



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS, SOCIAIS E AGRÁRIAS
CURSO DE BACHARELADO EM AGROINDÚSTRIA

GABRIELA PAES BARRETO DE ANDRADE

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA, FÍSICOQUÍMICA E BIOATIVA DA BEBIDA
KOMBUCHA FERMENTADA COM SCOPY LIOFILIZADO

BANANEIRAS – PB

2024

GABRIELA PAES BARRETO DE ANDRADE

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA, FÍSICOQUÍMICA E BIOATIVA DA BEBIDA
KOMBUCHA FERMENTADA COM SCOBY LIOFILIZADO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Bacharelado em
Agroindústria, da Universidade Federal da
Paraíba, em atendimento às exigências para a
obtenção do Grau de Bacharel em Agroindústria.

Orientadora: Profa. Dra. Isabelle de Lima Brito

BANANEIRAS - PB

2024

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A552a Andrade, Gabriela Paes Barreto de.

Avaliação microbiológica, físicoquímica e bioativa
da bebida kombucha fermentada com SCOBY liofilizado /
Gabriela Paes Barreto de Andrade. - Bananeiras, 2024.
47 f.

Orientação: Isabelle de Lima Brito.
TCC (Graduação) - UFPB/Cchsa.

1. Kombucha. 2. SCOBY. 3. Liofilização. I. Brito,
Isabelle de Lima. II. Título.

UFPB/BSPJAT

CDU 641.87

GABRIELA PAES BARRETO DE ANDRADE

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA, FÍSICOQUÍMICA E BIOATIVA DA BEBIDA
KOMBUCHA FERMENTADA COM SCOBY LIOFILIZADO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Bacharelado em Agroindústria da Universidade Federal da Paraíba, em atendimento às exigências para a obtenção do Grau de Bacharel em Agroindústria.

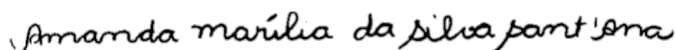
Monografia julgada e aprovada em 29/04/2024

Comissão Examinadora



Profa. Dra. Isabelle de Lima Brito

Orientadora, UFPB



Profa. Dra. Amanda Marília da Silva Sant'ana

Examinadora, UFPB



Profa. Dra. Catherine Teixeira de Carvalho

Examinadora, UFPB

BANANEIRAS-PB

2024

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, principalmente minhas irmãs Marina e Letícia que me incentivam e me inspiram todos os dias, aos meus pais Jane e Valdemir por todo o suporte e compreensão da minha ausência durante a graduação em outra cidade, e ao meu amor Ramona Louise, que esteve comigo em todo o processo, me ajudando nas análises e dando apoio e segurança emocional. Vocês foram fundamentais!

Agradeço muito à Wedson Aleff, amigo doutorando que me orientou e ajudou para que a realização deste trabalho fosse possível, és uma pessoa incrível. Agradeço às minhas amigas Marina Grazzielly e Deisiane Januário que estiveram comigo do começo ao fim e foram leais e sinceras com nossa amizade. A todos que contribuíram de forma positiva em minha passagem pelo Campus III, deixando boas lembranças de momentos importantes para mim, obrigada!

Por fim, sou grata a mim mesma por ter sido forte diante de tantas provas, e conseguir me formar em uma universidade pública federal da Paraíba. É realizador perceber o quanto cresci e desenvolvi valores e conhecimentos.

“A teoria sempre acaba, cedo ou tarde, assassinada pela prática.”

Albert Einstein

RESUMO

Kombucha é uma bebida fermentada elaborada a partir das folhas da planta *Camellia sinensis*, um elixir rico em ácidos orgânicos, minerais e vitaminas, os quais são produzidos por uma comunidade simbiótica de bactérias e leveduras, denominada de *SCOBY* (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts*). A *SCOBY* é a principal fonte para a elaboração da bebida, e, sendo um biofilme delicado, está sujeita à deterioração, o que pode comprometer a vida útil e os atributos nutricionais da bebida. Sua comercialização no estado natural abre margem para técnicas de secagem, que visam preservar os compostos e propriedades, garantindo qualidade e segurança alimentar. Com o intuito de explorar essa possibilidade, a técnica de liofilização foi aplicada à *SCOBY* da kombucha, objetivando avaliar seu potencial de reidratação em um novo chá verde. O estudo analisou as características do material após o processo de secagem e da bebida fermentada com o mesmo. Foi avaliado teores de sólidos solúveis, acidez titulável, pH, compostos fenólicos, flavonóides, antocianinas, açúcares redutores, atividade antioxidante e microbiológicas das kombuchas produzidas com *SCOBY* natural e *SCOBY* liofilizada com e sem chá de arranque, a fim de investigar a influência desse processo na fermentação e na liofilização do material para posterior reconstituição. Os resultados revelaram que as bebidas fermentadas com chá de arranque apresentaram melhor viabilidade celular, destacando a importância desse componente para o processo de fermentação. Houve redução na contagem de microrganismos após o processo de desidratação, atingindo níveis significantes, que variam entre 4×10^4 a $2,5 \times 10^6$ UFC.ml, o que indicou uma resistência moderada ao processo. O pH manteve-se dentro dos padrões regulatórios, porém, observou-se baixo consumo de sólidos solúveis (8,96°Brix), que constituem o principal substrato para os microrganismos, assim como uma baixa acidez (0,15%), sugerindo uma produtividade reduzida das enzimas responsáveis pela produção de ácidos orgânicos. Quanto à atividade antioxidante, houve diminuição nos teores de flavonóides e antocianinas ($0,93 \pm 0,07$ e $0,11 \pm 0,03$), no entanto, compostos fenólicos e a capacidade de absorção do radical ABTS foi maior após a liofilização das *SCOBYs* ($20,73 \pm 0,2$ e $891,3 \pm 0,2$), demonstrando o aumento no teor antioxidante do material. Os resultados deste estudo evidenciam a possibilidade de um desenvolvimento celular após a liofilização da *SCOBY*, abrindo caminho para potenciais aplicações comerciais inovação no campo da produção de kombucha.

Palavras chave: Kombucha. *SCOBY*. Liofilização.

ABSTRACT

Kombucha is a fermented drink made from the leaves of the *Camellia sinensis* plant, an elixir rich in organic acids, minerals and vitamins, which are produced by a symbiotic community of bacteria and yeasts, referred to as SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts). SCOBY is the main source for making the drink, and, being a delicate biofilm, it is subject to restrictions, which can compromise the shelf life and nutritional attributes of the drink. Its commercialization in its natural state leaves room for drying techniques, which aim to preserve the compounds and properties, guaranteeing quality and food safety. In order to explore this possibility, the freeze-drying technique was applied to the kombucha SCOBY, aiming to evaluate its rehydration potential in a new green tea. The study analyzed the characteristics of the material after the drying process and the drink fermented with it. Soluble solids, titratable acidity, pH, phenolic compounds, flavonoids, anthocyanins, reducing sugars, antioxidant and microbiological activity of kombuchas produced with natural SCOBY and freeze-dried SCOBY with and without starter tea were evaluated in order to investigate the influence of this process. in the fermentation and freeze-drying of the material for subsequent reconstitution. The results revealed that beverages fermented with starter tea had better cellular results, highlighting the importance of this component for the fermentation process. There was a reduction in the count of microorganisms after the dehydration process, reaching significant levels, ranging between 4×10^4 and 2.5×10^6 CFU.ml, which indicated moderate resistance to the process. The pH remained within regulatory standards, however, there was a low consumption of soluble solids (8.96°Brix), which is specifically the main substrate for microorganisms, as well as a low acidity (0.15%), presenting a reduced productivity of the enzymes responsible for the production of organic acids. Regarding antioxidant activity, there was an increase in the levels of flavonoids and anthocyanins (0.93 ± 0.07 and 0.11 ± 0.03), however, phenolic compounds and the absorption capacity of the ABTS radical were greater after freeze-drying of the SCOBYs (20.73 ± 0.2 and 891.3 ± 0.2), demonstrating an increase in the antioxidant content of the material. The results of this study highlight the possibility of cellular development after SCOBY freeze-drying, paving the way for potential commercial applications of innovation in the field of kombucha production.

Key-words: Kombucha. SCOBY. freeze-dryer.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVO GERAL	13
2.1 Objetivos específicos	13
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
3.1 A bebida kombucha	14
3.2 A <i>SCOB</i> Y da Kombucha.....	15
3.3 Consumo e comercialização da Kombucha.....	16
3.4 Técnicas de secagem em alimentos	16
3.5 Reidratação de produtos alimentícios.....	17
4. MATERIAIS E MÉTODOS	19
4.1 Aquisição da matéria-prima.....	19
4.2 Local do Experimento	19
4.3 Elaboração da Kombucha para preparo das análises	19
4.4 Secagem das <i>SCOB</i> Ys por liofilização	20
4.5 Caracterização Microbiológica das <i>SCOB</i> Ys úmida e seca e da bebida Kombucha antes e após hidratação da <i>SCOB</i> Y	21
4.6 Análises físico-químicas e bioativas da bebida Kombucha produzida antes e após hidratação da <i>SCOB</i> Y.....	21
4.7 Avaliação da capacidade de hidratação da <i>SCOB</i> Y liofilizada.....	22
4.8 Análise estatística	22
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5.1 Caracterização microbiológica das <i>SCOB</i> Ys úmida e seca e da bebida kombucha antes e após reidratação da <i>SCOB</i> Y.	23
5.2 Caracterização físico-química e de compostos bioativos da bebida kombucha antes e após a hidratação das <i>SCOB</i> Ys.....	25
5.2.1 Análise das Propriedades Físicoquímicas.....	25
5.2.3 Análise do teor de compostos fenólicos totais.....	28
5.2.3 Análise do teor de flavanóides.....	31

5.2.3 Análise do teor de antocianinas	32
5.3 Análise da capacidade antioxidante de absorção do radical ABTS.....	33
5.4 Índice de reidratação e capacidade de fermentação das SCOBYs.	34
6 CONCLUSÃO.....	36
7 LISTA DE REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

A indústria alimentícia tem despertado um grande interesse na elaboração de bebidas fermentadas de baixo teor alcoólico, impulsionada pelo aumento de consumo no mercado de bebidas funcionais, e a kombucha é uma bebida com potencial probiótico que tem se destacado devido sua composição microbiana, possuindo grande funcionalidade para a saúde humana, podendo agir como tratamento e prevenção de doenças, além de possuir alto valor nutricional^{1; 2}.

Kombucha é uma bebida fermentada de chá verde ou preto (*Camellia sinensis*) que contém grande teor de compostos bioativos, como aminoácidos, flavonóides, polifenóis e vitaminas, produzidos a partir da atividade metabólica de bactérias e leveduras em simbiose, denominada de *SCOBY* - *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts*^{3; 4}. A *SCOBY* é uma película gelatinosa que se forma na superfície do chá kombucha e é composto de uma membrana celulósica formada por bactérias acéticas e leveduras osmófilas, que se avolumam com o tempo de fermentação. Esta simbiose promove uma série de transformações bioquímicas durante o tempo de obtenção da bebida^{5; 6}. A *SCOBY* é a principal fonte para a elaboração da bebida kombucha.

