

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA – UFU

MARCO TÚLIO SIMÃO

**Análise de metabólitos em kombuchas caseiras e comerciais por
meio de RMN de ^1H**

UBERLÂNDIA – MG

2025

MARCO TÚLIO SIMÃO

**Análise de metabólitos em kombuchas caseiras e comerciais por
meio de RMN de ^1H**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Uberlândia – Campus Santa Mônica, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Química Orgânica

Orientador: Prof. Dr. Alberto de Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. Welington de Oliveira Cruz

UBERLÂNDIA – MG

2025

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

S588 Simão, Marco Túlio, 1997-
2025 Análise de metabólitos em kombuchas caseiras e comerciais por
meio de RMN de ¹H [recurso eletrônico] / Marco Túlio Simão. -
2025.

Orientador: Alberto de Oliveira.
Coorientador: Welington e Oliveira Cruz.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Pós-graduação em Química.
Modo de acesso: Internet.
DOI <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2025.699>
Inclui bibliografia.

1. Química. I. Oliveira, Alberto de, 1979-, (Orient.). II. Cruz,
Welington e Oliveira, 1966-, (Coorient.). III. Universidade Federal
de Uberlândia. Pós-graduação em Química. IV. Título.

CDU: 54

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



ATA

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 413, PPGQUI				
Data:	Vinte e seis de setembro de dois mil e vinte e cinco	Hora de início:	14h	Hora de encerramento:	
Matrícula do Discente:	12322QMI009				
Nome do Discente:	Marco Túlio Simão				
Título do Trabalho:	"Análise de metabólitos em kombuchas caseiras e comerciais por meio de RMN de ^1H "				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Química Medicinal, Química de Produtos Naturais e Síntese Orgânica				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	"Estudo químico e biológico de espécies do Cerrado"				
ODS 4	ODS 4 - Educação de qualidade: assegurar a educação inclusiva, equitativa e de qualidade, e promover oportunidades de aprendizagem ao longo da vida para todos				

Reuniu-se, por webconferência, no link: <https://meet.google.com/gio-hauy-xup>, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta pelos professores doutores: **Bruno Henrique Sacoman Torquato da Silva**, da Universidade Federal de Uberlândia - UFU/IQUFU; **Katyuscia Veloso Leão**, da Universidade Federal do Oeste da Bahia - UFOB; e **Alberto de Oliveira**, orientador(a) do candidato(a).

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr(a). **Alberto de Oliveira**, apresentou a Comissão Examinadora e o(a) candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao(à) Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do(a) Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O discente compromete-se a acatar as sugestões de correção da banca examinadora e depositar a versão final da dissertação no repositório da UFU em até 30 (trinta) dias.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.



Documento assinado eletronicamente por **Alberto de Oliveira, Professor(a) do Magistério Superior**, em 26/09/2025, às 17:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Bruno Henrique Sacoman Torquato da Silva, Professor(a) do Magistério Superior**, em 26/09/2025, às 17:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Katyúscya Veloso Leão, Usuário Externo**, em 26/09/2025, às 17:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6584271** e o código CRC **1EEE0AC3**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus professores Alberto de Oliveira e Welington de Oliveira Cruz, ao Instituto de Química, a Universidade Federal de Uberlândia e ao Programa de Pós-Graduação em Química. Também gostaria de agradecer a CAPES e a FAPEMIG (Projeto APQ-01612-18), e em especial à minha família e aos amigos, pelo apoio e incentivo ao longo de todo o processo de elaboração deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

A kombucha é uma bebida fermentada de origem milenar, obtida pela ação de uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras (conhecida pela sigla em inglês SCOBY) sobre um chá adoçado. Nas últimas décadas, o consumo de kombucha cresceu mundialmente, em especial no Brasil, em virtude de suas potenciais propriedades funcionais associadas à presença de compostos bioativos, como polifenóis, ácidos orgânicos, vitaminas e enzimas. Essa popularização impulsionou a produção artesanal, gerando uma diversidade de sabores e métodos de preparo. Este trabalho teve como objetivo investigar como a mudança da matriz vegetal e do açúcar utilizado no preparo caseiro influenciam as características da bebida, buscando uma combinação que otimize os componentes de interesse. Além disso, buscou-se mensurar o teor total de fenóis na amostra selecionada e comparar as características das amostras caseiras com as de kombucha comercial. As análises de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) possibilitaram identificar a presença de compostos característicos da fermentação, como ácidos orgânicos, açúcares residuais, etanol e outros metabólitos, evidenciando variações no perfil químico entre as diferentes amostras. Em relação à escolha do chá, verificou-se que a natureza da matriz vegetal, isoladamente, não é o fator determinante na formação dos compostos; observou-se que o perfil de metabólitos apresenta maior dependência do açúcar utilizado e, principalmente, do açúcar residual. Contudo, independentemente da combinação desses fatores, evidenciou-se um aumento no teor de fenóis, o que sugere uma melhora na capacidade antioxidante da bebida final. Em síntese, o estudo demonstra que a kombucha é uma bebida complexa e sensível a múltiplos fatores de produção, como o SCOBY, tipo de chá, açúcar e sazonalidade, apresentando potencial aumento na capacidade antioxidante e possivelmente nas propriedades probióticas.

PALAVRAS-CHAVE: Kombucha, RMN, SCOBY, chá.

ABSTRACT

Kombucha is an ancient, fermented beverage obtained through the action of a symbiotic culture of bacteria and yeast (SCOBY) on sweetened tea. In recent decades, kombucha consumption has grown worldwide, especially in Brazil, due to its potential functional properties associated with bioactive compounds such as polyphenols, organic acids, vitamins, and enzymes. This growing popularity has stimulated artisanal production, resulting in a wide diversity of flavors and preparation methods. This study aimed to investigate how changes in the plant matrix and the type of sugar used in homemade preparations influence the beverage's characteristics, searching for a combination that optimizes its chemical profile. Furthermore, the study measured the total phenolic content in the selected sample and compared the characteristics of homemade kombucha with those of commercial samples. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) analyses allowed for the identification of fermentation compounds, such as organic acids, residual sugars, ethanol, and other metabolites, revealing variations in the chemical profile among different samples. Regarding the choice of tea, it was found that the plant matrix alone is not the sole determinant of compound formation. Instead, the metabolite profile showed a strong dependence on the type of sugar used and, notably, on the residual sugar remaining after the process. However, regardless of the combination of these factors, an increase in total phenolic content was evidenced, suggesting an enhancement of the final beverage's antioxidant capacity. In summary, this study demonstrates that kombucha is a complex beverage, sensitive to multiple production factors, such as the SCOBY, tea type, sugar, and seasonality, indicating an increase in antioxidant capacity and potential improvement in probiotic properties.

KEYWORDS: Kombucha, NMR, SCOBY, Tea.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: MECANISMO GERAL PARA O PREPARO CASEIRO DE KOMBUCHA.....	15
FIGURA 2: SCOBY (CULTURA SIMBIÓTICA DE BACTÉRIAS E LEVEDURAS).	17
FIGURA 3: SCOBY CONTAMINADO POR FUNGOS.....	19
FIGURA 4: REAÇÕES DO PROCESSO FERMENTATIVO DESEMPENHADO PELA SIMBIOSE SCOBY.	20
FIGURA 5: COMPARAÇÃO ENTRE ESPECTROS DE RMN DE ^1H (500 MHz, D_2O) DE CERVEJAS ALE E LAGER BRASILEIRAS.	25
FIGURA 6: CÁLCULO DA INTEGRAL DE REGIÕES NOS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (500 MHz, D_2O) DE CERVEJAS ALE E LAGER BRASILEIRAS.....	25
FIGURA 7: ESPECTRO DE RMN PADRÃO DE ETANOL (ACIMA) USADO NA COMPARAÇÃO COM O ESPECTRO DA AMOSTRA (ABAIXO) PARA CARACTERIZAÇÃO.	26
FIGURA 8: MUDANÇA DA COLORAÇÃO DURANTE A REAÇÃO NO TESTE DE FOLIN.	31
FIGURA 9: COMPARAÇÃO ENTRE OS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O) DO CHÁ VERDE (AZUL), CHÁ PRETO (VERMELHO) E CHÁ MULUNGU (VERDE) COM SACAROSE ANTES DA FERMENTAÇÃO NA REGIÃO ENTRE 6,0 E 0,0 PPM.	32
FIGURA 10: COMPARAÇÃO ENTRE OS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O) DA KOMBUCHA DE CHÁ VERDE (AZUL) COM O CHÁ VERDE PURO (VERMELHO) NA REGIÃO ENTRE 6,0 E 0,0 PPM.	33
FIGURA 11: COMPARAÇÃO ENTRE OS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O) DA KOMBUCHA DE CHÁ PRETO (AZUL) COM O CHÁ PRETO PURO (VERMELHO) NA REGIÃO ENTRE 6,0 E 0,0 PPM.	33
FIGURA 12: COMPARAÇÃO ENTRE OS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O) DA KOMBUCHA DE CHÁ MULUNGU (AZUL) COM O CHÁ MULUNGU PURO (VERMELHO) NA REGIÃO ENTRE 6,0 E 0,0 PPM.	34
FIGURA 13: COMPARAÇÃO ENTRE OS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O) DE KOMBUCHAS PREPARADAS COM CHÁ VERDE (AZUL), CHÁ PRETO (VERMELHO) E CHÁ MULUNGU (VERDE) COM SACAROSE NA REGIÃO ENTRE 6,0 E 0,0 PPM.	35
FIGURA 14: COMPARAÇÃO ENTRE OS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O) PREPARADOS COM CHÁ VERDE E DIFERENTES TIPOS DE AÇÚCARES NA REGIÃO ENTRE 6,0 E 0,0 PPM.	36
FIGURA 15: COMPARAÇÃO ENTRE OS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O) PREPARADOS COM CHÁ PRETO E DIFERENTES TIPOS DE AÇÚCARES NA REGIÃO ENTRE 6,0 E 0,0 PPM.	36
FIGURA 16: COMPARAÇÃO ENTRE OS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O) PREPARADOS COM CHÁ PRETO E DIFERENTES TIPOS DE AÇÚCARES NA REGIÃO ENTRE 6,0 E 0,0 PPM.	37
FIGURA 17: COMPARAÇÃO ENTRE OS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O) PREPARADOS COM CHÁ MULUNGU E SACAROSE (AZUL), GLICOSE (VERMELHO) E FRUTOSE (VERDE) NA REGIÃO ENTRE 5,4 E 4,6 PPM.	38
FIGURA 18: COMPARAÇÃO ENTRE OS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O) PREPARADOS COM CHÁ MULUNGU E SACAROSE (AZUL), GLICOSE (VERMELHO) E FRUTOSE (VERDE) NA REGIÃO ENTRE 2,1 E 1,2 PPM.	39
FIGURA 19: CARACTERIZAÇÃO DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS EVIDENCIADOS NOS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O); AMOSTRA DE CHÁ MULUNGU COM SACAROSE NA REGIÃO ENTRE 2,7 E 1,1 PPM.	39

