 2018). O acúmulo de produtos da fermentação ao longo do tempo pode inibir a atividade e causar a morte de microrganismos, podendo este tempo ser reduzido dependendo da temperatura de fermentação (VELIĆANSKI; CVETKOVIĆ; MARKOV, 2013). Este acúmulo de produtos também afeta a qualidade sensorial da bebida, uma vez que com prolongadas fermentações, há o acúmulo de ácido acético que confere um sabor avinagrado, comumente indesejado à kombucha. O tempo final de fermentação pode ser determinado pelo monitoramento de variáveis ao longo do processo, como por exemplo a acidez titulável correspondente ao ácido acético ou o pH (VELIĆANSKI; CVETKOVIĆ; MARKOV, 2013). Ainda, a duração da fermentação também pode depender da atividade de microrganismos, que é influenciada, por sua vez, pela escolha do tamanho do biorreator utilizado. Em um estudo (VILLARREAL-SOTO et al., 2019) comparou-se esta atividade em reatores de volumes diferentes. No biorreator maior, a atividade microbiana foi mais alta do que no biorreator de menor tamanho, este fenômeno foi explicado por haver mais oxigênio disponível, pela razão entre a área superficial e volume deste biorreator, ser maior. Esta informação é de grande relevância para a indústria a nível de

produção em batelada comercial, pois a diminuição do tempo de fermentação do produto significa um aumento na capacidade produtiva e uma provável diminuição de custos por batelada.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

O estudo bibliográfico realizado permitiu reunir os fatores determinantes ao processo fermentação da kombucha e à sua composição química e microbiológica. Tratando-se de um produto complexo, obtido a partir da ação de microrganismos, no qual, um grande espectro de condições e variáveis de processo já foram aplicados. Entre os fatores determinantes para a qualidade e composição química final da bebida são o tempo e temperatura de fermentação e de armazenamento da bebida acabada, o tamanho do biorreator, o tipo e a concentração de substrato e fonte de carbono, a concentração do *starter*, a origem do inóculo adicionado e os microrganismos presentes nele. Para isto, as kombuchas elaboradas foram submetidas a análises e avaliações diversificadas, qualitativas e quantitativas, conforme o objetivo de estudo.

Embora seja descrito um procedimento tradicional para a obtenção da bebida, muitos padrões diferentes são observados nas preparações feitas em diversos trabalhos. Ao abordar a kombucha do ponto de vista tecnológico e industrial, ao se tratar de uma bebida resultante da ação de microrganismos, podem existir dificuldades de reprodução de formulações e condições para a padronização deste produto por ainda ser limitado o conhecimento da microbiota do SCOBY e seu comportamento. Existem meios de controlar com mais rigor estas condições em escalas laboratoriais, mas há uma dificuldade maior de se ter estes controles e resultados em escalas industriais. Contudo, com o constante avanço da ciência, de tecnologias e de equipamentos, é possível que se chegue ao patamar de que se tenha informações e o conhecimento suficientes para controlar os processos, sendo possível determinar quais variáveis que são de maior interesse para o produto que se queira obter. E assim, podendo ser por meio de variáveis de tempo, temperatura, agitação, aeração, tamanho de reator, concentração do inóculo e microrganismos selecionados, além de substratos utilizados, que se possa alcançar um produto com as características químicas e sensoriais desejadas.

Inclusive, podendo fazer uma comparação com outro processo fermentativo na indústria de alimentos: a produção de cerveja, que já pode ser tão diversificada apenas com modificações em seus substratos.

O conhecimento da ação de compostos bioativos presentes em diferentes infusões ou preparos de bebidas, e o poder do SCOBY de aumentar as atividades

destes, faz com que o desenvolvimento de produtos com grande potencial funcional seja facilitado. Além disso, os controles de produção anteriormente citados, também podem contribuir para este desenvolvimento de maneira que se induza a produção e a atividade microbiana voltada a estes produtos de interesse. Ademais, os impactos à saúde atribuídos à kombucha, a segurança da bebida, seus compostos e sua biodisponibilidade carecem de estudos realizados em humanos e que corroborem com a hipótese da kombucha se tratar de uma bebida funcional. Para se fazer qualquer alegação de atribuição benéfica a saúde, deve-se submeter à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), uma série de documentações como a avaliação do risco e segurança do alimento com a alegação e avaliação da eficácia da alegação proposta a partir de evidências científicas que sustentem esta alegação conforme Resolução n° 18/99 (ANVISA, 1999).