Estudos já relataram a exploração de kombucha e seus derivados para aplicações em cosméticos⁷, análise microbiana⁸, elaboração de embalagem biodegradável⁹ e produtos de moda¹⁰. Processos de desidratação e secagem do *SCOBY* são mais escassas, o que torna sua aplicação industrial limitada, mas seu material promissor pode levar a resultados de alto potencial¹¹. Pesquisas demonstraram a utilização de microrganismos probióticos combinados com técnicas de secagem como forma de estabilizar e conservar as atividades microbiológicas, assegurando seus benefícios organolépticos^{12; 13; 14; 15}. Estudos referentes a secagem da celulose bacteriana da kombucha demonstraram que o método de secagem por sublimação (liofilizador) conteve uma maior viabilidade celular na *SCOBY* em relação a desidratação por calor^{16; 17}.

A secagem é um processo de desidratação que visa a conservação dos alimentos e facilidade operacional em termos quantitativo e qualitativo, criando condições desfavoráveis para o crescimento microbiano no produto. A técnica é capaz de conservar as características físicas e nutritivas, além de retornar o aspecto quase natural quando reconstituído em água¹⁸.

A distribuição e vendas da *SCOB*Y na forma natural podem apresentar processos indesejáveis como acidificação excessiva, formação de uma nova celulose e contaminação cruzada, o que compromete a qualidade sensorial e vida útil do produto. Diante o exposto, há a hipótese de que a fermentação da *SCOB*Y em um novo chá verde, após a liofilização do material, pode proporcionar uma nova forma de comercializa-las com maior tempo de vida útil, de modo que mantenha ou melhore os aspectos de qualidade e antioxidativas da bebida fermentada.

2 OBJETIVO GERAL

Realizar a secagem por liofilização na *SCOBY* da kombucha e estudar sua capacidade de fermentação após hidratação em um novo chá verde (*Camellia sinensis*) com base nos parâmetros de qualidade.

2.1 Objetivos específicos

- Produzir a bebida kombucha;
- Realizar a secagem por liofilização da *SCOBY* com e sem chá de arranque;
- Realizar a caracterização microbiológica da *SCOBY* úmida e seca;
- Realizar a hidratação da *SCOBY* liofilizada em um novo chá verde;
- Avaliar a capacidade de fermentação da *SCOBY* após a hidratação em um novo chá verde;
- Desenvolver a caracterização microbiológica da bebida kombucha produzida antes e após hidratação da *SCOBY*;
- Realizar a caracterização físico-química e bioativa da kombucha produzida antes e após hidratação da *SCOBY*.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 A bebida kombucha

Kombucha é uma bebida naturalmente carbonatada e levemente ácida, obtida a partir da fermentação do chá verde ou preto (*Camellia sinensis*), metabolizado por uma associação simbiótica de bactérias e leveduras em fermentação estática e sob condições aeróbicas à temperatura ambiente, que formam o “fungo do chá”, denominado de *SCOBY - Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeasts*. Estudos datam registros dessa bebida há cerca de 221 a.C. no Oriente, e uma crescente difusão no Ocidente¹⁹. Originalmente são utilizados o chá verde ou preto, mas há relatos de infusões com chás de hortelã, gengibre, uva e hibisco^{20; 21; 22}, além de variadas opções de sabores com adição de outros ingredientes na bebida. Atualmente encontram-se disponíveis no mercado diversos sabores da bebida kombucha²³.

O chá kombucha é composto de duas porções: uma camada biofilme flutuante de celulose e o caldo líquido azedo. Geralmente é fermentado por 7 a 10 dias com açúcar (5% a 10%) e contém pequenas quantidades de etanol e CO₂, bactérias do ácido acético e leveduras osmófilas, que predominam durante a fermentação da kombucha, resultando em um coquetel de moléculas como ácido lático, etanol, ácido acético, dióxido de carbono e ácidos glucônico e glucurônico⁵.

As composições microbianas da kombucha variam devido às condições ambientais e a cultura iniciadora, e a adição de frutas e ervas podem potencializar sua ação antioxidante, o que contribui com o fornecimento de agentes anti-inflamatórios^{24; 25; 4}. *Saccharomyces sp.*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Schizosaccharomyces sp.*, *Brettanomyces sp.* (leveduras), *Acetobacter aceti*, *Komagataeibacter xylinum*, *Gluconobacter oxydans* e *Acetobacter pasteurianus* (bactérias produtoras de ácido acético) são comumente encontradas na kombucha².

Dentre os estudos que comprovam o benefício do consumo de kombucha à saúde, se destacam seus efeitos probióticos, devido a presença de ácidos orgânicos, açúcares, lipídios, vitaminas, aminoácidos e proteínas, que alega a prevenção ao câncer, diabetes e arteriosclerose, aumento da imunidade, excreção de toxinas, efeitos antioxidantes, antiinflamatórios, anticâncer, hipoglicêmicos, antimicrobianos e problemas associados ao envelhecimento^{8; 26}.

No Brasil foi publicada a Instrução Normativa nº 41/2019, que estabelece o Padrão de Identidade e Qualidade da Kombucha, e regulamenta composição, parâmetros analíticos,

denominação, rotulagem, classificação e proibições. De acordo com a legislação, a Kombucha é a bebida fermentada obtida por meio 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)²⁷.

3.2 A SCOBY da Kombucha

SCOBY (*Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast*) é uma cultura de bactérias e leveduras que formam uma membrana celulósica em simbiose e realizam diversas reações bioquímicas durante o tempo de obtenção da bebida. Possui aspecto gelatinoso em formato de disco e pode moldar-se de acordo com o formato do recipiente utilizado para fermentação²⁸. Essas bactérias e fungos produtoras de celulose se mantêm na interface ar líquido, tornando a SCOBY mais espessa a cada nova fermentação. Este processo metabólico atua como reservatório de carbono e pode inibir o crescimento de patógenos ou outros microrganismos nocivos à saúde humana ^{29; 30}.

Os microrganismos presentes no biofilme produzem principalmente ácido acético e ácidos orgânicos, a partir da hidrólise da sacarose em glicose e frutose, que fornece nutrientes necessários para a realização de processos enzimáticos, posteriormente sendo convertidos em ácidos orgânicos (acético, glucônico, cítrico e láctico), vitaminas (B1, B2, B6, B12, E e C), aminoácidos, fenóis e polifenóis (DLS-D-sacárico-1,4-lactona e ácido ascórbico), minerais (cobre, potássio, ferro, manganês, cobalto, níquel e zinco e etanol) e dióxido de carbono, conferindo à bebida baixo valor de pH. A produção simultânea desses compostos impede o crescimento de outros micróbios competitivos^{29; 31; 32; 33}.

Este material possui alto poder antimicrobiano exercido contra as classes *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Bacillus cereus*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Shigella sonnei* e *Escherichia coli* Steinkraus. Pesquisas apontaram a composição química do SCOBY como sendo mais comum a presença de procariontes pertencentes ao gênero *Acetobacter* e *Gluconobacter*^{34; 35}.

Nos últimos anos, estudos no material da SCOBY apontaram seu uso como agente encapsulante para a Indústria de Alimentos³⁶ e filme de embalagem^{37; 38}, também tem sido utilizado na indústria têxtil³⁹, como material de biossorção para remoção de metais⁴⁰ e na alimentação animal como um ingrediente extra, que fornece fibra bruta, proteína, aminoácidos e minerais para a alimentação de frangos de corte⁴¹.

3.3 Consumo e comercialização da Kombucha

Dados da Associação Brasileira de Kombucha demonstram o crescimento significativo da bebida no país, com produção média de 500 mil litros e 1.5 milhões de garrafas por mês e um faturamento de 11 milhões de reais por ano, o que tende a crescer com a entrada de novos produtores⁴². Esse crescimento está relacionado às exigências do consumidor que demanda cada vez mais alimentos saudáveis no seu dia a dia. Para 28% dos brasileiros, o consumo de alimentos nutricionalmente ricos é de suma importância e 22% da população dão preferência à compra de alimentos sem conservantes e naturais⁴³.

As folhas da planta *Camellia sinensis* tem grande importância econômica e social, devido seu grande consumo do chá (chá verde ou chá preto), sendo a segunda bebida não alcoólica mais consumida no mundo e cultivada em mais de 30 países. Consequentemente a bebida Kombucha terá mais destaque. A produção mundial de chá tem aumentado mais do que seu consumo, causando redução no preço nas duas últimas décadas, além de aumento no custo de produção^{44; 45}.

Em 2023, a estimativa para o mercado global da Kombucha foi de US\$ 3,4 bilhões, atingindo uma taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 17,4% em 10 anos. Cientistas declaram que a previsão para os próximos anos é de uma CAGR de 25,9%, atingindo um valor de 13,7 bilhões de dólares em 2026⁴⁶.

3.4 Técnicas de secagem em alimentos

A secagem de alimentos abrange mecanismos que envolvem a transferência de calor ou frio, resultando na evaporação ou sublimação da umidade presente. Esse processo modifica os aspectos físicos, químicos e estruturais, além das características e massa do material, o que proporciona um aumento na vida útil do produto. Além disso, a secagem resulta em um valor nutritivo concentrado, facilita o transporte e representa um processo econômico para a produção de alimentos^{47; 48}.

Alimentos e bebidas que passam por processos de secagem obtêm sucessos na eficácia de preservação dos compostos ativos, além de comprovar as alegações funcionais com análises físico-químicas e microbiológicas próximas do consumo "*in natura*". Técnicas de secagem podem auxiliar na conservação do *SCOBY*, visto que favorece o transporte, armazenamento e embalagem, além de ampliar as formas de obtenção da bebida^{49; 50}.

A liofilização é uma operação unitária que realiza processos de desidratação, no qual ocorre o congelamento e a remoção de determinado solvente, por sublimação e por dessorção respectivamente. Usualmente, a perda de solvente deve ocorrer até que os valores de atividade de água impeçam a atividade microbológica no produto seco. Essa tecnologia foi desenvolvida para superar as perdas de compostos suscetíveis à temperaturas elevadas, como a secagem convencional⁵¹. Alimentos liofilizados são produtos com alto valor agregado por reter grande parte de seus nutrientes originais, uma vez que emprega baixas temperaturas em seu processamento.

Huang *et al.*¹⁴ analisaram estudos sobre probióticos desidratados e observaram que a maioria das pesquisas se concentra na secagem de *Lactobacillus* e *Lactococcus* e que essas bactérias apresentam sensibilidade às condições adversas durante o processo, geralmente diminuindo as colônias após a secagem.

Machado *et al.*⁵² verificou que a técnica de desidratação por *spray dryer* na bebida Kombucha em pó é ótima para obter um produto com todas as características naturais e sem alterações de sabor, além de ter uma boa aceitação em termos de sabor e consumo/compra. Estudos sobre processos de desidratação e secagem do *SCOBY*, para posterior aproveitamento também são escassos. Na maioria dos casos, os estudos de diversidade microbiana baseados em ácidos nucleicos do *SCOBY* geralmente terminam após a avaliação das composições microbianas, e poucos estudos sobre o isolamento de cultura pura de kombucha foram relatados⁵³.

3.5 Reidratação de produtos alimentícios.

A reidratação é um processo no qual se busca reestruturar as características do material seco quando em contato com água ou vapor, mantendo-o próximo de suas características naturais. Este processo se dá simultaneamente pela absorção de água no produto desidratado, o inchaço e a lixiviação dos sólidos. Vale ressaltar que a reidratação não retorna o material às suas condições iniciais, visto que a água removida através da secagem não é a mesma quando o alimento estava hidratado. A reidratação é utilizada como parâmetro de qualidade, sendo um indicativo de sua capacidade de absorver água e de chegar ao seu estado próximo ao original⁵⁴.