FIGURA 20: CARACTERIZAÇÃO DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS EVIDENCIADOS NOS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O); AMOSTRA DE CHÁ MULUNGU COM SACAROSE NA REGIÃO ENTRE 4,3 E 3,6 PPM.	40
FIGURA 21: CARACTERIZAÇÃO DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS EVIDENCIADOS NOS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O); AMOSTRA DE CHÁ MULUNGU COM SACAROSE NA REGIÃO ENTRE 5,5 E 4,6 PPM.	40
FIGURA 22: COMPARAÇÃO ENTRE OS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O) DE AMOSTRAS DE KOMBUCHA COMERCIAL DE SABORES DIVERSOS NA REGIÃO ENTRE 6,0 E 0,0 PPM.....	41
FIGURA 23: CARACTERIZAÇÃO DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS EVIDENCIADOS NOS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O) DAS KOMBUCHAS COMERCIAIS DE SABORES DIVERSOS NA REGIÃO ENTRE 5,5 À 4,5 PPM.	42
FIGURA 24: CARACTERIZAÇÃO DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS EVIDENCIADOS NOS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O) DAS KOMBUCHAS COMERCIAIS DE SABORES DIVERSOS NA REGIÃO ENTRE 4,3 À 3,6 PPM.	42
FIGURA 25: CARACTERIZAÇÃO DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS EVIDENCIADOS NOS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O) DAS KOMBUCHAS COMERCIAIS DE SABORES DIVERSOS NA REGIÃO ENTRE 2,7 À 1,0 PPM.	43
FIGURA 26: COMPARAÇÃO ENTRE OS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O) DE AMOSTRA DE KOMBUCHA CASEIRA EM VERMELHO E COMERCIAL DE SABOR CHÁ VERDE EM AZUL NA REGIÃO ENTRE 6,0 À 0,0 PPM.	44
FIGURA 27: COMPARAÇÃO ENTRE OS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O) DE AMOSTRA DE KOMBUCHA CASEIRA EM VERMELHO E COMERCIAL DE SABOR CHÁ VERDE EM AZUL NA REGIÃO ENTRE 5,4 À 4,0 PPM.	44
FIGURA 28: COMPARAÇÃO ENTRE OS ESPECTROS DE RMN DE ^1H (400 MHz, D_2O) DE AMOSTRA DE KOMBUCHA CASEIRA EM VERMELHO E COMERCIAL DE SABOR CHÁ VERDE EM AZUL NA REGIÃO ENTRE 2,2 À 1,1 PPM.	45
FIGURA 29: REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA ABSORBÂNCIA VS CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO GÁLICO.	47
FIGURA 30: EQUAÇÃO DA RETA ESCRITA EM TERMOS DE ABSORBÂNCIA (A) E CONCENTRAÇÃO (C) E MODIFICAÇÃO DA EQUAÇÃO DA RETA PARA CÁLCULO DA CONCENTRAÇÃO.	48
FIGURA 31: CONCENTRAÇÃO EM μg DE ÁCIDO GÁLICO POR mL DE AMOSTRA.	49

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: MICRO-ORGANISMOS PRESENTE NA CULTURA SIMBIÓTICA SCOBY.	18
TABELA 2: COMPILADO DE COMPOSTOS COMUMENTE ENCONTRADOS EM KOMBUCHAS.....	23
TABELA 3: DILUIÇÕES DA SOLUÇÃO DE ÁCIDO GÁLICO 100 µG/M ^L PARA OBTENÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 E 60 µG/M ^L	30
TABELA 4: VALORES DAS TRIPLICATAS DAS ABSORBÂNCIAS A 760,0 NANÔMETROS (NM) OBTIDAS PARA CADA UMA DAS CONCENTRAÇÕES DE 5 A 60 µG/M ^L DE ÁCIDO GÁLICO.....	46
TABELA 5: MEDIDAS DAS ABSORBÂNCIAS CORRIGIDAS PARA A SOLUÇÃO DE ÁCIDO GÁLICO A 760,0 NM, MÉDIA E DESVIO PADRÃO.	46
TABELA 6: MEDIDAS AS ABSORBÂNCIAS A 760 NM DAS AMOSTRAS DE CHÁ MULUNGU, KOMBUCHA CASEIRA E KOMBUCHA COMERCIAL.....	48
TABELA 7: ABSORBÂNCIAS CORRIGIDAS A 760 NM DAS AMOSTRAS DE CHÁ MULUNGU, KOMBUCHA CASEIRA E KOMBUCHA COMERCIAL, MÉDIA E DESVIO PADRÃO.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CG - Cromatografia Gasosa

CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiências

EM - Espectrometria de Massas

g – Gramas

m – Massa

MHz – Mega hertz

mL – mililitros

Nm – nanômetro

pH – potencial hidrogeniônico

PIQ - Padrão de Identidade e Qualidade

Ppm – Partes por milhão

RMN - Ressonância Magnética Nuclear

rpm - rotações por minuto

SCOBY - Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast (Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras)

TMSP-d4 - Ácido 3-(trimetilsilil)-2,2,3,3-tetradeuteropropiônico

V – Volume

vs - versus

W – Watts

µg – microgramas

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL À KOMBUCHA.....	14
1.1. ORIGEM E HISTÓRICO DA BEBIDA.....	14
1.2. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS E COMPOSIÇÃO GERAL.	15
1.3. PROCESSO DE FERMENTAÇÃO.	16
2. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO.....	20
2.1. MATRIZ VEGETAL.....	20
2.2. ESTUDOS SOBRE KOMBUCHA.....	21
2.3. APLICAÇÕES DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN).....	24
3. OBJETIVO.....	27
3.1. OBJETIVO GERAL.....	27
3.2. OBJETIVO ESPECÍFICO.....	27
4. PARTE EXPERIMENTAL.	27
4.1. EQUIPAMENTOS.....	27
4.2. PREPARO DA KOMBUCHA CASEIRA	28
4.3. PREPARO DA KOMBUCHA COMERCIAL	28
4.4. ANÁLISES DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR	28
4.5. ENSAIO PARA DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS.....	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	31
5.1. EXPERIMENTO RMN.....	31
5.2. ENSAIO PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR TOTAL DE FENÓIS.....	45
6. CONCLUSÃO	50
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

1. Introdução Geral à kombucha.

1.1. Origem e histórico da bebida.

A kombucha se trata de uma bebida fermentada com relatos históricos que datam a idade antes de Cristo e que possui atualmente Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) descrito na Instrução Normativa nº 41, estabelecida em 17 de setembro de 2019, como:

Uma 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 dominada de SCOBY.

Em meio a títulos como “bebida da imortalidade” para curar imperadores japoneses, o chá adoçado e fermentado ganha muita popularidade a partir da década de 60, como tratamento de origem natural para distúrbios intestinais e inflamações e até mesmo com indicativos de melhora na condição de pacientes expostos a radiação no acidente de Chernobyl. Essas e demais propriedades medicinais, prometidas pela bebida, podem ser resultado da presença de substâncias muito conhecidas e estudadas, como flavonoides, catequinas, taninos e óleos essenciais, diante disso, é certo observar tais características (Soares et al., 2021).

Essa gama terapêutica prometida, causa uma notória expansão no consumo de kombucha com a incrementação da bebida em dietas saudáveis, principalmente como uma opção para substituir refrigerantes e similares (Barakat et al., 2022; Cardoso et al., 2020). Kim et al. (2020) estimaram para 2025 uma movimentação a nível mundial entre 3,5 e 5 bilhões de dólares no mercado que abrange a bebida.

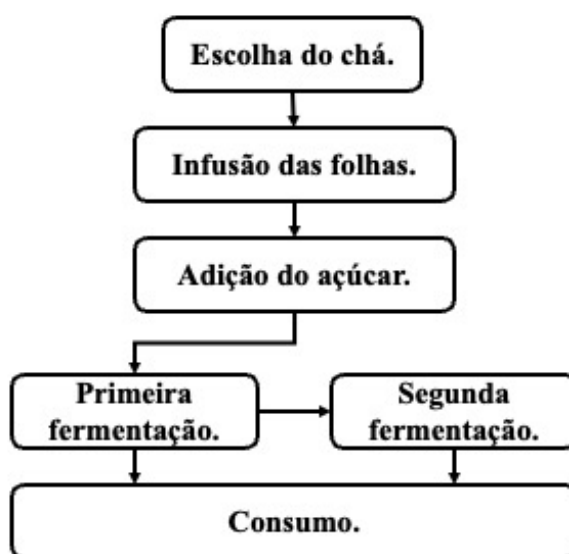
Mais recentemente, abrindo uma nova possibilidade de estudo voltada para a própria membrana de celulose que é formada pela simbiose fermentadora da bebida, esse material se mostra muito promissor para aplicações em biomateriais e fontes bioenergéticas, assim como na fortificação de alimentos e embalagens (Bell et al., 2023; Laavanya et al., 2021).

Esse crescente interesse por kombucha pode ser evidenciado com o aumento da quantidade de artigos publicados, em 1999 se têm os primeiros registros de abordagem do tema no Web of Science, com uma média de publicação anual de 1,1 artigo, já no período de 2020 a 2023 a média de publicações anuais passa a ser de 113,25 artigos. A revista Food Science Technology lidera o ranking com o maior número de trabalhos publicados entre 1999 e 2023, e o termo “kombucha” é citado 354 vezes nesse período com o Brasil como o terceiro país com

maior número de publicações, atrás da Índia em segundo lugar e da China que liderava o ranking (Melo et al., 2024).

Independente da região de fabricação e consumo da kombucha, o preparo segue um padrão similar que se inicia com o preparo do chá verde ou preto, que são os mais difundidos principalmente na América do Norte e América do Sul, porém a regionalidade difunde o uso de outras matrizes como exemplo sucos, água de coco e café, (Xia et al., 2019), o mecanismo de preparo é exemplificado na Figura 1.

Figura 1: Mecanismo geral para o preparo caseiro de kombucha.



Fonte: Próprio autor, 2025.

1.2. Características organolépticas e composição geral.

A legislação brasileira registra apenas o processo de fermentação e não as demais etapas no preparo da kombucha, permitindo uma ampla diversificação de parâmetros e aditivos proporcionando assim diversos perfis sensoriais (BRASIL, 2019).