Hoje em dia já existem muitos estudos acerca da bebida kombucha em todos os seus aspectos. Porém, ainda há a oportunidade e a necessidade de se explorar ainda mais este produto e as possibilidades permitidas por ele em seu processo de obtenção. São necessários mais estudos tecnológicos, físico-químicos, microbiológicos, epidemiológicos e toxicológicos para verificar e garantir a segurança do consumo da bebida kombucha.

7 REFERÊNCIAS

A BALENTINE, Douglas et al. Recommendations on reporting requirements for flavonoids in research. **The American Journal Of Clinical Nutrition**, [s.l.], v. 101, n. 6, p.1113-1125, 8 abr. 2015. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.3945/ajcn.113.071274>.

ABUDUAIBIFU, Aimidan; TAMER, Canan Ece. Evaluation of physicochemical and bioaccessibility properties of goji berry kombucha. **Journal Of Food Processing And Preservation**, [s.l.], v. 43, n. 9, p.1-14, 27 jun. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.14077>.

ANVISA. Constituição (1999). Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos, constante do anexo desta portaria. **Resolução Nº 18, de 30 de Abril de 1999**.

ARYEE, Alberta N.a.; AGYEI, Dominic; AKANBI, Taiwo . Food for Oxidative Stress Relief: Polyphenols. **Encyclopedia Of Food Chemistry**, [s.l.], p.392-398, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.21779-4>.

AYED, Lamia; ABID, Salwa Ben; HAMD, Moktar. Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. **Annals Of Microbiology**, [s.l.], v. 67, n. 1, p.111-121, 26 nov. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s13213-016-1242-2>.

AYED, Lamia; HAMD, Moktar. Manufacture of a beverage from cactus pear juice using “tea fungus” fermentation. **Annals Of Microbiology**, [s.l.], v. 65, n. 4, p.2293-2299, 27 mar. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13213-015-1071-8>.

BALENTINE, Douglas A.; WISEMAN, Sheila A.; BOUWENS, Liesbeth C. M. The chemistry of tea flavonoids. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [s.l.], v. 37, n. 8, p.693-704, dez. 1997. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408399709527797>.

BHATTACHARYA, Debanjana et al. Antibacterial Activity of Polyphenolic Fraction of Kombucha Against Enteric Bacterial Pathogens. **Current Microbiology**, [s.l.], v. 73, n. 6, p.885-896, 16 set. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00284-016-1136-3>.

CHAKRAVORTY, Somnath et al. Kombucha: A Promising Functional Beverage Prepared From Tea. **Non-alcoholic Beverages**, [s.l.], p.285-327, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-815270-6.00010-4>.

CHAKRAVORTY, Somnath et al. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. **International Journal Of Food Microbiology**, [s.l.], v. 220, p.63-72, mar. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015>.

CHEN, C.; LIU, B.y.. Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. **Journal Of Applied Microbiology**, [s.l.], v. 89, n. 5, p.834-839, nov. 2000. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01188.x>.

CHU, Sheng-che; CHEN, Chinshuh. Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 98, n. 3, p.502-507, jan. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.080>.

COTON, Monika et al. Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. **Fems Microbiology Ecology**, [s.l.], v. 93, n. 5, 18 abr. 2017. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/femsec/fix048>.

DAMODARAN, Srinivasan; PARKIN, Kirk L.; FENNEMA, Owen R. **Fennema's Food Chemistry**. 4. ed. Boca Raton: Crc Press Taylor & Francis Group, 2008. 1144 p.

DUTTA, Himjyoti; PAUL, Sanjib Kr. Kombucha Drink: Production, Quality, and Safety Aspects. **Production And Management Of Beverages**, [s.l.], p.259-288, 2019. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-815260-7.00008-0>.

ENGELHARDT, Ulrich H. Chemistry of Tea. **Comprehensive Natural Products li**, [s.l.], p.999-1032, 2010. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-008045382-8.00089-7>.

FILIPPIS, Francesca de et al. Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during Kombucha tea fermentation. **Food Microbiology**, [s.l.], v. 73, p.11-16, ago. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.008>.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Fao, 2018. **Global tea consumption and production driven by robust demand in China and India**. Disponível em: <<http://www.fao.org/news/story/pt/item/1136255/icode/>>. Acesso em: 28 de maio de 2019.