Jokicevic *et al.*⁵⁵ analisaram a habilidade de crescimento e fermentação após a secagem de probióticos do gênero *Lactobacillus* e confirmaram sua reconstrução, porém verificou-se baixas taxas de sobrevivência para algumas cepas selecionadas. Bruno *et al.*⁵⁶ fizeram testes de solubilidade em celulose bacteriana após um processo de secagem e observou-se que a

SCOBY da Kombucha, quando em contato com água, apresentou estado gelatinoso, atestando sua reconstrução celular devido sua propriedade hidratante.

4. MATERIAIS E MÉTODOS 4.1 Aquisição da matéria-prima

A colônia original de *SCOBY* foi obtida por doação da própria autora, que faz a fabricação e consumo da bebida. As folhas de chá verde e o açúcar cristal (marca Alegre®) para elaboração da bebida kombucha foram adquiridas na cidade de Bananeiras-PB, no comércio local.

4.2 Local do Experimento

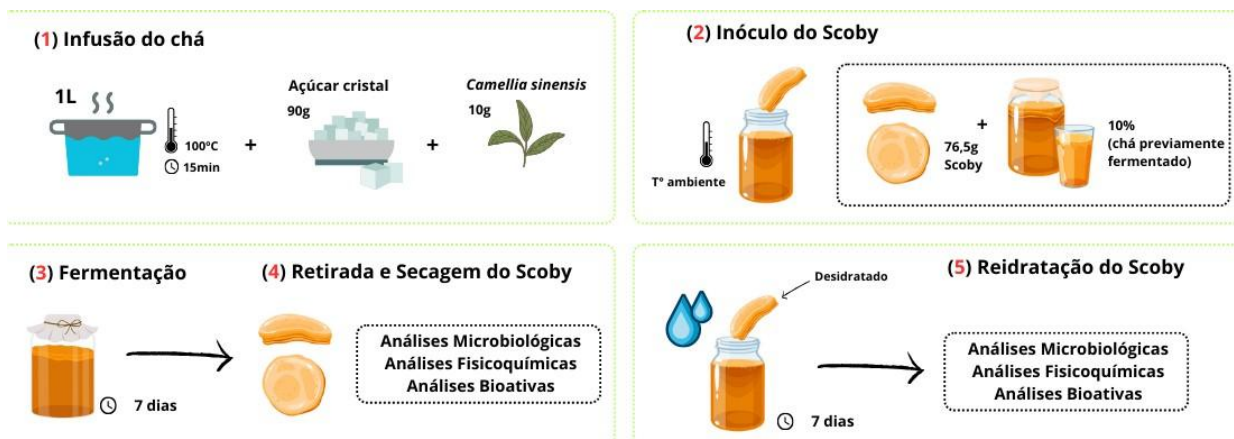
A pesquisa foi desenvolvida nos Laboratórios de Fisiologia Pós-Colheita, Laboratório de Cromatografia e Espectrometria, Laboratório de Físico-química de Alimentos e Laboratório de Microbiologia de Alimentos, todos do CCHSA, Campus III da Universidade Federal da Paraíba – UFPB, na cidade de Bananeiras- PB.

4.3 Elaboração da kombucha para fases experimentais

O processo de elaboração da kombucha se inicia no preparo do chá, por infusão de 10g das folhas de *Camellia sinensis* (chá verde) em água potável aquecida a 100°C, adicionado de 90g açúcar por 15 minutos e, à temperatura ambiente, inoculado um disco natural da *SCOBY* (76,5g), além de 10% de chá previamente fermentado (chá de arranque) conforme metodologia⁵⁷, onde ficou em fermentação por 7 dias.

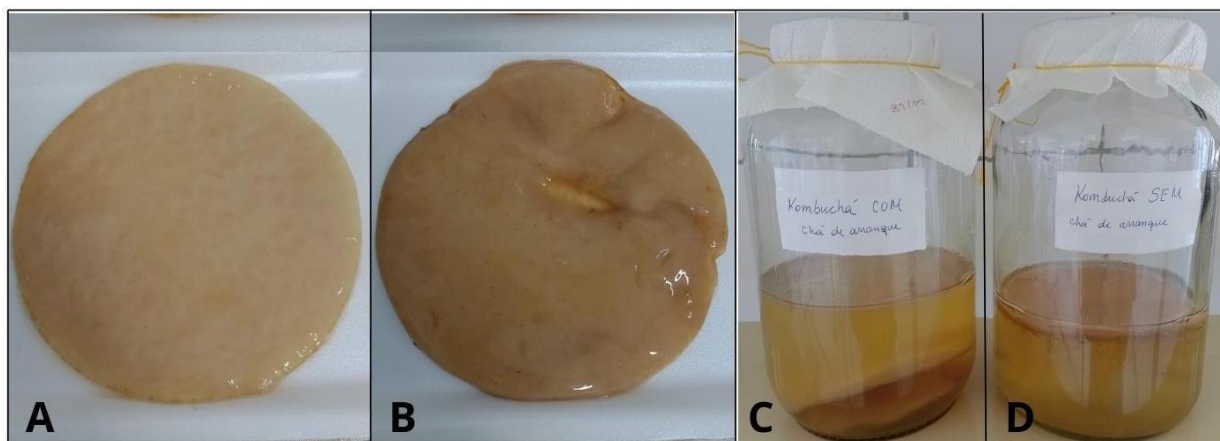
O experimento foi realizado em 2 fases distintas, primeiro a produção da bebida, que foi realizada em triplicata e definida por bebida kombucha com arranque (BKCA), que contém chá de arranque na fermentação e bebida kombucha sem arranque (BKSA), que não contém chá de arranque na fermentação. As amostras de *SCOBY* produzidas foram desidratadas em liofilizador (Modelo L-101, marca Liotop) para posteriores análises, e hidratadas novamente em um novo chá verde, sendo essa a segunda parte dos tratamentos. A Figura 1 ilustra o fluxograma do processo de produção da Kombucha e a figura 2 mostra as *SCOBYS* da kombucha úmida (SKU), e as bebidas inoculadas com arranque e sem arranque antes da desidratação.

Figura 1. Fluxograma do processo de elaboração da kombucha



Fonte: autoral, 2024.

Figura 2. SCOBYS da kombucha úmida e bebidas inoculadas com e sem chá de arranque



A e B: SCOBYS da kombucha úmida; C: Kombucha inoculado com chá de arranque; D: Kombucha inoculado sem chá de arranque. Fonte: autoral, 2024.

4.4 Secagem das SCOBYS por liofilização

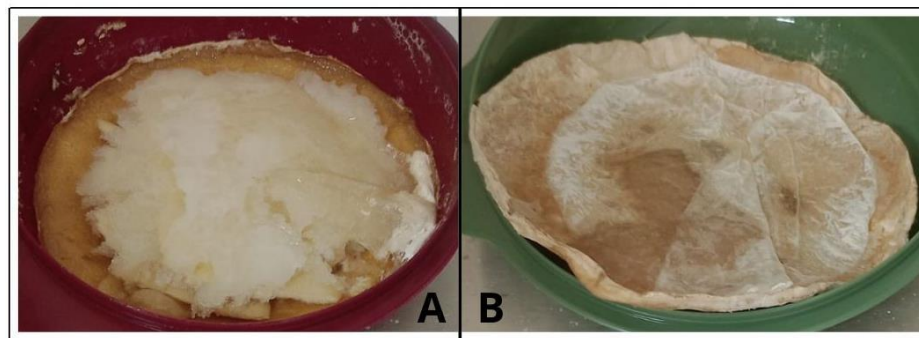
As SCOBYS inicialmente foram congeladas por 24 horas em ultrafreezer e posteriormente as amostras foram transferidas para o liofilizador no Laboratório de Análises físico-química de Alimentos. As amostras foram liofilizadas por 39 horas, sob temperatura à -55°C, da seguinte maneira:

SKCA – SCOBYS da kombucha com arranque;

SKSA – SCOBYS da kombucha sem arranque;

A figura 3 demonstra as *SCOBYS* após o processo de liofilização.

Figura 3. *SCOBY* da kombucha liofilizada



A: *SCOBY* de kombucha liofilizado com 10% de chá de arranque; B: *SCOBY* de kombucha liofilizado sem chá de arranque. **Fonte:** autoral, 2024.

4.5 Caracterização Microbiológica das *SCOBYS* úmida e seca e da bebida Kombucha antes e após hidratação da *SCOBY*

A composição microbiológica das amostras foi determinada de acordo com as metodologias do Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos⁵⁸. Sendo realizada a Contagem de bactérias ácido acéticas, Contagem de bactérias lácticas, Contagem de mesófilos aeróbios e Contagem de bolores e leveduras.

4.6 Análises físico-químicas e bioativas da bebida Kombucha produzida antes e após hidratação da *SCOBY*

A determinação do pH, Acidez titulável, Teor de sólidos solúveis (°Brix) e determinação da Cor foram realizadas de acordo com a metodologia proposta pela AOAC⁵⁹. A determinação de Compostos Fenólicos Totais foi realizada pelo método descrito por Waterhouse⁶⁰, a determinação de Açúcares Redutores se deu conforme o método proposto por Miller⁶¹, Flavonóis e Antocianinas descritas pelo método de Francis⁶² e determinação da Atividade antioxidante foi baseada pela captura do radical livre ABTS⁺⁶³.

4.7 Avaliação da capacidade de hidratação da SCOBY liofilizada

O material seco foi inoculado em um novo chá verde (*Camellia Sinensis*) por 7 dias para avaliar suas características de reidratação e fermentação. O cálculo é baseado no Índice de Reidratação, onde, a água absorvida durante o tempo de experimento será expressa conforme a equação 1:

Equação 1:

$$IR = \frac{\text{Peso reidratado (g)}}{\text{Peso seco (g)}}$$

4.8 Análise estatística

O estudo experimental foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com arranjo fatorial 2x2, sendo dois tratamentos (kombucha com chá de arranque e sem chá de arranque) e dois períodos de avaliação (antes e depois de liofilizado), com três repetições. Todas as determinações analíticas foram realizadas em triplicata.