Visualmente temos uma bebida levemente turva com sólidos suspensos ou depositados no fundo que são resquícios da simbiose, fibras de celulosas ou agregados de proteínas formados no processo de fermentação. A bebida não é filtrada e em produtos comerciais encontra-se recomendações para evitar a agitação antes do consumo.

A cor traz características do substrato utilizado para a fabricação, sendo âmbar levemente transparente para a base de chá verde e um tom mais escuro e opaco para as variações de chá preto, contudo, podemos encontrar cores diversas.

O aroma da bebida é grande parte oriundo do ácido acético encontrado em qualquer tipo de preparo, já o dulçor fica à mercê da quantidade de açúcar remanescente da ação da cultura simbiótica. Outra forte característica da kombucha, sua acidez, é resultado da formação de diversos ácidos orgânicos encontrados além de um sabor amargo que pode ser observado quando a matriz é o chá preto, o qual é rico em cafeína.

A carbonatação é a característica final, ocorre de maneira natural, mas pode ser aumentada artificialmente; ela confere frescor e refrescância relatadas pelos consumidores (Bishop et al. 2022).

1.3. Processo de fermentação.

A etapa de fermentação ocorre pela ação de uma cultura simbiótica que leva como nome a sigla SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast), que em tradução livre significa “Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras”, ela se desenvolve na forma de um biofilme que se forma na superfície da bebida, inicialmente como uma folha fina e maleável e se torna mais espessa e rígida a medida que é submetida a mais processos de fermentação, graças a ação principalmente de uma bactéria da espécie *Komagataeibacter* que transforma a glicose em celulose (Figura 2) (Coton, et al., 2017).

Figura 2: SCOBY (Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras).



Fonte: Próprio autor, 2025

A composição microbiológica da simbiose pode ser diversificada em função de sua origem, uma vez que está relacionada à localização geográfica e ao clima de onde foi cultivada a cultura “mãe”. Apesar da grande variação nessa microbiota, alguns micro-organismos são frequentemente listados na literatura e podem ser vistos na Tabela 1.

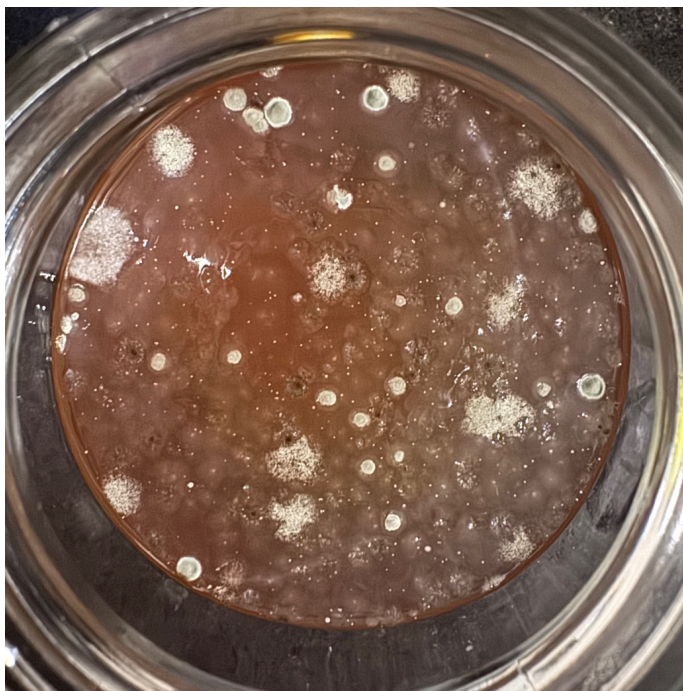
Tabela 1: Micro-organismos presente na cultura simbiótica SCOBY.

Micro-organismos	Referências
Bactérias	
<i>Acetobacter</i>	
<i>Bifidobacterium</i>	Marsh et al., 2014;
<i>Enterococcus</i>	Chakraborty et al., 2016; Santos, 2016;
<i>Lactobacillus</i>	Chen&Liu,2000
<i>Leuconostoc</i>	
<i>Acetobacter acetic</i>	
<i>Acetobacter</i>	
<i>pasteurianus</i>	Jayabalan et al., 2014;
<i>Bacterium gluconicum</i>	Coton, 2017; Chenetal., 2000
<i>Gluconobacter</i>	
<i>Komagataeibacter</i>	
<i>xylinus</i>	
Leveduras	
<i>Brettanomyces spp.</i>	
<i>Candida spp.</i>	Jayabalan et al., 2014;
<i>Pichia spp.</i>	Villareal-soto et al., 2018; Teohetal., 2004
<i>Saccharomyces spp.</i>	
<i>Sacchromycodes spp.</i>	

Fonte: Adaptado de Fabrício (2022), Bishop et al. (2022), Arruda et al. (2021).

O SCOBY conduz o processo fermentativo descrito no procedimento de fabricação por cerca de 7 a 10 dias, em pH próximo a 3 que impossibilita a proliferação de patógenos indesejados na bebida como fungos (Figura 3), que danificariam o produto, podendo ainda levar à morte da simbiose. A correção da acidez no processo caseiro é feita através da adição de uma alíquota de outra kombucha preparada anteriormente ou com a adição de uma colher de vinagre. Os açúcares presentes no chá são metabolizados em compostos diferentes ao longo da fermentação trazendo propriedades intrínsecas do processo fermentativo em si (Fabrício, 2022).

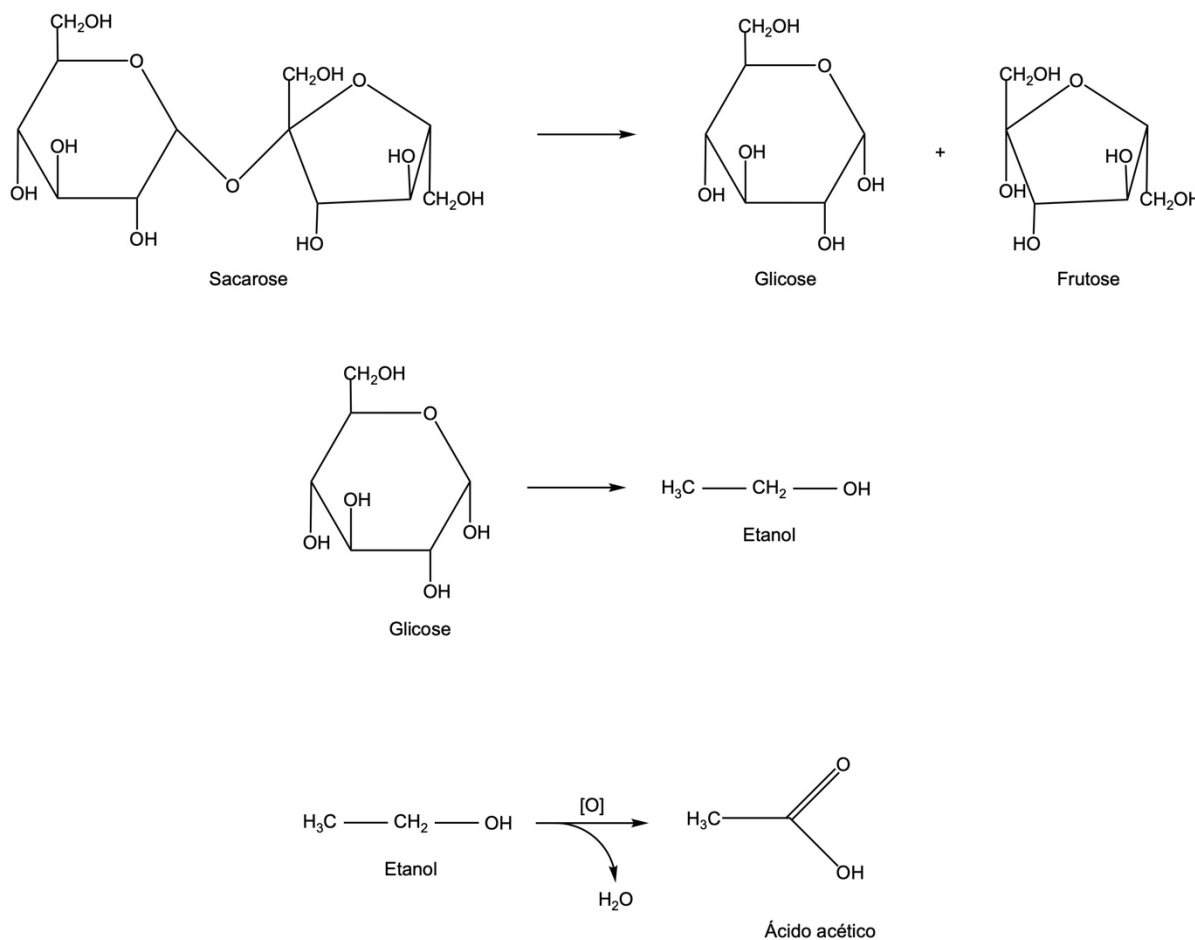
Figura 3: SCOBY contaminado por fungos.



Fonte: Próprio autor, 2025.

Alguns produtos da ação da simbiose sobre chá, utilizado como base da kombucha, são inerentes de qualquer fermentação. Inicialmente a sacarose passa por uma hidrólise enzimática gerando frutose e glicose, que por meio de fermentação alcoólica é convertida em etanol e dióxido de carbono, e então o álcool é convertido em ácido acético por bactérias acéticas, produto esse, grande responsável pelo sabor característico da bebida (Figura 4).

Figura 4: Reações do processo fermentativo desempenhado pela simbiose SCOBY.



Fonte: Próprio autor, 2025.

2. Referencial Bibliográfico.

2.1. Matriz vegetal

A base para início de qualquer preparo de kombucha é a escolha do tipo de chá utilizado, como já citado, a legislação brasileira estabelece a obrigatoriedade do uso das folhas de *Camellia sinensis* (Brasil, 2019), porém observasse o uso de outros tipos de chá que são comuns em cada região além de sucos de fruta e outras bebidas como exemplo o café.

O chá preparado a partir da folha da *Camellia sinensis* é a segunda bebida mais consumida no mundo e possui uma associação direta a diversos benefícios a saúde, em sua maioria associados a diversidade de compostos com capacidades antioxidantes e anti-inflamatórias. Estudos demonstram uma concentração superior a 100 µg de compostos fenólicos por 100 mL de chá preparado, variando esse valor de acordo com a diversidade de chás pertencentes a esse gênero (Couto, 2022).