FU, Caili et al. Antioxidant activities of kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotics during storage. **Food Science And Technology**, [s.l.], v. 34, n. 1, p.123-126, 25 mar. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-20612014005000012>.

GADKARI, Pravin Vasantao; BALARAMAN, Manohar. Catechins: Sources, extraction and encapsulation. **Food And Bioproducts Processing**, [s.l.], v. 93, p.122-138, jan. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2013.12.004>.

GAGGIÀ, Francesca et al. Kombucha Beverage from Green, Black and Rooibos Teas: A Comparative Study Looking at Microbiology, Chemistry and Antioxidant Activity. **Nutrients**, [s.l.], v. 11, n. 1, p.1-22, 20 dez. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/nu11010001>.

GOH, W. N. et al. Fermentation of black tea broth (Kombucha): I. Effects of sucrose concentration and fermentation time on the yield of microbial cellulose. **International Food Research Journal**, Penang, v. 1, n. 19, p.109-117, jan. 2012.

GREENWALT, C J; STEINKRAUS, K H; A, Ledford R. Kombucha, the Fermented Tea: Microbiology, Composition, and Claimed Health Effects. **Journal Of Food Protection**, Ithaca, v. 63, n. 7, p.976-981, fev. 2000.

GRZESIK, Michalina et al. Antioxidant properties of catechins: Comparison with other antioxidants. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 241, p.480-492, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.117>.

HARRIS, Randall E.. **Epidemiology of Chronic Disease: Global Perspectives**. 2. ed. Columbus: Jones & Bartlett Learning, 2019. 800 p. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=qKKODwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=incidence+and+prevalence+of+chronic+diseases&ots=DqITi0YAtZ&sig=aBRGHTmaUBWMat2MfzgnTvCkT7g#v=onepage&q&f=false>>. Acesso em: 04 nov. 2019.

HOFFMANN, Norbert. **Basic Building Blocks, Nutrients and Growth Factors: What the Kombucha culture needs to survive**. 1998. Disponível em: <<https://www.kombu.de/nutrient>>. Acesso em: 15 out. 2019.

HOWARD, Kristal. Koger's top food trends for 2019. **Kroger**, 2018. Disponível em: < www.krogerstories.com/krogers-top-food-trends-for-2019/>. Acesso em: 17 de abril de 2019.

JAYABALAN, R.; MARIMUTHU, S.; SWAMINATHAN, K. Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 102, n. 1, p.392-398, jan. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.032>.

JAYABALAN, Rasu et al. A Review on Kombucha Tea-Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. **Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety**, [s.l.], v. 13, n. 4, p.538-550, 21 jun. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12073>.

JAYABALAN, Rasu; MALBAŠA, Radomir V.; SATHISHKUMAR, Muthuswamy. Kombucha. **Reference Module In Food Science**, 2016. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.03032-8>.

JOZALA, Angela Faustino et al. Bacterial nanocellulose production and application: a 10-year overview. *Applied Microbiology And Biotechnology*, [s.l.], v. 100, n. 5, p.2063-2072, 8 jan. 2016. **Springer Science and Business Media LLC**. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-015-7243-4>.

KALLEL, Lina et al. Insights into the fermentation biochemistry of Kombucha teas and potential impacts of Kombucha drinking on starch digestion. **Food Research International**, [s.l.], v. 49, n. 1, p.226-232, nov. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.018>.

KAPP, Julie M.; SUMNER, Walton. Kombucha: a systematic review of the empirical evidence of human health benefit. **Annals Of Epidemiology**, [s.l.], v. 30, p.66-70, fev. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.annepidem.2018.11.001>.

KUMAR, Vikas; JOSHI, V.k. Kombucha: Technology, Microbiology, Production, Composition and Therapeutic Value. **International Journal Of Food And Fermentation Technology**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.13-24, 2016. New Delhi Publishers. <http://dx.doi.org/10.5958/2277-9396.2016.00022.2>.

LAMARÃO, Renata da Costa; FIALHO, Eliane. Aspectos funcionais das catequinas do chá verde no metabolismo celular e sua relação com a redução da gordura corporal. **Revista de Nutrição**, [s.l.], v. 22, n. 2, p.257-269, abr. 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-52732009000200008>.

LEUNG, Lai Kwok et al. Theaflavins in Black Tea and Catechins in Green Tea Are Equally Effective Antioxidants. **The Journal Of Nutrition**, [s.l.], v. 131, n. 9, p.2248-2251, 1 set. 2001. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jn/131.9.2248>.