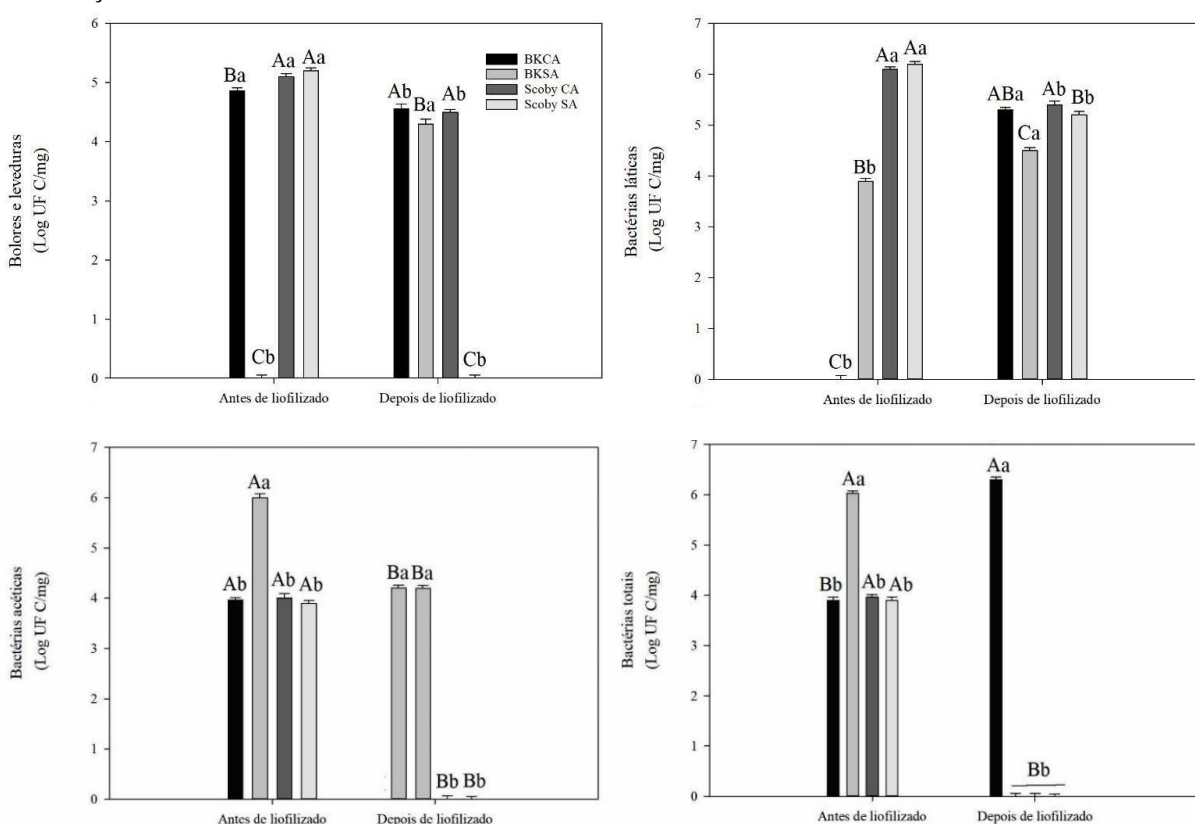
Com posse dos resultados, os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), utilizando-se o software Sisvar⁶⁴.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização microbiológica das *SCOBYS* úmida e seca e da bebida kombucha antes e após reidratação da *SCOBY*.

A representação da contagem microbiológica das bebidas kombucha com e sem arranque, bem como das culturas de *SCOBY*, antes e após o processo de liofilização, é apresentada na Figura 4, após a aplicação de transformação logarítmica.

Figura 4: Contagem padrão em placas de bolores e leveduras, bactérias ácido lácticas, bactérias ácido acéticas e bactérias totais nas bebidas kombucha com e sem arranque e das *SCOBYS* antes e após a liofilização.



Valores expressos pelas médias seguidas do desvio padrão. Letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença significativa entre os tratamentos na coluna pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença significativa do mesmo tratamento nas linhas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). **Fonte:** autoral, 2024.

Com relação aos bolores e leveduras, observa-se que os tratamentos testados pós liofilização apresentaram diferença significativa entre si ($p < 0,05$). É possível observar na figura 4A que a bebida Kombucha sem arranque (BKSA) antes da liofilização apresentou zero presença de bolores e leveduras, enquanto os demais tratamentos apresentaram valores médios próximos a 5 Log UFC/ml. Após a liofilização, a presença de bolores e leveduras foi inferior quando comparado com antes da liofilização, com exceção da *SCOBY* sem arranque,

que, após a liofilização, apresentou zero presença desses microrganismos. Esses resultados evidenciam a importância do chá de arranque na composição microbiana durante a fermentação. As *SCOBYS* liofilizadas com chá de arranque apresentaram uma maior presença de bolores e leveduras em comparação com as amostras sem chá de arranque.

Não houve crescimento de bactérias ácido lácticas nas bebidas fermentadas com chá de arranque, porém, a mesma foi identificada na bebida sem arranque (1×10^4 UFC/mL) e nas *SCOBYS* úmidas ($1,6 \times 10^6$ UFC/ml), o que resultou na presença delas no material após a liofilização ($2,8 \times 10^5$ na *SCOBYS* liofilizada com arranque e $1,8 \times 10^5$ na *SCOBYS* liofilizada sem arranque). Esta discrepância sugere uma resistência dessas bactérias ao processo de liofilização. Bactérias acéticas não foram detectadas nas amostras de *SCOBYS* após a liofilização, porém as bebidas fermentadas com o material seco obtiveram crescimento de 2×10^4 UFC/mL. As bactérias totais foram observadas, após a liofilização, apenas nas bebidas fermentadas com chá de arranque ($2,5 \times 10^6$ UFC/mL. Estes achados evidenciam a influência do chá de arranque na microbiota final da bebida kombucha e nas *SCOBYS* após o processo de liofilização.

A diversidade microbiana encontrada na kombucha apresenta uma associação com a origem geográfica da matéria-prima, conforme indicado por estudos similares ao experimento desta pesquisa^{65; 24}, que fornecem insights relevantes que podem explicar a taxa de sobrevivência e a variação dos microrganismos após o processo de desidratação.

Pode-se observar que, após a hidratação das *SCOBYS*, as bactérias acéticas estiveram presentes nas bebidas kombucha com arranque e sem arranque, obtendo um teor de 2×10^4 UFC/mL. Já a contagem de bactérias totais esteve presente na bebida kombucha com arranque ($2,5 \times 10^6$), após a hidratação das *SCOBYS*, alegando uma viabilidade celular na bebida após o processo de reidratação do material seco.

Estudos registraram contagens de bactérias acéticas e leveduras variando entre 10^5 a 10^7 UFC/mL após dez dias de fermentação utilizando chá verde^{3; 66}. Zhao et al.⁶⁷ também observaram contagens de leveduras da ordem de 10^6 UFC/mL após sete dias de fermentação utilizando o "raw Pu-erh tea", um tipo de chá verde característico do sul da província de Yunnan, na China. Em um estudo conduzido por FU et al.⁶⁵, em três dias de fermentação com chá verde, foram encontradas contagens de bactérias acéticas, leveduras e bactérias totais na faixa de 10^7 UFC/mL, enquanto as bactérias ácido-láticas foram encontradas em uma contagem de 10^5 UFC/mL, valores que foram mais altos que os resultados obtidos nesta

pesquisa. Apesar de haver uma redução na contagem dos microrganismos, compreende-se que é possível obter viabilidade celular após o processo de secagem, como descrito anteriormente^{16; 17}.

5.2 Caracterização físico-química e de compostos bioativos da bebida kombucha antes e após a hidratação das *SCOB*Ys

5.2.1 Análise das Propriedades Físicoquímicas

Os resultados expressos na Tabela 1 representam as médias dos parâmetros de sólidos solúveis, acidez titulável e pH da bebida kombucha produzida com e sem arranque, antes e depois da liofilização das *SCOB*Ys. Verificou-se que os fatores analisados nesta pesquisa (tratamentos e liofilização) apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$) sobre os parâmetros de qualidade físico-química das bebidas de kombucha.

Tabela 1: Valores médios para os parâmetros de Sólidos Solúveis (SS), acidez titulável (AT) e pH em bebida de kombucha antes e após reidratação.

Variáveis	Tratamentos	Bebida de kombucha	
		Antes de liofilizar	Depois de liofilizar
SS (Brix°)	KCA	5,6±0,2Bb	8,96±0,03Aa
	KSA	7,8±0,2Ab	8,96±0,05Aa
AT (%)	KCA	0,44±0,01Aa	0,15±0,003Bb
	KSA	0,26±0,005Ba	0,25±0,008Aa
pH	KCA	3,28±0,01Ab	4,04±0,03Aa
	KSA	3,22±0,01Ba	3,15±0,01Bb

Valores expressos pelas médias seguidas do desvio padrão. KCA: Kombucha com arranque; KSA: Kombucha sem arranque. Letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença significativa entre os tratamentos na coluna pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença significativa do mesmo tratamento nas linhas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). **Fonte:** autoral, 2024.

O conteúdo de SS variou entre os tratamentos e liofilização. É possível observar que no período antes da liofilização, o tratamento KSA apresentou os maiores conteúdos de SS, com valores médios 7,8°Brix, enquanto o tratamento KCA apresentou valores significativamente ($p < 0,05$) inferiores 5,6°Brix. Após a liofilização do material, ambos os tratamentos aumentaram seus conteúdos de SS, diferindo do período anterior (antes de liofilizado), no entanto, quando comparados entre si no mesmo período não apresentaram diferenças estatísticas, com valor médio de 8,96 brix° para os dois tratamentos. A diferença nos valores de sólidos solúveis entre as bebidas kombucha com e sem chá de arranque é evidente, destacando que a presença do chá previamente fermentado exibe uma maior capacidade de utilizar o substrato para a conversão de ácidos orgânicos⁶⁸.

Observa-se uma baixa redução desses compostos nas bebidas kombucha com arranque (KCA) e kombucha sem arranque (KSA) após a liofilização, indicando que não houve um consumo significativo da fonte de carboidratos pelos microrganismos. Isso sugere que tanto o tipo de açúcar utilizado quanto a temperatura durante o processo de secagem podem ter contribuído para a morte de parte dos microrganismos presentes na *SCOBY*, uma vez que as enzimas responsáveis pela hidrólise da sacarose são produzidas pelas bactérias e leveduras presentes⁶⁹.

Antes da liofilização, a bebida kombucha sem arranque (KSA) registrou uma AT de 0,26%, supostamente devido à ausência da influência do chá de arranque na nova fermentação com a *SCOBY*, resultando em uma acidez inferior à da bebida kombucha fermentada com arranque (0,44%). Após a hidratação das *SCOBYs* liofilizadas, o teor de acidez caiu significativamente ficando entre 0,15 e 0,25%. A concentração de oxigênio é um fator determinante na produção de ácidos orgânicos pelas enzimas, sugerindo que sistemas de fermentação com maiores quantidades de sacarose podem reduzir a disponibilidade de oxigênio no meio, limitando a capacidade dos microrganismos presentes em realizar processos de oxidação⁷⁰. A baixa produção de ácidos orgânicos pode ser influenciada por uma série de fatores, incluindo o tipo e a quantidade de açúcar e chá utilizados, bem como a temperatura e o tempo de fermentação⁷¹.

O pH registrado em todos os tratamentos, tanto antes quanto após a liofilização, encontrou-se dentro dos padrões citados, sugerindo uma atividade metabólica significativa das bactérias acéticas. Essas bactérias desempenham um papel crucial na degradação da glicose em ácido glucônico e etanol, que posteriormente é convertido em ácido acético. Sua presença

é aparentemente marcante após o processo de secagem, indicando uma notável resistência a baixas temperaturas. Esta observação está em linha com os achados já citados^{32, 28} e de outros estudos referenciados⁷².

Todos os valores obtidos durante a primeira fermentação (antes da liofilização) estão em consonância com estudos conduzidos por Velicanski et al.⁷³, Nefte-Sckocinska et al.⁶⁶, além das diretrizes da Legislação Brasileira de Kombucha²⁷. Estes estabelecem que valores ideais de acidez entre 0,44 e 0,45% e valores de pH entre 2,5 e 3,5, após uma fermentação de sete dias, sendo indicativos de uma bebida agradável e levemente ácida, certificando a qualidade do material.

Vale ressaltar que a bebida kombucha pode ocasionar problemas gastrointestinais se consumida com valores de pH inferiores a 2⁷⁴ e a produção controlada é essencial para um consumo seguro¹. Valores abaixo de pH 2,5 apresentam alta concentração de ácido acético, representando risco à saúde dos consumidores. Da mesma forma, valores de pH >4,2 podem comprometer a segurança microbiológica da bebida³.