Originalmente trazida da Ásia e pertencente à família Theaceae do gênero *Camelliae* espécie *sinensis* e a partir dessa planta é possível a produção de pelo menos 4 tipos de chá distintos sendo dois deles os mais utilizados no preparo de kombucha até a atualidade, são o chá verde e o chá preto, tendo o manuseio da folha o fator determinante na variação.

Para a obtenção do chá verde, antes da secagem das folhas, elas são aquecidas para impedir a oxidação; o leve aumento da temperatura causa a inativação da polifenol-oxidase mantendo sua cor original. Na obtenção do chá preto as folhas secam naturalmente para então fermentarem por cerca de 6 dias e então serem secas. Esse processo confere às folhas uma coloração escura característica (Pires, 2021).

Essas variações de chás com as folhas da *Camellia sinensis* são bastante consumidas e utilizadas no preparo de kombucha, porém uma planta nativa da região da caatinga também é facilmente encontrada no comércio. A *Erythrina velutina* pertence à família das *Fabaceae* e trata-se de uma árvore de porte médio, com flores vermelhas ou alaranjadas e madeira macia, utilizada na produção de infusões comumente conhecidas como chá de Mulungu (Lima et al., 2022).

2.2. Estudos sobre kombucha.

Estudos demonstram que o processo de fermentação tem a capacidade de modificar a matriz de diversas bebidas a partir de alterações bioquímicas nos compostos, gerando enriquecimento do perfil metabólico de um alimento. Isso é causado porque a fermentação ocasiona a quebra de algumas substâncias em outras mais bioativas, acentuando características existentes e originando novos compostos. Nesse contexto, pode-se citar o aumento da digestibilidade dos nutrientes, assim como de sua biodisponibilidade (Vargas, 2022). Jakubczyk et al. (2022) demonstraram que a atividade antioxidante pode aumentar em até 3 vezes, e a concentração de compostos fenólicos em até 5 vezes, quando comparadas ao substrato antes da fermentação. O estudo também destaca o aumento das propriedades antifúngicas e bactericidas, bem como a melhora da vida útil do alimento, associando essas alterações a parâmetros de processamento, como o tempo de fermentação.

Esse processo conduzido pela simbiose do SCOBY dá origem a uma bebida rica em compostos que apresentam diversas propriedades, como por exemplo: açúcares, uma gama de aminoácidos essenciais e não essenciais, ácidos orgânicos, compostos fenólicos, enzimas hidrolíticas, micronutrientes como vitaminas do complexo B e minerais como Cobre, Ferro, Manganês e Cobalto, vitaminas hidrossolúveis, polifenóis, catequinas, teaflavinas e flavonóis além dos produtos inerentes da fermentação como o etanol e o dióxido de carbono (Vargas,

2024; Al-Mohammadi et al., 2021). E estes podem ser encontrados tanto na kombucha quanto em algum tipo de bebida fermentada de kombucha (bebida que possui kombucha como um dos ingredientes, mas não é produzida diretamente a partir da fermentação pelo SCOBY – do inglês kombucha fermented beverage, KFB).

A elucidação desses e outros compostos (Tabela 2) em matrizes complexas como a kombucha ou bebidas similares pode se tornar uma tarefa difícil, demandando assim o uso de mais de uma técnica para tal. A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (do inglês Gas Liquid Chromatographic – Mass Spectrometry, GC-MS) trata-se de uma técnica analítica muito poderosa e amplamente utilizada para a identificação e quantificação de compostos químicos em bases complexas, onde os componentes são separados por cromatografia gasosa e identificados posteriormente na espectrometria de massas.

Tabela 2: Compilado de compostos comumente encontrados em kombuchas.

Compostos encontrados em kombuchas
Metionina - ácido 2-amino-4-(metiltio)butanoico
Lisina - ácido 2,6-diaminohexanoico
Leucina - ácido (S)-2-amino-4-metilpentanoico
L-isoleucina - ácido (2S,3S)-2-amino-3-metilpentanoico
Frutose - (2R,3S,4R,5R)-2,5-Bis(hidroximetil)oxolano-2,3,4-triol
Sacarose - 2-[3,4-dihidroxi-2,5-bis(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il]oxi-6-(hidroximetil)oxano-3,4,5-triol
D-glicose - (2R,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-penta-hidroxiexanal
L-glicose - (2S,3R,4S,5S)-2,3,4,5,6-penta-hidroxiexanal
2-Hidroximetilfurano
2-(4-Hidroxifenil)etanol
1,2,3,4-Tetraidro-2,4-dioxo-5-carboximetiluracil
Ácido hexadecanoico
Etil-2-(2,2-dimetilciclopropanocarboxilato)
3,5-Diidroxi-6-metil-2,3-diidroxi-4H-piran-4-ona
Ácido 4-hexil-2,5-diidro-2,5-dioxo-3-furanoacético
3-Methoxi-2,4,6-trimetilciclohex-2-enona
Etil-3,7-diidro- ¹ H-purina-2,6-diona
2,3-Diidrobenzofurano
7,7-Dimetil-1-isobutil hexaidro-2-benzofuran-3a (3H)-ol
5-Acetoximetil-2-furaldeído
5-Hidroximetilfurfural
Ácido 2-hexadecenoico
1,3,7-Trimetil-3,7-diidro- ¹ H-purina-2,6-diona
Fenilalanina - ácido 2-amino-3-fenilpropanoico
Valina - 4-hidróxi-3-metoxibenzaldeído
Alanina - ácido 2-aminopropanoico
Cisteína - ácido (R)-2-amino-3-sulfanil-propanoico
Ácido aspártico - ácido 2-aminobutanodioico
Ácido glutâmico - (2S)-2-aminopentanedioico
Glicina - ácido 2-aminoetanóico
L-histidina - (S)-2-amino-3-(¹ H-imidazol-4-il)propanoico
L-Prolina - ácido (S)-Pirrolidina-2-carboxílico
Ácido acético - ácido etanoico
Ácido glucônico - (2R,3S,4R,5R)-2,3,4,5,6-Pentahidroxihexanóico
Ácido tartárico - ácido 2,3-dihidroxibutanodioico
Ácido cítrico - ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico
Vitamina C - 3-oxo-L-gulofuranolactona (5R)-5-[(1S)-1,2-diidroxi-etil]-3,4-diidroxi-furano-2(5H)-ona

Fonte: Adaptada de Vargas (2024), Al-mohammadi (2021)

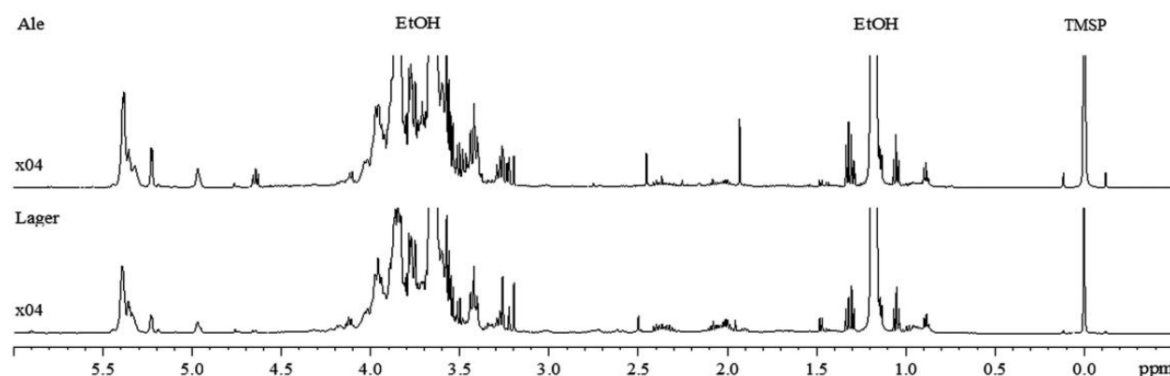
Técnicas analíticas como Cromatografia Líquida de Alta Eficiências (CLAE) e Cromatografia Gasosa (CG) e Espectrometria de Massas (EM) tem sido largamente utilizada no estudo do perfil metabólico de diversas bebidas como cervejas, vinhos e cafés de maneira eficiente e com resultados satisfatórios, porém demandam o uso de padrões externos, assim como a necessidade de manipulação da amostra o que pode inferir erros na análise (Quifer-Rada, 2015).

2.3. Aplicações da Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) se mostra uma técnica muito útil e assertiva nesse âmbito de matrizes complexas por ser rápida e de fácil preparo, apresentando alta reprodutibilidade e possibilitando a análise simultânea de vários metabólitos presentes na amostra (Nurani et al., 2021). O estudo de perfis químicos de certos tipos de bebidas como exemplos cervejas, vinhos ou cafés é onde os espectros gerados a partir de RMN se mostram fortes aliados. Por meio da comparação com espectros de referência é possível detectar falsificações e adulterações através das matrizes de bebidas que possuem padrões de qualidade e de identidade, é o que mostra Jesus et al. (2024) em seu trabalho “RMN e Quimiometria na Determinação de Perfis Químicos para a Distinção entre Cervejas Ale e Lager Brasileiras”, porém isso demanda uma análise criteriosa e nem sempre simples, dos resultados obtidos, que variam o grau de dificuldade a depender da complexidade dessa matriz estudada.

A espectroscopia de RMN traz um espectro geral do perfil químico que tem relação de proporcionalidade entre a intensidade do sinal obtido e a quantidade de núcleos que o geraram, dessa maneira, permite a interpretação e comparação de diversas características, com interesse investigativo como o teor alcoólico, presença de açúcares e contaminantes. Se aplicados devidos parâmetros, o padrão de formação de metabólitos, a proporcionalidade na formação desses metabólitos e a comparação entre matrizes diferentes para identificar similaridades ou não, permitem uma análise qualitativa e até mesmo quantitativa da amostra. A Figura 5 demonstra uma comparação entre dois tipos de cerveja onde os espectros gerados são confrontados para análise do perfil químico encontrado.