LONČAR, E et al. Biosynthesis of glucuronic acid by means of tea fungus. **Food / Nahrung**, Yugoslavia, v. 2, n. 44, p.138-139, mar. 2000.

LONČAR, E. et al. Influence of Working Conditions Upon Kombucha Conducted Fermentation of Black Tea. **Food And Bioproducts Processing**, [s.l.], v. 84, n. 3, p.186-192, set. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1205/fbp.04306>.

MALBAŠA, R.; LONČAR, E.; DJURIĆ, M. Comparison of the products of Kombucha fermentation on sucrose and molasses. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 106, n. 3, p.1039-1045, fev. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.020>.

MALBAŠA, R. V.; LONČAR, E. S.; KOLAROV, LJ. A. Sucrose and inulin balance during tea fungus fermentation. **Roum Biotechnol**, Novi Sad, v. 7, n. 1, p.573-576, 2000.

MALBAŠA, Radomir V. et al. Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 127, n. 4, p.1727-1731, ago. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.048>.

MARSH, Alan J. et al. Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. **Food Microbiology**, [s.l.], v. 38, p.171-178, abr. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2013.09.003>.

MAY, Alexander et al. Kombucha: a novel model system for cooperation and conflict in a complex multi-species microbial ecosystem. **Peerj**, [s.l.], v. 7, p:7e7565, 3 set. 2019. PeerJ. <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.7565>.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Constituição (2019). Instrução Normativa nº 41, de 17 de setembro de 2019: **Padrão de Identidade e Qualidade da Kombucha**. Brasília, DF, 18 set. 2019. v. 181, Seção 1, p. 13.

OWUOR, P.o. TEA | Chemistry. **Encyclopedia Of Food Sciences And Nutrition**, [s.l.], p.5743-5752, 2003. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b0-12-227055-x/01182-2>.

PEREIRA JUNIOR, Nei; BON, Elba Pinto da Silva; FERRARA, Maria Antonieta. **Tecnologia de Bioprocessos**. Rio de Janeiro: Escola de Química/UFRJ, 2008. 62 p. (Séries em Biotecnologia, v. 1).

RAHMANI, Rami et al. Kombucha fermentation of African mustard (*Brassica tournefortii*) leaves: Chemical composition and bioactivity. **Food Bioscience**, [s.l.], v. 30, p.403-414, ago. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100414>.

RAM, M Sai et al. Effect of Kombucha tea on chromate(VI)-induced oxidative stress in albino rats. **Journal Of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 71, n. 1-2, p.235-240, jul. 2000. Elsevier BV.

REISS, Jürgen. Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus. **Zeitschrift Für Lebensmittel-untersuchung Und -forschung**, [s.l.], v. 198, n. 3, p.258-261, mar. 1994. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf01192606>.

REVA, Oleg N et al. Metabarcoding of the kombucha microbial community grown in different microenvironments. **Amb Express**, [s.l.], v. 5, n. 1, p.1-8, 11 jun. 2015. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/s13568-015-0124-5>.

SANG, S. Tea: Chemistry and Processing. **Encyclopedia Of Food And Health**, [s.l.], p.268-272, 2016. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-384947-2.00685-1>.

SFA trendspotters name 2019 trends. **Specialty Food News**, 2018. Disponível em: < www.specialtyfood.com/news/article/specialty-food-associations-2019-food-trends/>. Acesso em: 17 de abril de 2019.

SREERAMULU, Guttapadu; ZHU, Yang; KNOL, Wieger. Kombucha Fermentation and Its Antimicrobial Activity. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [s.l.], v. 48, n. 6, p.2589-2594, jun. 2000. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf991333m>.

SWANSON, B.g.. TANNINS AND POLYPHENOLS. **Encyclopedia Of Food Sciences And Nutrition**, [s.l.], p.5729-5733, 2003. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b0-12-227055-x/01178-0>.

TALEBI, Mohsen et al. Examination of the Varied and Changing Ethanol Content of Commercial Kombucha Products. **Food Analytical Methods**, [s.l.], v. 10, n. 12, p.4062-4067, 29 jun. 2017. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s12161-017-0980-5>.

TOP 10 food trends 2019. Whole Foods Market, 2018. Disponível em: < www.wholefoodsmarket.com/top-10-food-trends-2019>. Acesso em: 17 de abril de 2019.