5.2.2 Parâmetros de Cor na bebida Kombucha antes e após a hidratação das *SCOBYS*

O parâmetro cor representa uma característica simples e objetiva que avalia os comprimentos de onda não absorvidos por um material e refletidos por ele. O sistema de cor CIE Lab* analisa as coordenadas tridimensionais, em que L* indica a escala de preto (L=0) a branco (L=100), a* varia de verde (-60) a vermelho (+60), e b* varia de azul (-60) ao amarelo (+60)⁷⁵. Os resultados estatísticos da análise de cor nas amostras de bebida kombucha com e sem arranque, antes e após a liofilização das *SCOBYS*, estão resumidos na Tabela 2.

Tabela 2: Valores médios para os parâmetros de cor em bebida de kombucha antes e após reidratação.

Variáveis	Tratamentos	Bebida de kombucha	
		Antes de liofilizar	Depois de liofilizar
L*	KCA	37,43±0,06Aa	37,19±0Aa
	KSA	36,81±0,1Bb	37,32±0,4Aa

a*	KCA	-0,37±0,4Ab	0,12±0,02Aa
	KSA	0,06±0,01Aa	0,05±0,01Aa
b*	KCA	5,18±0,6Bb	6,42±0,06Aa
	KSA	6,64±0,05Aa	6,38±0,02Aa

Valores expressos pelas médias seguidas do desvio padrão. KCA: Kombucha com arranque; KSA: Kombucha sem arranque. Letras maiúsculas diferentes indicam uma diferença significativa entre os tratamentos na coluna pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam uma diferença significativa do mesmo tratamento nas linhas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). **Fonte:** autoral, 2024.

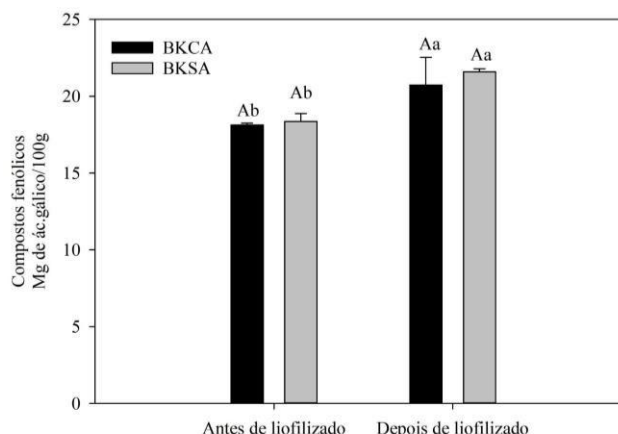
Foi observada uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras de kombucha com e sem arranque antes da liofilização. Os valores de coloração avermelhada (6,42) e amarelada (0,12) podem ser atribuídos à presença de pigmentos como compostos fenólicos do chá verde⁷⁶. Além disso, esses pigmentos podem influenciar na acidez da bebida final, uma vez que o aquecimento dos tecidos vegetais da *Camellia sinensis* durante a infusão do chá verde pode resultar na formação de ácidos orgânicos, como o pirrolidona carboxílico (PCA)⁷⁷. É importante notar que não houve diferença nas amostras após a liofilização.

As enzimas liberadas pelos microrganismos da *SCOBY* são capazes de biotransformar vários fitoquímicos presentes no chá em compostos fenólicos, um processo conhecido por resultar na diminuição da cor da bebida⁷⁸.

5.2.3 Análise do teor de compostos fenólicos totais

Os resultados apresentados na Figura 6 representam as médias dos compostos fenólicos totais na bebida kombucha produzida com e sem arranque, antes e após a liofilização das *SCOBYs*. Observou-se que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as bebidas com e sem arranque. No entanto, constatou-se uma diferença significativa entre elas antes e após a liofilização, com um aumento na quantidade desses compostos após o processo de secagem.

Figura 6: Teor de compostos fenólicos totais na bebida kombucha antes da liofilização e após a liofilização da *SCOBY*.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os tratamentos no mesmo período de avaliação pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) antes e depois de liofilizado no mesmo tratamento pelo teste de Tukey. As barras de erro representam o desvio padrão. **Fonte:** autoral, 2024.

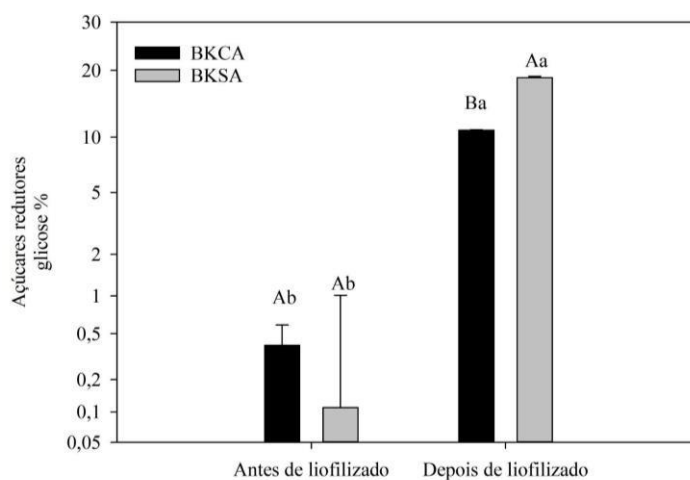
Como observado na Figura 6, não houve diferença significativa entre as amostras com arranque (18.13) e sem arranque (18.36) antes da liofilização. Porém houve uma concentração maior no teor de compostos fenólicos na bebida após o processo de liofilização na *SCOBY* (20.73 e 21.59 respectivamente), um ponto que pode ser explicado nos estudos de Zhu et al.⁷⁹, que verificou a estabilidade de catequinas em chá verde e comprovou que esses compostos possuem boa estabilidade em termos de degradação em meio ácido ($\text{pH} = 4,9$). Já que maior parte das bactérias que ficaram presentes no material foram do gênero ácido acético, tornando um ambiente ideal para estocagem e estabilidade de compostos fenólicos.

Estudos já demonstraram que pode haver aumento ou preservação de compostos fenólicos totais na bebida Kombucha durante sete dias em fermentação^{80; 16}, sendo este um tempo indicativo para produção desses compostos orgânicos.

5.2.2 Análise do teor de açúcares redutores

A Figura 7 apresenta os resultados da análise das médias do teor de açúcares redutores na bebida kombucha antes e após a hidratação da *SCOBY*. Foi observada uma diferença significativa ($p < 0,05$), quando comparado os períodos (antes e depois de liofilizado), indicando um aumento na quantidade desses compostos após o processo de secagem, contrariando as expectativas iniciais.

Figura 7: Teor de açúcares redutores na bebida kombucha com e sem arranque e antes e após a liofilização da *SCOBY*.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os tratamentos no mesmo período de avaliação pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) antes e depois de liofilizado no mesmo tratamento pelo teste de Tukey. As barras de erro representam o desvio padrão. **Fonte:** autoral, 2024.

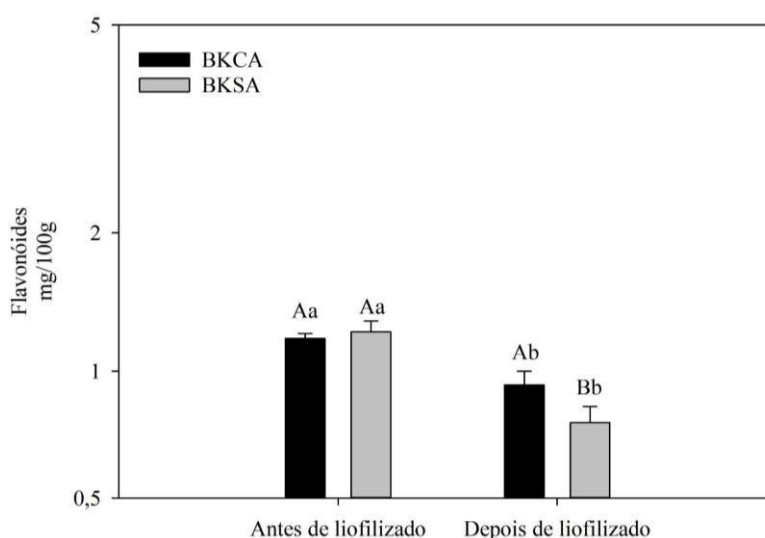
A bebida kombucha com arranque (BKCA) apresentou uma maior quantidade de açúcares redutores (0,40) em comparação com a kombucha sem arranque (BKSA), que registrou um valor de 0,11 antes da liofilização. Isso pode ser explicado pela presença de uma maior quantidade de bactérias acéticas, como observado na figura 4C, na kombucha sem arranque, as quais tiveram que se esforçar mais na quebra do substrato na ausência do arranque. Essas bactérias são responsáveis pela produção de enzimas que degradam esses açúcares, o que pode resultar na menor disponibilidade desses compostos na bebida kombucha sem arranque. Pode-se observar que após a liofilização houve um consumo mínimo de açúcares redutores durante a fermentação (BKCA= 10,8; BKSA= 18,6). Isso sugere que os microrganismos presentes não utilizaram esses açúcares para seu desenvolvimento, indicando uma baixa atividade enzimática responsável pelo consumo dos açúcares no meio.

Kombuchas de chá verde já apresentaram percentuais de açúcares redutores de até 0,51% após 14 dias de fermentação⁸¹, valores superiores aos obtidos no presente estudo. Isso pode ser explicado pela relação entre a concentração de chá e o tipo de açúcar utilizado. Pesquisas demonstraram uma redução de açúcares redutores para até 4% em kombuchas de chá verde, utilizando açúcar branco como fonte de carbono (120 g/ 1,5 L) em fermentação por 15 dias⁸², o que difere do presente estudo, que utilizou uma concentração de 90g/L de açúcar e obteve um valor menor de açúcares redutores.

5.2.3 Análise do teor de flavonóides

A figura 8 representa as médias do resultado da análise do teor de flavonóides realizada na bebida kombucha com e sem arranque e antes e após a hidratação das *SCOBYs*. Observou-se que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as bebidas com e sem arranque antes da liofilização. No entanto, após a liofilização, constatou-se diferença entre elas na redução da quantidade desses compostos após o processo de secagem.

Figura 8: Teor de flavonóides na bebida kombucha com e sem arranque e antes e após a liofilização da *SCOBY*.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os tratamentos no mesmo período de avaliação pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) antes e depois de liofilizado no mesmo tratamento pelo teste de Tukey. As barras de erro representam o desvio padrão. **Fonte:** autoral, 2024.

A redução no teor de flavonoides nos tratamentos após a liofilização (0,93e 0,76 respectivamente) sugere a degradação das enzimas presentes nas bactérias e leveduras do chá, corroborando a taxa de mortalidade celular após o processo de desidratação da *SCOBY*. Durante a fermentação, as enzimas podem biodegradar os flavonoides em moléculas menores ou polimerizá-los em moléculas de alto peso molecular, resultando em uma baixa detecção de sua quantidade^{83; 84; 85; 86; 87}, além da influência direta da temperatura no processo de desidratação.