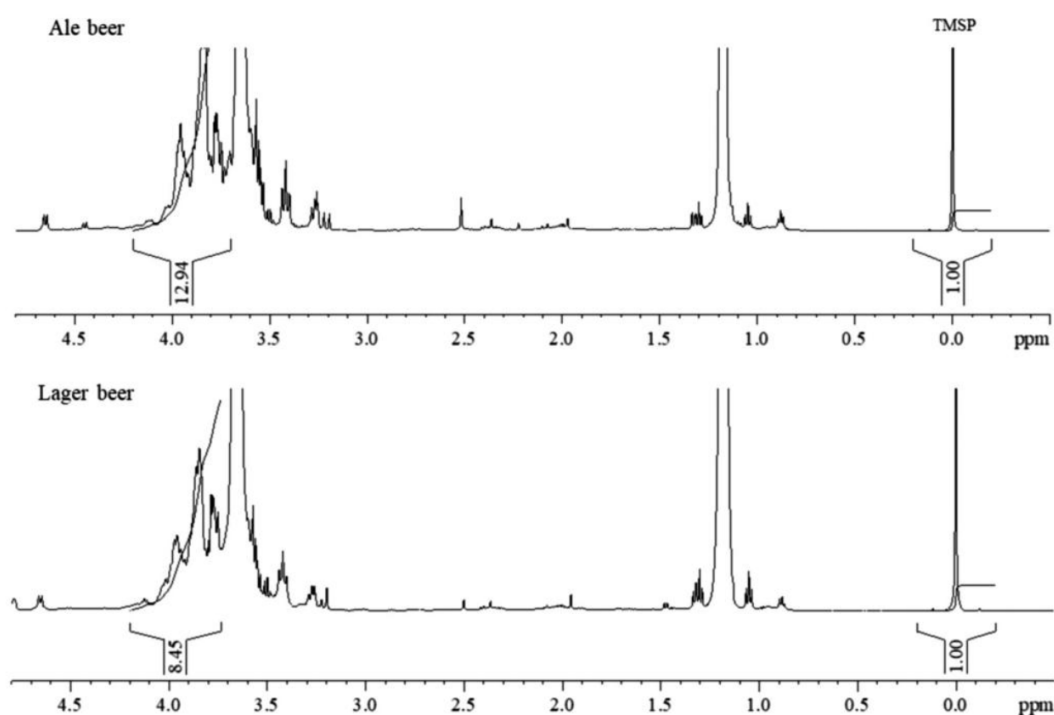
Figura 5: Comparação entre espectros de RMN de ^1H (500 MHz, D_2O) de cervejas Ale e Lager brasileiras.



Fonte: Jesus, 2024.

O autor relaciona a integral obtida em uma mesma região nas duas amostras, os picos referentes a açúcares residuais, em torno de 4 ppm (Figura 6), para determinar que tipo de cerveja cada espectro representa, uma vez que seus estudos revelam que cervejas do tipo Ale, diferentemente das Lager, passam menos tempo em contato com as leveduras levando a um produto com mais açúcares não fermentados e ainda utiliza a integral do pico gerado pelo seu padrão TMSP- d_4 para corroborar com a análise visual das intensidades dos sinais obtidos.

Figura 6: Cálculo da integral de regiões nos espectros de RMN de ^1H (500 MHz, D_2O) de cervejas Ale e Lager brasileiras.

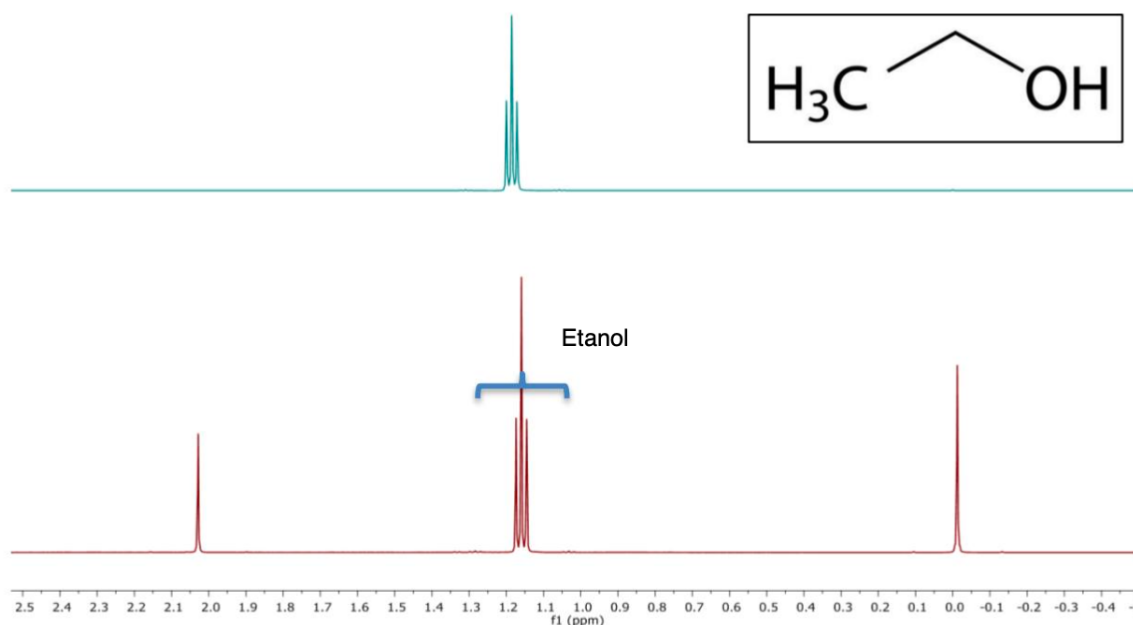


Fonte: Jesus, 2024.

O uso de Ressonância Magnética Nuclear no estudo de kombucha é fortemente relacionado no fato do baixo manuseio da amostra para a execução da análise e uma rápida aquisição de dados, a partir da correlação de dados encontrados na literatura sobre deslocamentos e acoplamentos químicos de RMN e os dados integrados de um pico base de padrão interno é possível caracterizar e obter dados quantitativos muito precisos dos compostos identificados nos espectros por diversos métodos (Edwards, 2016; Harrison et al., 2023). Estudos demonstram que na última década houve uma crescente demanda de análises de RMN devido a sua preparação simples e resultados precisos, não somente com o interesse qualitativo, mas com demandas quantitativas significativas.

Thai (2018) traz em seu trabalho uma demonstração do uso de RMN de maneira qualitativa na diferenciação entre amostras de kombucha comercial, onde a caracterização foi feita pelo uso de um espectro padrão dos compostos e comparação com o espectro da amostra (Figura 7).

Figura 7: Espectro de RMN padrão de etanol (acima) usado na comparação com o espectro da amostra (abaixo) para caracterização.



Fonte: THAI, Thanh Thao Sandy, 2018.

O uso de um padrão externo serve como base comparativa na análise dos sinais obtidos na amostra real, podemos ver que o padrão (em azul) evidencia o sinal que deve ser encontrado para identificação do grupo CH₃ da molécula de etanol. Esse mesmo processo permite

identificar diversos compostos pelo cruzamento de informações de trabalhos correlatos e bancos de dados já existentes.

3. Objetivo

3.1. Objetivo geral

Investigar o perfil químico de kombuchas caseiras utilizando espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear, confrontando os resultados obtidos para encontrar uma combinação de substrato e tipo de açúcar ideal para a preparação, comparar a preparação caseira com a comercial e investigar suas propriedades antioxidantes.

3.2. Objetivo específico

- Analisar os principais metabólitos presentes em amostras de kombucha utilizando espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.
- Comparar as diferenças químicas entre kombuchas caseiras preparadas com diferentes matrizes vegetais e açúcares, assim como com amostras comerciais.
- Correlacionar os resultados da RMN com a literatura existente sobre os compostos bioativos da bebida.
- Investigar o impacto do processo de preparo da bebida na quantidade de fenóis totais da bebida.

4. Parte experimental.

4.1. Equipamentos

- Vórtex (marca Kasvi modelo basic, 2800 rpm).
- Cuba ultrassônica (marca Cristófoli, 42W).
- Centrifuga (marca Eppendorf modelo centrifuge 5415 C).
- Ressonância Magnética Nuclear (marca Bruker, modelo Ascend - Magnet System 400'54 MHz).
- Balança de precisão (marca Shimadzu, modelo ATX224)
- Espectrofotômetro (marca Thermo Scientific, modelo Genesys 10S UV-Vis)

4.2. Preparo da kombucha caseira

A kombucha caseira foi preparada iniciando-se com a infusão de 12 g de chá e 120 g de açúcar em 1 L de água em ebulição, fora do aquecimento, por 10 minutos em recipiente fechado. Passado o tempo de infusão, a mistura foi coada e mantida em repouso para arrefecimento. Na sequência a simbiose SCOBY foi adicionada e o frasco foi fechado com material permeável (voal ou papel toalha). A simbiose foi mantida em contato com o chá por 7 dias em local arejado protegido da luz, essa etapa é dita primeira fermentação.

A segunda fermentação aconteceu após os 7 dias. O líquido foi separado e em seguida foi adicionado mais 1 L de chá para fermentar por mais 2 dias sem a presença da simbiose, em recipiente tampado e sob refrigeração.

As amostras preparadas para o estudo foram a partir de chá verde, chá preto e chá mulungu, e os açúcares utilizados no processo de fabricação do chá foram açúcar cristal (sacarose), glicose, frutose, açúcar de coco, açúcar demerara, açúcar de confeitiro e açúcar mascavo.

4.3. Preparo da kombucha comercial

As amostras comerciais foram adquiridas no mercado local, nos sabores chá verde com tangerina, chá verde com maracujá, chá verde com limão e gengibre, chá verde com maçã, canela e hibisco, chá verde com frutas vermelhas, chá verde orgânico, chá preto com guaraná.

Para a realização das análises, as amostras foram retiradas da refrigeração sem agitar, conforme recomendação do fabricante, abertas, submetidas a vórtice por 1 minuto, banho ultrassônico por 5 minutos e centrifugação a 10 mil rpm por 5 minutos.

4.4. Análises de Ressonância Magnética Nuclear

As amostras caseiras e comerciais foram analisadas de maneira análoga. Em um tubo de RMN de 5 mm foram adicionados 400 µL de kombucha e 100 µL de D₂O contendo 0,025% em massa de TMSP-d₄, que foi usado como referência interna ajustado para 0,0 ppm, esse preparo foi feito em triplicata. Os espectros de ¹H foram gerados através da sequência de pulsos NOESYPR1d (Bruker) com uma janela de 15 ppm, 32 scans com tempo de relaxamento de 3 segundos e tempo de aquisição de 5 segundos e processados no software Bruker TopSpin 4.1.

4.5. Ensaio para determinação de fenóis totais

O método de análise do percentual de fenóis totais na amostra foi executado como descrito por Oliveira et al. (2023) e Lima (2023). O preparo da solução de Carbonato de Sódio com concentração de $7,5 \text{ m/V}^{-1}$ utilizou-se de 11,25 g de Carbonato de Sódio, solubilizado em água destilada suficiente para completar o volume de 150,0 mL. Para o preparo da solução de Folin-Ciocateu com concentração de 10% V/V, 30,0 mL do reagente Folin-Ciocateu foi solubilizado em água destilada suficiente para completar o volume de 150,0 mL. As amostras analisadas no ensaio foram kombucha caseira preparada e saborizada com chá Mulungu, kombucha comercial de sabor chá verde orgânico e o chá mulungu utilizado como substrato no preparo da amostra caseira, todas foram diluídas 5 vezes para garantir que a leitura da absorbância caia dentro da faixa linear da curva de calibração de acordo com um teste de diluição feito previamente, para essa diluição 2,0 mL de cada amostra foram solubilizados em água destilada suficiente para completar o volume de 10,0 mL.