TU, Chuanhai et al. Use of kombucha consortium to transform soy whey into a novel functional beverage. **Journal Of Functional Foods**, [s.l.], v. 52, p.81-89, jan. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff>

ULUSOY, Abubekir; TAMER, Canan Ece. Determination of suitability of black carrot (*Daucus carota* L. spp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) juice concentrate, cherry laurel (*Prunus laurocerasus*), blackthorn (*Prunus spinosa*) and red raspberry (*Rubus ideaus*) for kombucha beverage production. **Journal Of Food Measurement And Characterization**, [s.l.], v. 13, n. 2, p.1524-1536, 13 fev. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11694-019-00068-w>.

UȚOIU, Elena et al. Bee Collected Pollen with Enhanced Health Benefits, Produced by Fermentation with a Kombucha Consortium. **Nutrients**, [s.l.], v. 10, n. 10, p.1365-1389, 23 set. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/nu10101365>.

VARNAM, Alan H.; SUTHERLAND, Jane P. **Bebidas**: Tecnología, química y microbiología. Zaragoza: Acribia, 1994. 496 p.

VELIĆANSKI, Aleksandra; CVETKOVIĆ, Dragoljub; MARKOV, Siniša. Characteristics of Kombucha fermentation on medicinal herbs from Lamiaceae family. **Romanian Biotechnological Letters**, Romania, v. 1, n. 18, p.1-9, jan. 2013.

VELIĆANSKI, Aleksandra S. et al. Antioxidant and Antibacterial Activity of the Beverage Obtained by Fermentation of Sweetened Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.) Tea with Symbiotic Consortium of Bacteria and Yeasts. **Food Technology And Biotechnology**, [s.l.], v. 52, n. 4, p.420-429, 19 dez. 2014. Food Technology and Biotechnology Journal. <http://dx.doi.org/10.17113/ftb.52.04.14.3611>.

VENTURINI FILHO, Waldemar Gastoni. **Bebidas não alcoólicas**: Ciência e tecnologia. São Paulo: Blucher, 2010. 410 p. 2 v.

VILLARREAL-SOTO, Silvia Alejandra et al. Impact of fermentation conditions on the production of bioactive compounds with anticancer, anti-inflammatory and antioxidant properties in kombucha tea extracts. **Process Biochemistry**, [s.l.], v. 83, p.44-54, ago. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2019.05.004>.

VĪNA, Ilmāra et al. Current Evidence on Physiological Activity and Expected Health Effects of Kombucha Fermented Beverage. **Journal Of Medicinal Food**, [s.l.], v. 17, n. 2, p.179-188, fev. 2014. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/jmf.2013.0031>.

VITAS, Jasmina et al. The antioxidant activity of kombucha fermented milk products with stinging nettle and winter savory. **Chemical Industry And Chemical Engineering Quarterly**, [s.l.], v. 19, n. 1, p.129-139, 2013. National Library of Serbia. <http://dx.doi.org/10.2298/ciceq120205048v>.

WATSON, Elaine. VOX POP: what emerging trends will fod & beverage execs be tracking in 2019?, 2018. Disponível em: < www.foodnavigator-usa.com/Article/2018/12/19/VOX-POP-What-emerging-trends-will-food-beverage-exec-be-tracking-in-2019#news>. Acesso em: 17 de abril de 2019.

WATSON, Ronald Ross et al. Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease. **Academic Press**, [s.l.], p.1-470, 2018. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/c2016-0-04277-8>.

XIA, Xiudong et al. Kombucha fermentation enhances the health-promoting properties of soymilk beverage. **Journal Of Functional Foods**, [s.l.], v. 62, p.35-49, nov. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2019.103549>.

YANG, Zhi-wei et al. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of kombucha tea in high-cholesterol fed mice. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [s.l.], v. 89, n. 1, p.150-156, 15 jan. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.3422>.

ZUBAIDAH, Elok et al. Comparison of in vivo antidiabetes activity of snake fruit Kombucha, black tea Kombucha and metformin. **Biocatalysis And Agricultural Biotechnology**, [s.l.], v. 17, p.465-469, jan. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2018.12.026>.

ZUBAIDAH, Elok et al. Potential of snake fruit (*Salacca zalacca* (Gaerth.) Voss) for the development of a beverage through fermentation with the Kombucha consortium. **Biocatalysis And Agricultural Biotechnology**, [s.l.], v. 13, p.198-203, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2017.12.012>.