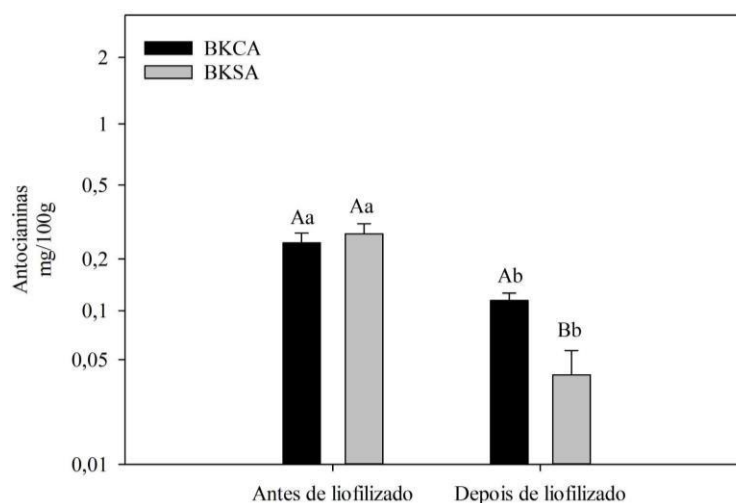
É relevante destacar que as mesmas enzimas liberadas pelos microrganismos presentes na *SCOBY* e no líquido fermentado possuem a capacidade de biodegradar os polifenóis, reduzindo sua quantidade. No entanto, elas também podem aumentar a quantidade de

polifenóis ao degradar flavonoides complexos em moléculas menores à medida que o tempo de fermentação avança.

5.2.3 Análise do teor de antocianinas

Na figura 9 está representada o resultado da análise do teor de antocianinas realizada na bebida kombucha com e sem arranque e antes e após a liofilização das *SCOBYS*.

Figura 9: Teor de antocianinas na bebida kombucha com e sem arranque e antes e após a liofilização da *SCOBYS*.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os tratamentos no mesmo período de avaliação pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) antes e depois de liofilizado no mesmo tratamento pelo teste de Tukey. As barras de erro representam o desvio padrão. **Fonte:** autoral, 2024.

Houve uma redução significativa ($p < 0,05$) na concentração de antocianinas nas bebidas após o processo de liofilização. A bebida kombucha com arranque antes da liofilização apresentou maior taxa de antocianinas (0,24) do que a bebida após a hidratação da *SCOBYS* (0,11), ainda enfatizando que a bebida com chá de arranque obteve maior viabilidade celular do que sem arranque (0,27e 0,04respectivamente).

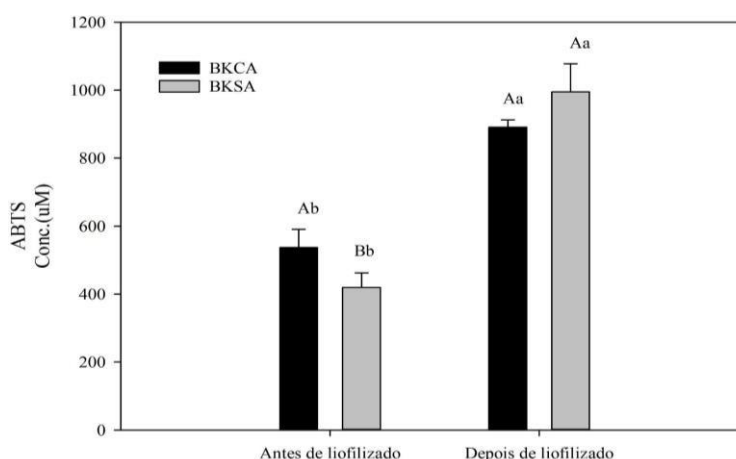
As antocianinas são compostos fenólicos pertencentes ao grupo dos flavonóides, pigmentos naturais amplamente distribuídos no reino vegetal, reconhecidos por suas propriedades antioxidantes⁸⁸. Estudos prévios indicam que tanto as antocianinas quanto os polifenóis são sensíveis a altas temperaturas⁸⁹, sugerindo que durante a liofilização, pode ter ocorrido a degradação de alguns constituintes químicos. Embora os flavonoides demonstrem

uma melhor estabilidade em condições ácidas, os polifenóis complexos estão sujeitos à degradação no meio ácido da Kombucha^{79; 90}.

5.3 Análise da capacidade antioxidante de absorção do radical ABTS

Os resultados expressos na figura 10 representam as médias do parâmetro de capacidade antioxidante da bebida kombucha produzida com e sem arranque, antes e depois da liofilização das *SCOBYs*. Verificou-se que os fatores analisados (tratamentos e liofilização) apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$) no teor de absorção do radical ABTS, após o processo de liofilização.

Figura 10: Capacidade de absorção do radical ABTS na bebida kombucha com e sem arranque e antes e após a liofilização da *SCOBY*.



Letras maiúsculas diferentes indicam diferença entre os tratamentos no mesmo período de avaliação pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) antes e depois de liofilizado no mesmo tratamento pelo teste de Tukey. As barras de erro representam o desvio padrão. **Fonte:** autoral, 2024.

A atividade antioxidante analisada pelo método de absorção do radical ABTS aumentou após o processo de secagem (BKCA: 891,3 e BKSA: 994,8µM Trolox/L), possuindo valores superiores às bebidas fermentadas antes da liofilização das *SCOBYs* (536,3 e 397,8µM Trolox/L respectivamente). É possível que essa interação seja atribuída aos peptídeos liberados pelas leveduras durante o processo de autólise. Esses peptídeos podem desempenhar um papel importante na atividade antioxidante, influenciando as propriedades dos compostos fenólicos presentes na bebida⁹¹, além de ser um resultado interessante, atingindo uma maior capacidade antioxidante após o processo de liofilização das *SCOBYs*.

A atividade antioxidante é diretamente influenciada pela presença de compostos bioativos, tais como polifenóis e flavonoides, cuja concentração é geralmente elevada em bebidas e alimentos fermentados⁹². Essa interação ocorre entre os fitoquímicos e as mudanças nas estruturas dos compostos fenólicos do chá, especialmente as catequinas, que são modificadas pelas enzimas microbianas durante o processo de fermentação⁹³.

Para alcançar uma bebida com alta capacidade antioxidante, é essencial considerar fatores como a concentração da fonte de carbono, temperatura, pH e taxa do inóculo utilizados. Esses parâmetros, juntamente com as variações entre diferentes *SCOBYs*, desempenham um papel significativo na atividade antioxidante da kombucha^{92; 93; 94}.

Kombuchas preparadas com chá verde e chá Zijuan, uma cultivar especial da *Camellia sinensis* originária da província de Yunnan, demonstraram uma atividade antioxidante inicial de 10000 e 12000 uM Trolox/mL, respectivamente. Essa atividade antioxidante permaneceu inalterada após 14 dias de fermentação⁹⁵, valores superiores aos resultados obtidos nesta pesquisa.

5.4 Índice de reidratação e capacidade de fermentação das *SCOBYs*

Na tabela 3 são demonstrados os valores do índice de reidratação nas *SCOBYs* liofilizadas com arranque e sem arranque, podendo observar que houve uma boa absorção do material após o remolho (figura 11).

Tabela 3: Índice de reidratação das *SCOBYs* liofilizadas com e sem arranque após a reidratação em um novo chá verde.

	Peso úmido	Peso seco	Reidratado	IR
SKCA	91,3 a	35,1 a	73 g a	2,08% b
SKSA	94,8 a	13,9 b	55,6 g b	4,00% a

SKCA: *SCOBY* da kombucha com arranque; SKSA: *SCOBY* da kombucha sem arranque. **Fonte:** autoral, 2024.

Figura 11: kombuchas inoculadas com as *SCOBYS* liofilizadas após 7 dias em fermentação.



À esquerda: bebida kombucha fermentada com *SCOBYS* liofilizada com arranque; À direita: bebida kombucha fermentada com *SCOBYS* liofilizada sem arranque. **Fonte:** autoral, 2024.

Conforme destacado na Tabela 3, a SKA possuía o peso inicial de 91,3g após os primeiros 7 dias de fermentação, enquanto a SKSA possuía 94,8g. Após a liofilização, as amostras de SKCA e SKSA obtiveram os pesos de 35,1 e 13,9g respectivamente. Foram inoculadas em um novo chá verde e, após 7 dias em fermentação, as *SCOBYS* obtiveram peso de 73g (SKCA) e 55,6g (SKSA).

A *SCOBYS* liofilizada com arranque apresentou um índice de reidratação (IR) de 2,08%, enquanto a *SCOBYS* liofilizada sem arranque registou um valor de 4% no IR. Esses resultados indicam uma absorção eficiente do material após a reidratação⁵⁶. Além disso, conforme ilustrado na Figura 11, observa-se que o material recuperou sua estrutura similar a inicial, incluindo o crescimento de uma nova camada de *SCOBYS* e de filamentos provenientes da viabilidade celular de bolores e leveduras.

Essa informação é crucial, uma vez que o processo de desidratação prolonga o tempo de armazenamento de um alimento. Quando o material recupera sua estrutura inicial após a reidratação, abre-se espaço para estudos pioneiros sobre desidratação e comercialização da *SCOBYS* da kombucha. Além disso, os compostos produzidos na bebida após a liofilização, como demonstrado nas análises anteriores, também se tornam objeto de interesse para investigações adicionais.

6 CONCLUSÃO

As bebidas fermentadas com chá de arranque após a liofilização apresentaram menores quantidades na contagem microbiológica para bolores e leveduras, bactérias ácido lácticas e bactérias ácido acéticas. Maior quantidade no teor de SS, pH, compostos fenólicos, atividade antioxidante ABTS e açúcares redutores. E menor produção nos conteúdos de AT, flavonóides e antocianinas. Não apresentou variações nos parâmetros de cor.

As bebidas fermentadas com chá de arranque demonstraram um desempenho superior na produção dos compostos bioativos da bebida, ressaltando a importância da adição de chá previamente fermentado para a elaboração do produto final. Após a liofilização, observou-se uma redução na taxa de sobrevivência dos microrganismos, determinando uma produção mais baixa de compostos flavonóides e antocianinas, porém, uma maior resistência foi observada para bolores, leveduras, bactérias ácido lácticas e ácido acéticas. Além disso, as fermentações realizadas com as *SCOBYS* liofilizadas apresentaram uma produção de compostos fenólicos e capacidade antioxidante que pode ser considerada interessante, podendo conferir resultados satisfatórios quanto à qualidade da bebida.

Com base neste estudo pioneiro na área da reidratação da *SCOBY*, é imprescindível realizar pesquisas adicionais sobre a resistência dos microrganismos após o processo de liofilização, a fim de avaliar mais detalhadamente a capacidade de fermentação do material seco. Esses estudos podem fornecer insights valiosos sobre a viabilidade e eficácia da aplicação da desidratação na produção de *SCOBY* de kombucha e podem abrir caminho para o desenvolvimento de métodos mais eficientes de preservação, armazenamento e comercialização da *SCOBY*, como uma forma de expandir o consumo e a cadeia produtiva desse produto.