Neste ensaio os resultados obtidos com as amostras são confrontados com resultados obtidos através de uma curva analítica construída a partir de soluções de ácido gálico nas concentrações de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 e 60 $\mu\text{g/mL}$. O preparo dessas soluções foi feito em 2 etapas de diluição a partir de uma solução mais concentrada (1000 $\mu\text{g/mL}$) preparada a partir da dissolução de 0,010 g de ácido gálico em metanol suficiente para o volume de 10,0 mL de solução. A primeira etapa foi feita solubilizando 2,0 mL da solução concentrada com metanol para um volume total de 20,0 mL de solução (concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$) e a segunda etapa da diluição foi feita segundo o que é expresso na Tabela 3 para a obtenção das concentrações finais desejadas para o ensaio.

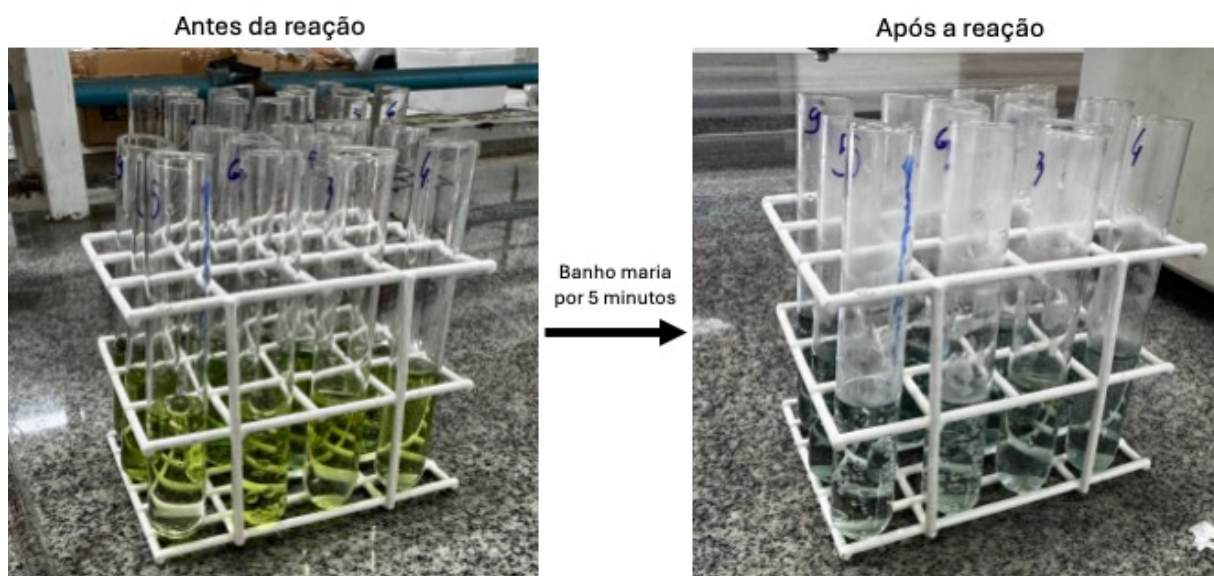
Tabela 3: Diluições da solução de ácido gálico 100 µg/mL para obtenção das concentrações de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 e 60 µg/mL.

Diluições da solução de Ácido Gálico			
Concentração final desejada (µg/mL)	Volume da solução concentrada (mL)	Volume de metanol (mL)	Volume final (mL)
5,00	0,10	1,90	2,00
10,00	0,20	1,80	2,00
15,00	0,30	1,70	2,00
20,00	0,40	1,60	2,00
25,00	0,50	1,50	2,00
30,00	0,60	1,40	2,00
35,00	0,70	1,30	2,00
40,00	0,80	1,20	2,00
45,00	0,90	1,10	2,00
50,00	1,00	1,00	2,00
55,00	1,10	0,90	2,00
60,00	1,20	0,80	2,00

Fonte: Próprio autor, 2025.

Para a construção da curva de ácido gálico, foi adicionado a uma alíquota de 0,5 mL da solução do ácido, 2,5 mL da solução de Folin e posteriormente 2,0 mL da solução de Carbonato de Sódio, respectivamente. Esse preparo foi feito para cada uma das concentrações descritas na Tabela 4 e em triplicata. Para as amostras de kombucha caseira, kombucha comercial e do Chá, a 0,5 mL das respectivas soluções diluídas foram adicionadas 2,5 mL da solução de Folin e posteriormente 2,0 mL da solução de Carbonato de Sódio, respectivamente. Após o preparo as amostras reagiram por 5 minutos em banho maria, a 50°C, inicialmente a amostra apresenta uma cor amarelo esverdeado, que corresponde a cor do reagente de Folin inicialmente, passado o tempo de reação a amostra adquiri uma cor azul que varia sua intensidade diretamente proporcional a quantidade de compostos fenólicos na amostra (Figura 8), após o tempo de reação a leitura da absorbância em 760 nm em espectrofotômetro foi realizada em triplicata.

Figura 8: Mudança da coloração durante a reação no teste de Folin.



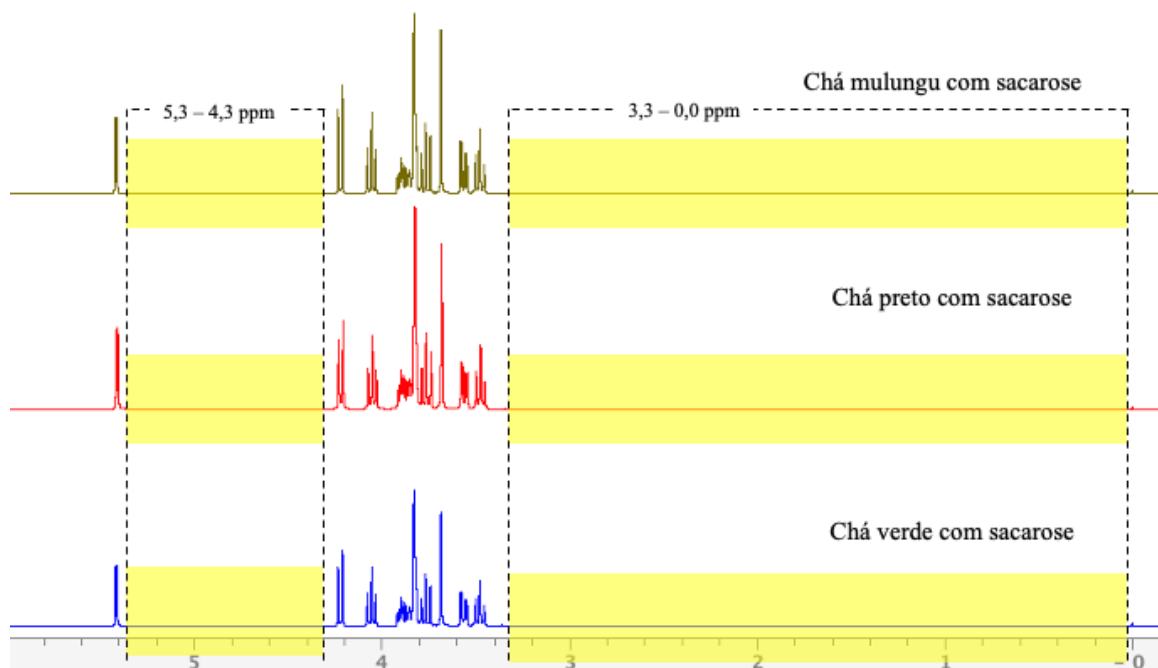
Fonte: Próprio autor, 2025.

5. Resultados e discussões

5.1. Experimento RMN

Um dos objetivos do trabalho em questão era investigar a atuação do metabolismo executado pela simbiose na matriz vegetal, já que as propriedades terapêuticas são atribuídas à bebida após o processo de fermentação e o substrato utilizado no preparo da kombucha é muito conhecido por possuir naturalmente um grande teor antioxidante além de outras características inerentes à sua natureza. Uma amostra de cada chá adoçado foi preparada e analisada para servir de uma leitura em branco, ou seja, antes de entrar em contato com o SCOBY (Figura 9).

Figura 9: Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) do chá verde (azul), chá preto (vermelho) e chá mulungu (verde) com sacarose antes da fermentação na região entre 6,0 e 0,0 ppm.

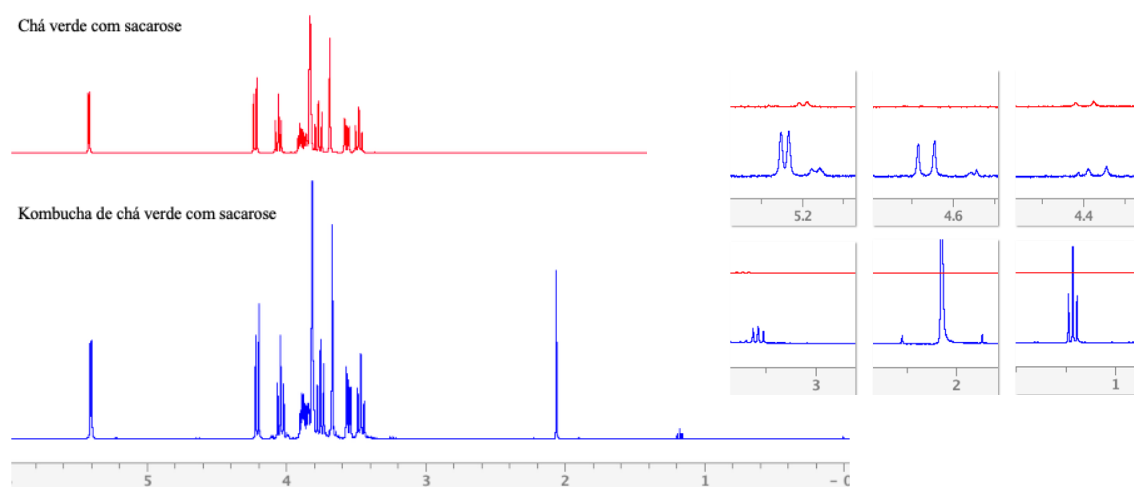


Fonte: Próprio autor, 2025.