7 LISTA DE REFERÊNCIAS

- ¹ KAPP, J. M.; SUMNER, W. Kombucha: a systematic review of the empirical evidence of human health benefit. **Annals of Epidemiology** 2019, v 30. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ² OJO, A. O.; SMIDT, O.; Microbial Composition, Bioactive Compounds, Potential Benefits and Risks Associated with Kombucha: A Concise Review. **Fermentation** 2023, v 9. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ³ CARDOSO, R. R.; NETO, R. O.; D'ALMEIDA, C. T.; NASCIMENTO, T. P.; PRESSETE, C. G.; AZEVEDO, L.; MARTINO, H. S. D.; CAMERON, L. C.; FERREIRA, M. S. L.; & BARROS, F. A. R.; Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. **Food Research International** 2020, v 128. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁴ SILVA JÚNIOR, J. C.; MAGNANI, M.; COSTA, W. K. A.; MADRUGA, M. S.; OLEGÁRIO, L. S.; BORGES, G. S. C.; DANTAS, A. M.; LIMA, M. S.; LIMA, L. C.; BRITO, I. L.; CORDEIRO, A. M. T. M.; Traditional and flavored kombuchas with pitanga and umbu-cajá pulps: Chemical properties, antioxidants, and bioactive compounds. **FoodBioscience** 2021, v 44, part A. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁵ CHEN C.; LIU, B. Y.; Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. **Journal of Applied Microbiology** 2000, v 89. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁶ SILVA JÚNIOR J. C.; MAFALDO I. M.; BRITO I. L.; CORDEIRO A. M. T. M.; Kombucha: Formulation, chemical composition, and therapeutic potentialities. **Current Research in Food Science** 2022, v 5. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁷ PAKRAVAN, N.; MAHMOUDI, E.; HASHEMI, SEYED-ALI; KAMALI, J.; HAJIAGHAYI, R.; RAHIMZADEH, M.; MAHMOODI, V.; Cosmeceutical effect of ethyl acetate fraction of Kombucha tea by intradermal administration in the skin of aged mice. **Journal of Cosmetic Dermatology** 2018, v 17. [[Disponível em](#)],

Acesso em: 23 abr. 2024.

⁸ ANTOLAK, H.; PIECHOTA, D.; KUCHARSKA, A.; Kombucha Tea—A Double Power of Bioactive Compounds from Tea and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts (*SCOBY*). **Antioxidants** 2021, v 10. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁹ ADURI, P.; RAO, K. A.; FATIMA, A.; KAUL, P.; SHALINI, A.; Study of biodegradable packaging material produced from *SCOBY*. **Research Journal of Life Science Bioinformatics, Pharmaceutical and Chemical** 2019, v 5. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

¹⁰ STEGEMANN, C.; DA ROSA, A. A.; DE SOUZA, M. H.; Biofabricação: um horizonte sustentável para o mundo da moda. **Revista e-TECH: Tecnologias para Competitividade Industrial** 2022, v 15. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

¹¹ LAAVANYA, D.; SHIRKOLE, S.; BALASUBRAMANIAN, P.; Current challenges, applications and future perspectives of *SCOBY* cellulose of kombucha fermentation. *Journal of Cleaner Production* 2021, v 295. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

¹² BOLLA, P. A.; SERRADELL, M. A.; URRAZA, P. J.; ANTONI, G. L.; Effect of freeze-drying on viability and in vitro probiotic properties of a mixture of lactic acid bacteria and yeasts isolated from Kefir. **Journal of Dairy Research** 2010, v 78. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

¹³ GUERGOLETT, K. B.; SIVIERI, K.; TSURUDA, A. Y.; MARTINS, E. P.; SOUZA, J. C. B.; ROIG, S. M.; HIROOKA, E. Y.; GARCIA, S.; Dried Probiotics for Use in Functional Food Applications. **Food Industrial Processes - Methods and Equipment** 2012, v 1. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

¹⁴ HUANG, S.; MÉJEAN, S.; RABAH, H.; DOLIVET, A.; LOIR, Y. L.; CHEN, X. D.; JAN, G.; JEANTET, R.; SCHUCK, P.; Double use of concentrated sweet whey for growth and spray drying of probiotics: Towards maximal viability in pilot scale spray dryer. **Journal of Food Engineering** 2017b, v 196. [[Disponível em](#)], Acesso

em: 23 abr. 2024.

¹⁵ MORETTI, A. F.; GAMBA R. R.; COSTA, M. C.; ANTONI, G.; PELÁEZ, Á. M. L.; Protective Effect of Lyophilization on Fermentative, Microbiological and Sensory Properties of Kefir. **International Journal of Biochemistry and Pharmacology** 2019, v 1. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

¹⁶ SANTANA, Débora Correia. **Kombucha e seus derivados desidratados e liofilizados: caracterização físico-química, microbiológica e avaliação de toxicidade "in vivo"**. Dissertação (Mestra em Biotecnologia Vegetal). Universidade de Vila Velha, VILA VELHA, 2021. 51 f.: il. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

¹⁷ RODRIGUES, Deisiane Januário. **Cinética de secagem do SCOBY da Kombucha**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Agroindústria). Universidade Federal da Paraíba, BANANEIRAS, 2022. 44 f.: il. [Arquivo pessoal], Acesso em: 23 abr. 2024.

¹⁸ SECAGEM e desidratação – Portal Embrapa. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

¹⁹ LAUREYS, D.; BRITTON, S. J; DE CLIPPELEER, J.; Kombucha Tea Fermentation: A Review. **Journal of the American Society of Brewing Chemists** 2020, v 78. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

²⁰ FERNANDES, L. A.; SILVA, L. M. R.; SOUSA, P. H. M.; AMARAL R. Q. G.; COSTA, E. A.; Kombucha: estudo sobre formulações e principais resultados. **V Encontro de Iniciação Acadêmica** 2021, v 5. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

²¹ KATH, M. PENETADO, C.; FRANÇA, C.; ARAUJO, D.; MOREIRA, D.; MINELLA, G.; LEAL, T.; LEDRA, C.; NUNES, H.; DELWING, A.; Desenvolvimento e análise sensorial de kombucha artesanal a partir de plantas alimentícias não convencionais (PANC). **Anais do XI Congresso Brasileiro de Agroecologia** 2020, v 15. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

²² RODRIGUES, R. S.; MACHADO M. R. G.; BARBOZA G. G. R.; SOARES L.

S.; HEBERLE T.; LEIVAS Y. M.; Características físicas e químicas de kombucha à base de chá de hibisco (*Hibiscus sabdariffa*, L.). **Anais 6º Simpósio de Segurança Alimentar** 2018, v 6. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

²³ SILVA, Z. R. S.; BEZERRA, A. J. C.; ARAÚJO, R. J. O.; LOPES, A. B. P. C.; COELHO, R. M. D.; Desenvolvimento de kombucha a partir de produtos regionais do Nordeste. **Anais do IV Congresso Nacional de Pesquisa e Ensino em Ciências** 2019, v 4. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

²⁴ DE FILIPPIS, F.; TROISE, A. D.; VITAGLIONE, P.; ERCOLINI, D.; Different Temperatures Select Distinctive Acetic Acid Bacteria Species and Promotes Organic Acids Production during Kombucha Tea Fermentation. **Food Microbiol.** 2018, v 73. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

²⁵ SILVA JÚNIOR, Jayme César da. **Kombucha tradicional e saborizadas com pitanga (*eugenia uniflora* L.) e com umbu-cajá (*spondia tuberosa*): caracterização química, compostos voláteis, bioativos e potencial antioxidante.** Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal da Paraíba, JOÃO PESSOA, 2021. 92 f.: il. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

²⁶ MENDONÇA, G. R.; PEREIRA, A. L. F.; FERREIRA, A. G. N.; NETO, M. S.; DUTRA, R. P.; ABREU, V. K. G.; Propriedades antioxidantes e efeitos antimicrobianos da kombucha: Revisão da evidência científica. **Revista Contexto & Saúde** 2020, v. 20, [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

²⁷ BRASIL. **Instrução Normativa nº 41, de 17 de setembro de 2019.** Estabelecer o Padrão de Identidade e Qualidade da Kombucha em todo o território nacional, na forma desta Instrução Normativa e do seu Anexo. Diário Oficial da União. 45 Brasília. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

²⁸ JAYABALAN, R.; MALINI, K.; SATHISHKUMAR, M.; SWAMINATHAN, K.; YUN, S.-E.; Biochemical characteristics of tea fungus produced during kombucha fermentation. **Food Science and Biotechnology** 2010, v 3. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

- ²⁹ MAY, A.; NARAYANAN, S.; ALCOCK, J.; VARSANI, A.; MALEY, C.; AKTIPI, A.; Kombucha: A novel model system for cooperation and conflict in a complex multi-species microbial ecosystem. **PeerJ** 2019, v 9. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ³⁰ AMARASEKARA, A. S.; WANG, D.; GRADY, T. L.; A comparison of Kombucha SCOBY bacterial cellulose purification methods. **SN Applied Sciences** 2020, v 2. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ³¹ ABUDUAIBIFU, A.; & TAMER, C. E.; Evaluation of physicochemical and bioaccessibility properties of goji berry kombucha. **Jornal de Processamento e Preservação de Alimentos** 2019, v 43. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ³² SA'DIYAH, L.; LESTARI, K. A. P.; Pengaruh Lama Pemanasan Terhadap Nilai ALT Bakteri Teh Kombucha. **Journal of Pharmacy and Science** 2020, v 5. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ³³ LIU, C.; HSU, W.; LEE, F.; LIAO, C.; The isolation and identification of microbes from a fermented tea beverage, Haipao, and their interactions during Haipao fermentation **Microbiol Alimentar** 1996, v13. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ³⁴ GREENWALT, C. J.; STEINKRAUS K. H.; LEDFORD, R. A.; Kombucha, the Fermented Tea: Microbiology, Composition, and Claimed Health Effects **Journal of Food Protection** 2000, v 63. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ³⁵ GREENWALT, C. J.; LEDFORD, R. A.; STEINKRAUS, K. H.; Determination and Characterization of the Antimicrobial Activity of the Fermented Tea Kombucha. **LWT - Food Science and Technology** 1998, v 31. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ³⁶ BASAK, A.K.; ASWATHYMOL, R.; BENZEGAR, A.; AGUNDE, R.; DINAKAR, S.; Absorption of anthocyanin dye and its first order kinetics on bacterial cellulose produced by fermentation of black tea. **OSR J. Biotechnol. Biochem** 2015, v 1. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ³⁷ ADURI, P.; RAO, K. A.; FATIMA, A.; KAUL, P.; SHALINI, A.; Study of

biodegradable packaging material produced from *SCOB*. **Res. J. Life Sci. Bioinf.**

Pharm. Chem 2019, v5. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

³⁸ SHARMA, C.; BHARDWAJ, N. K.; Fabrication of natural-origin antibacterial nanocellulose films using bio-extracts for potential use in biomedical industry. **Int. J. Biol. Macromol** 2020, v 145. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

³⁹ KAMINSKI, K.; JAROSZ, M.; GRUDZIEN, J.; PAWLIK, J.; ZASTAWNIAK, F.; PANDYRA, P.; KOŁODZIEJCZYK, A. M. Hydrogel bacterial cellulose: A path to improved materials for new eco-friendly textiles **Cellulose** 2020, v 27. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁴⁰ NAJAFPOUR, A.; RAJABI KHORRAMI, A.; ABEROOMAND AZAR, P.; SABER TEHRANI, M. Study of heavy metals biosorption by tea fungus in Kombucha drink using Central Composite Design **Journal of Food Composition and Analysis** 2020, v 86. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁴¹ MURUGESAN, GS; SATHISHKUMAR, M.; SWAMINATHAN, K. Supplementation of fungal biomass tea waste as a dietary ingredient for broilers. **Bioresource Technology** 2005, v 96. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁴² ABKOM. **Associação brasileira de Kombucha**, 2020. Página inicial. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁴³ SEBRAE. **Consumidores querem sucos saudáveis**, 2023 Disponível em: [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁴⁴ DOS SANTOS, W. C. R; BARBOSA, C. D.; LACERDA, I. A. C.; Obtenção e caracterização de kombucha de chá preto. **69ª Reunião Anual da SBPC Ciência e Tecnologia de Alimentos** 2017, v 69. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁴⁵ LIMA, J. D.; MAZZAFERA P.; MORAES, W. S.; SILVA, R. B.; Chá: aspectos relacionados à qualidade e perspectivas. **Ciência Rural** 2009, v 39. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁴⁶ GLOBAL. **Kombucha Tea Market to Grow at a CAGR of 25.9% between 2021-2026**. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