Por meio da Figura 9 podemos constatar que as amostras inicialmente não possuem nenhum sinal de maneira significativamente visível nas regiões entre 5,3 e 4,3 ppm e 3,3 e 0,0 ppm. Existe uma diversidade de sinais entre 4,3 e 3,3 ppm, resultado da mistura de compostos presentes na sacarose e no chá utilizado, além de um sinal isolado na região de 5,4 ppm também pertencente à sacarose da amostra e um pequeno sinal em 0,0 ppm, que se trata do padrão TMSPd-4.

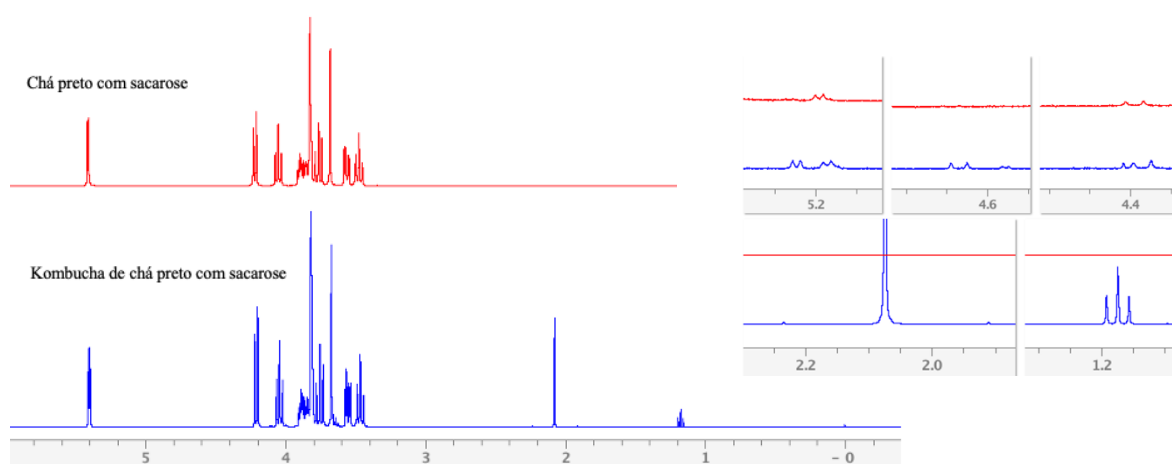
Quando confrontamos o espectro obtido em cada amostra de chá com as respectivas amostras após o processo de fermentação em contato com a simbiose (Figura 10, 11 e 12) observamos que existe uma visível modificação justamente nas regiões sinalizadas, onde temos sinais que são resultados do processo metabólico da simbiose, onde principalmente os açúcares são consumidos gerando novos compostos que alteram as propriedades da matriz utilizada, conferindo as características comuns da bebida.

Figura 10: Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) da kombucha de chá verde (azul) com o chá verde puro (vermelho) na região entre 6,0 e 0,0 ppm.



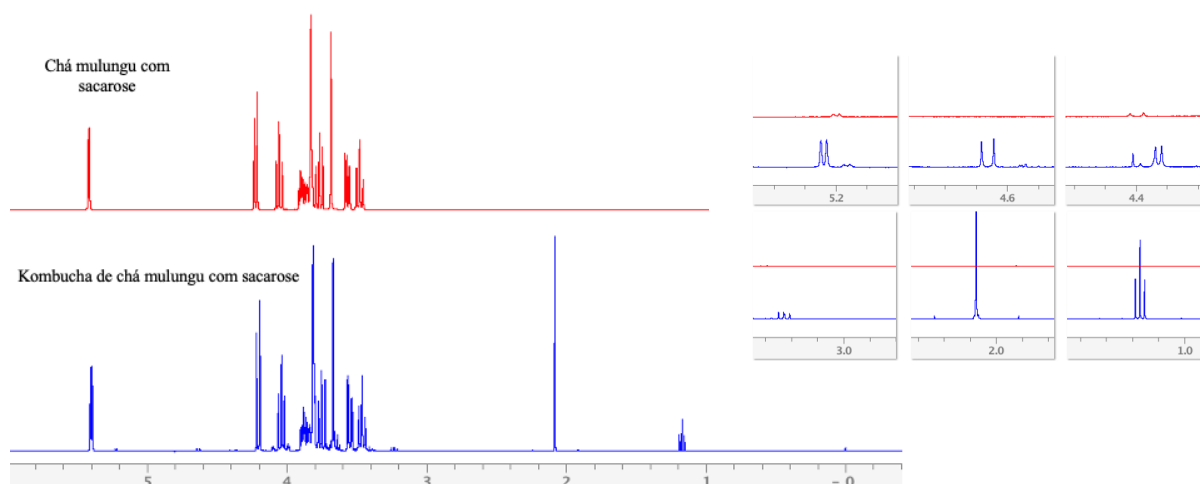
Fonte: Próprio autor, 2025.

Figura 11: Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) da kombucha de chá preto (azul) com o chá preto puro (vermelho) na região entre 6,0 e 0,0 ppm.



Fonte: Próprio autor, 2025.

Figura 12: Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) da kombucha de chá mulungu (azul) com o chá mulungu puro (vermelho) na região entre 6,0 e 0,0 ppm.



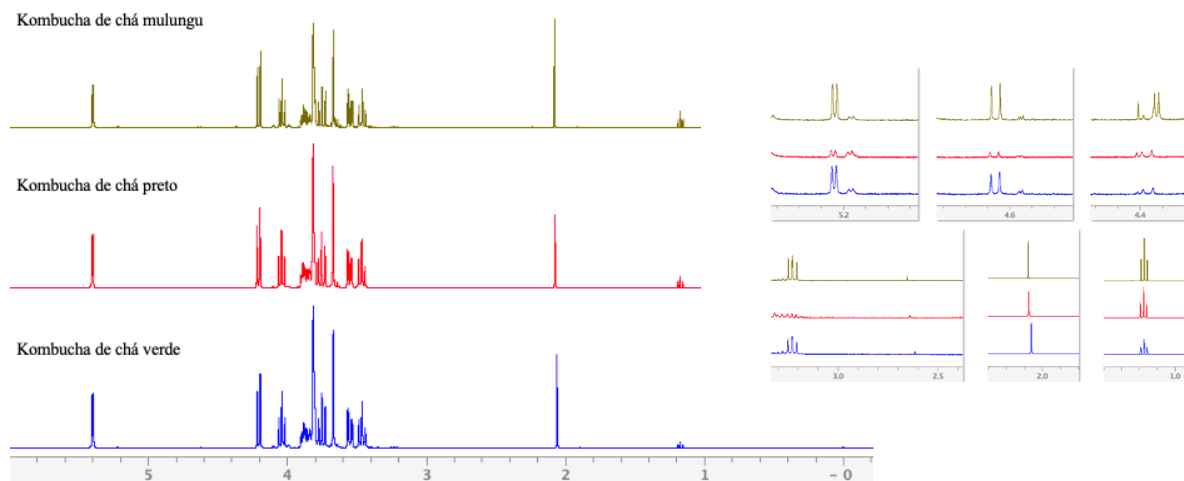
Fonte: Próprio autor, 2025.

Nota-se que a região entre 4,3 e 3,3 ppm mantém muito do padrão inicial dos sinais antes da fermentação, tendo apenas algumas mudanças de intensidade dos sinais. Essa região é muito característica para hidrogênios de açúcares, como exemplo os sinais de duplete característicos de hidrogênios anoméricos da sacarose em torno de 4,25 – 4,15 ppm, que estão presentes na amostra antes da fermentação e que podem continuar presentes após o processo como resíduo da fermentação que não consome toda a matéria, assim como temos que os sinais de H referentes a glicose coincidem nessa mesma região, sendo a glicose um produto da quebra da sacarose que ocorre durante a ação da simbiose. Além disso, temos outros sinais menos intensos que podemos atribuir aos demais prótons dos anéis da glicose e da frutose que apresentam uma quantidade grande de sinais múltiplos formados por uma série de pequenos picos em torno de 4,0 – 3,9 ppm. Região em que também é comum encontrarmos sinais oriundos de glicerol, um produto que é resultado do preparo da kombucha e derivados oxigenados de compostos fenólicos que são comuns na amostra do chá. Essa grande multiplicidade de sinais em uma mesma região, oriundos de produtos que encontramos na matriz vegetal e que se convertem em produtos encontrados na kombucha, causa essa pouca variação no perfil metabólico entre 4,3 e 3,3 ppm.

Analisando os três espectros gerados pelas amostras de kombucha com as três variações de chá preparadas com sacarose como açúcar (Figura 13), nota-se que esse padrão de formação de compostos que foi discutido, se mantém de uma maneira geral independente da troca da matriz vegetal, sendo possível observar apenas mudanças relacionadas às intensidades dos sinais encontrados. A proporção de matéria prima de chá e açúcar utilizada para a fabricação da

bebida é de uma parte de chá, para 10 partes de açúcar, esse pode ser o motivo de o padrão de formação dos metabolitos não sofrer grande alteração, já que a proporção de açúcar é significativamente, podendo assim suprimir os sinais que são provenientes da matriz vegetal.

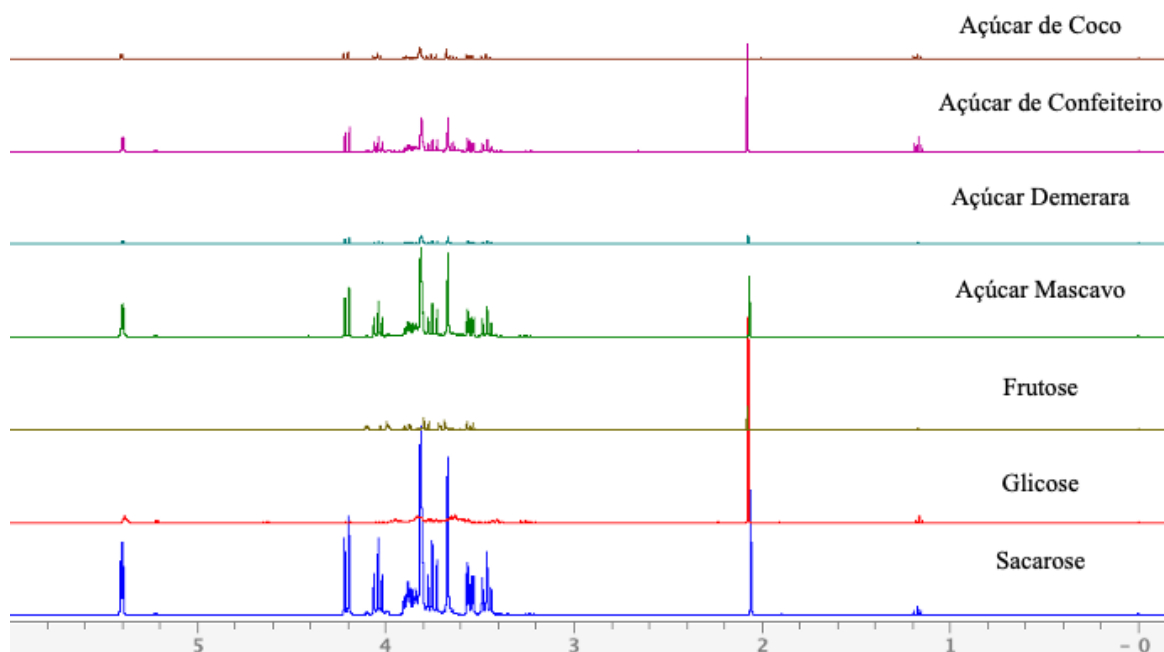
Figura 13: Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) de kombuchas preparadas com chá verde (azul), chá preto (vermelho) e chá mulungu (verde) com sacarose na região entre 6,0 e 0,0 ppm.