- ⁴⁷ CELESTINO, S. M.; **Princípios de Secagem de Alimentos** 2010. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Planaltina, DF: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁴⁸ BORGES, S.; BARBOSA J.; SILVA, J.; GOMES, A. M.; PINTADO M.; SILVA, C. L. M.; MORAIS, A. M. M. B.; TEIXEIRA, P.; A feasibility study of *Lactobacillus plantarum* in fruit powders after processing and storage. **International Journal of Food Science and Technology** 2016, v 51. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁴⁹ JAYAS, D.S.; Food Dehydration. **Food Sciences** 2016, v 1. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁵⁰ IBARZ, A.; BARBOSA-CANOVAS, G. V.; **Operaciones Unitarias en la Ingeniería de Alimentos** 2005. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁵¹ GUINÉ, R. P. F.; PINHO, S.; BARROCA, J. M.; Study of the convective drying of pumpkin (*Cucurbita maxima*). **Food and Bioproducts Processing** 2011, v 89. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁵² MACHADO, A.; VARRESSE, D.; DORTH, G.; MOREIRA, T.; Teste de Viabilidade do Kombucha em pó, com caráter funcional. **Revista Acadêmica** 2019. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁵³ GAGGIÀ, F.; BAFFONI, L.; GALIANO, M.; NIELSEN, D. S; JAKOBSEN, R. R.; CASTRO-MEJÍA, J. L.; BOSI, S.; TRUZZI, F.; MUSUMECI, F.; DINELLI, G.; GIOIA, D. D.; Kombucha Beverage from Green, Black and Rooibos Teas: A Comparative Study Lookingat Microbiology, Chemistry and Antioxidant Activity. **Nutrients** 2019, v 11. [[Dsponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁵⁴ KROKIDA, M. K.; MARINOS-KOURIS, D. Rehydration kinetics of dehydrated products. **Journal of Food Engineering** 2003, v 57. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁵⁵ JOKICEVIC, K.; BROECKX, G.; VANDENHEUVEL, D.; BOECK, I.; ALLONSIUS, C. N.; LEBEER, S.; KIEKENS, F. Processing of potential upper respiratory tract probiotics by spray drying. **Drying Technology**,

International Journal 2020, v 39. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁵⁶ BRUNO, E. G. R.; LIMA A. R. D. G.; OLIVEIRA, A. J.; COSTA, M. L.; COUTO S. M.; CHRISTINE, MACHADO-OLIVEIRA, M.; Bioembalagem com celulose bacteriana do SCOBY de kombucha. **Revista Brasileira de Processos Químicos** 2021, v 2. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁵⁷ CASTRO, C.; RIBEIRO, T.; RIBAS, P. Produção e Caracterização de Kombuchas obtidas a partir de Chá Verde e Chá de Hibisco com a adição de Camu-Camu. **Doyti submissões** 2021. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁵⁸ SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI M. M.; **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos** 2017. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁵⁹ ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (A.O.A.C.). **Official Methods of Analysis** 2013, v 1. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁶⁰ WATERHOUSE, A. Folin-ciocalteu micro method for total phenol in wine. **American journal of enology and viticulture** 2006. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁶¹ MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. , **Analytical Chemistry** Washington 1959, v 31. [[Arquivo pessoal](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁶² MEDA, A.; LAMIEN, C. E.; ROMITO, C.; MILLOGO, J.; NACOUлма, O. G.; Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well their radical scavenging activity, **Food Chemistry** 2005, v 91. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁶³ RUFINI, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D.; Metodologia Científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP), **Folhetos** 2006. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

- ⁶⁴ FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to effects split plot type designs. *Revista brasileira de biometria*, 2019, v 37. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁶⁵ FU, C.; YAN, F.; CAO, Z.; XIE, F.; LIN, J. Antioxidant activities of Kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotics during storage. **Food Science and Technology** 2014, v 34. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁶⁶ NEFFE-SKOCIŃSKA, K.; SIONEK, B.; SCIBISZ, I.; KOLOZIN-KRAJEWSKA, D. Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory Properties. **Journal of Food** 2017, v 15. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁶⁷ ZHAO, Z.; SUI, Y.; WU, H.; ZHOU, C.; HU, X.; ZHANG, J. Flavour chemical dynamics during fermentation of Kombucha tea. **Emirates Journal of Food and Agriculture** 2018, v 30. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁶⁸ JAYABALAN, R., MALBAŠA, R., V.; LONČAR, E., S.; VITAS, J., S.; SATHISHKUMAR, M. A review on kombucha tea—microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. **Comprehensive reviews in food science and food safety** 2014, v 13. [[Disponível em](#)], Acesso em: 27 abr. 2024
- ⁶⁹ VILLARREAL-SOTO, S. A.; BEAUFORT, S.; BOUAJILA, J.; SOUCHARD, J. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. **Journal of Food Science** 2018, v 83. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁷⁰ LEAL, Rayrone Suelyton da Silva. **Influência da concentração de carboidrato na produção de kombucha**. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Química Industrial). Universidade Federal da Paraíba, JOÃO PESSOA, 2022. 53 f.: il. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁷¹ JAKUBCZYK, K.; KALDUNSKA, J.; KOCHMAN, J.; JANDA, K. Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. **Antioxidants** 2020, v 9. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁷² DADA, A. P.; LAZZARI, A.; CESTÁRIO, A. C. de O. .; SILVA, D. S. da .; SARAIVA, B. R. .; ROSA, C. I. L. F. .; MATUMOTO-PINTRO, P. T. Characterization of kombucha from green tea . *Research, Society and Development*

2021, v 10, [Disponível em], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁷³ VELIĆANSKI, A. S.; CVETKOVIC, D. D; MARKOV, S. L.; SAPONJAC, V. T. T; VULIC, J. J. 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** 2014, v 2. [Disponível em], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁷⁴ NUMMER, B. A. Kombucha brewing under the Food and Drug Administration model food code: Risk analysis and processing guidance abstract. **Journal of Environmental Health** 2013, v 76. [Disponível em], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁷⁵ PATHARE, P. B.; OPARA, U. L.; AL-SAID, F. A. J. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food and Bioprocess Technology** 2013, v 6. [Disponível em], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁷⁶ SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia do produto natural ao medicamento. **Porto Alegre: Artmed** 2017. [Disponível em], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁷⁷ PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R.; CLADERA-OLIVERA, F. Alimentos de Fennema. **Fennema's food chemistry** 2010. [Disponível em], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁷⁸ CHAKRAVORTY, S.; BHATTACHARYA, S.; CHATZINOTAS, A.; CHAKRABORTY, W.; BHATTACHARYA, D.; GACHHUI R. Kombucha tea fermentation: microbial and biochemical dynamics. **Int. J. Food Microbiol** 2016, v 220. [Disponível em], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁷⁹ ZHU, Q. Y.; ZHANG, A.; HUANG, Y.; CHEN, Z. Stability of Green Tea Catechins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 2017, v 45. [Disponível em], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁸⁰ LOBO, R.O.; DIAS, F.O.; SHENOY, C.K. Kombucha for healthy living: Evaluation of antioxidant potential and bioactive compounds. **International Food Research Journal** 2017, v 24. [Disponível em], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁸¹ AUNG, T.; EUN, J. Production and characterization of a novel beverage from laver

(*Porphyra dentata*) through fermentation with kombucha consortium. **Food Chemistry** 2021, v 350. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁸² BARBOSA, C. D.; UETANABARO, A. P. T.; SANTOS, W. C. R.; CAETANO, R. G.; ALBANO, H.; KATO, R.; COSENZA, G. P.; AZEREDO, A.; GÓES-NETO, A.; ROSA, C. A.; TEIXEIRA, P.; ALVARENGA, V. O.; LACERDA, I. C. A. Microbial–physicochemical integrated analysis of kombucha fermentation. **Lwt** 2021, v. 148. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁸³ VICENTE FILHO, João Ricardo. **Análise e caracterização cinética de kombucha obtida a partir de café verde 100% arábica**. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2023. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁸⁴ WATAWANA, M. I.; JAYAWARDENA, N.; RENASINGHE, S.; VIDURANGA, Y. Evaluation of the Effect of Different Sweetening Agents on the Polyphenol Contents and Antioxidant and Starch Hydrolase Inhibitory Properties of Kombucha. **Journal of Food Processing and Preservation** 2017, v 41. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁸⁵ AMARASINGHE, H.; WEERAKKODY, N. S.; WAISUNDARA, V. Y. Evaluation of physicochemical properties and antioxidant activities of Kombucha “Tea Fungus” during extended periods of fermentation. **Food Science and Nutrition** 2018, v 6. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁸⁶ CHU, S. C.; CHEN, C. Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. **Food Chemistry** 2006, v 98. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁸⁷ JAYABALAN, R.; MARIMUTHU, S.; SWAMINATHAN, K. Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. **Food Chemistry** 2007, v 102. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

⁸⁸ FALCÃO, L.D.; GAUCHE, C.; BARROS, D.M.; PRUDÊNCIO, E.S.; GRIS, E.F.; SANT'ANNA, E.S.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Stability of anthocyanins from grape (*Vitis vinifera* L.) skins with tannic acid in a model system. **Italian Journal of Food Science** 2004, v 16. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.

- ⁸⁹ ROSA, E. D. S. **Características nutricionais e fitoquímicas em diferentes preparações e apresentações de *Hibiscus sabdariffa* L. (hibisco, vinagreira, rosela, quiabo-de-angola, caruru-da-guiné) – *Malvaceae***. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Nutrição). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, PORTO ALEGRE, RS. 2013. 45f. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁹⁰ JAYABALAN, R.; SUBATHRADEVI, P.; MARIMUTHU, S.; SATHISHKUMAR, M.; SWAMINATHAN, K. Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. **Food Chemistry** 2008, v 109. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁹¹ AYED, L., BEM, A. S.; HAMDI, M. Development of a beverage from red grape juice fermented with the kombucha consortium. **Annals of microbiology** 2017, v 67. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁹² DEĞİRMENCIOĞLU, YILDIZ, E.; SAHAN, Y.; GÜLDAS, M.; NURCAN, O. G. Impact of tea leaves types on antioxidant properties and bioaccessibility of kombucha. **Journal of Food Science and Technology** 2021, v 58. Disponível em: [[Disponível em](#)] Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁹³ JAFARI, R.; NAGHAVI N. S.; KHOSRAVI-DARANI, K.; DOUDI, M.; SHAHANIPOUR K. Kombucha microbial starter with enhanced production of antioxidant compounds and invertase. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology** 2020, v 29. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁹⁴ MALBAŠA, R. V; LONČAR, E. S.; VITAS, J. S.; ČANADANOVIĆ-BRUNET, J. M. Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. **Food Chemistry** 2011, v 127. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.
- ⁹⁵ ZOU, C.; LI, R.; CHEN, J.; WANG, F.; GAO, Y.; FU, Y.; XU, Y.; YIN, J. Zijuan tea-based kombucha: Physicochemical, sensorial, and antioxidant profile. **Food Chemistry** 2021, v 363. [[Disponível em](#)], Acesso em: 23 abr. 2024.