Fonte: Próprio autor, 2025.

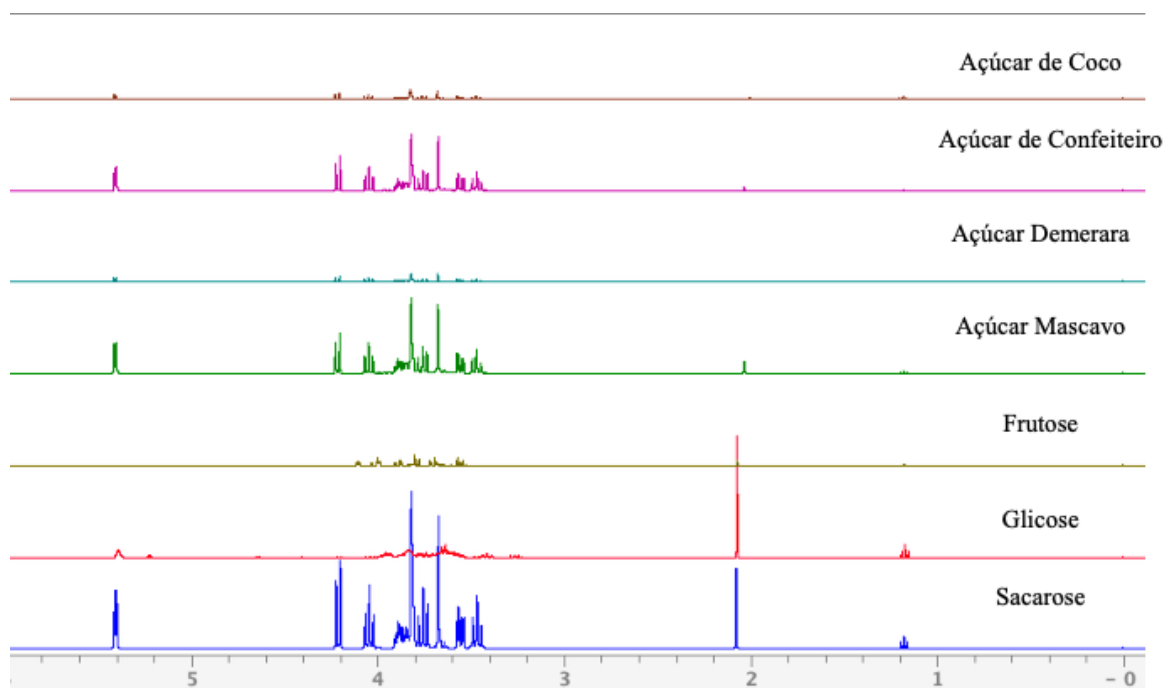
Para corroborar o argumento de que a matriz vegetal demonstra pouca mudança nas características mais observadas de maneira geral nas kombuchas e que sim o açúcar utilizado tem um fator de maior relevância nos resultados observados, as Figuras 14, 15 e 16 trazem um compilado para cada tipo de chá, verde, preto e mulungu preparado com cada tipo de açúcar utilizado no estudo, sacarose, glicose, frutose, açúcar mascavo, açúcar demerara, açúcar de confeito e açúcar de coco.

Figura 14: Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) preparados com chá verde e diferentes tipos de açúcares na região entre 6,0 e 0,0 ppm.



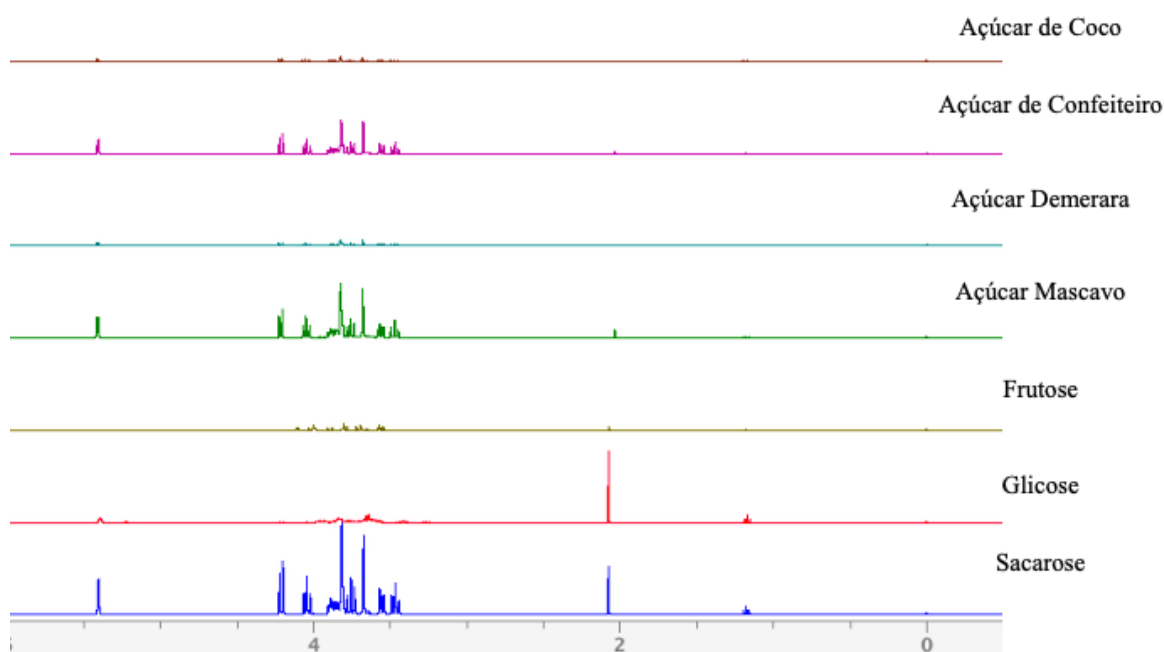
Fonte: Próprio autor, 2025.

Figura 15: Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) preparados com chá preto e diferentes tipos de açúcares na região entre 6,0 e 0,0 ppm.



Fonte: Próprio autor, 2025.

Figura 16: Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) preparados com chá preto e diferentes tipos de açúcares na região entre 6,0 e 0,0 ppm.



Fonte: Próprio autor, 2025.

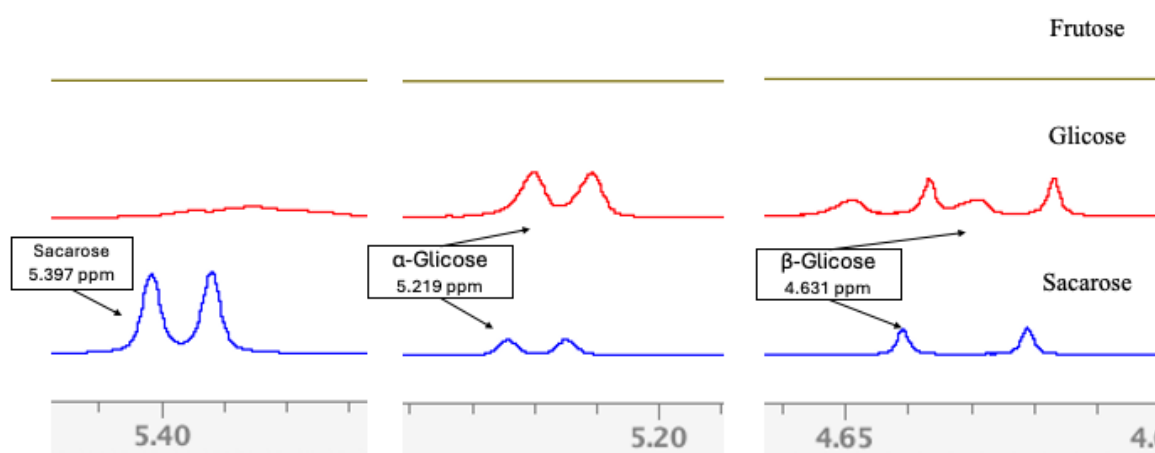
Observa-se que agora notamos uma diferença mais significativa, principalmente na região de 4,3 a 3,3 ppm, não somente na intensidade, mas na natureza do pico. A diversidade maior de sinais encontrada nos espectros está diretamente ligada ao tipo de açúcar utilizado e a como a simbiose utiliza essa matéria-prima, com mais ou menos eficiência; isso cria um perfil com intensidade de sinais dos açúcares residuais proporcional.

Quanto aos demais sinais que são evidentes, podemos ressaltar que eles variam de intensidade mantendo o padrão anterior, já que eles são resultado do metabolismo dos açúcares usados na produção do chá, sendo assim, a depender da disponibilidade do tipo do açúcar para os processos que a simbiose irá submeter, teremos sinais com intensidade proporcional, justamente esses detalhes que podem conferir características diferentes às bebidas, sendo algumas perceptíveis durante o consumo, como dulçor, cor, aroma, acidez e teor alcoólico, outras que podemos perceber analisando os processos químicos envolvidos, como a presença de compostos com propriedades terapêuticas.

A fermentação é um processo muito bem relatado e pode ser entendida da seguinte maneira: a sacarose na amostra passa por uma hidrólise enzimática executada pela simbiose e se quebra em glicose e frutose, sendo a glicose submetida a um processo de fermentação alcoólica gerando etanol e gás carbônico e por fim o etanol gerado é transformado em ácido acético por bactérias acéticas. Podemos corroborar com essa análise através da interpretação de

algumas informações contidas nos espectros gerados pela variação do tipo de açúcar utilizado no preparo do chá base da fermentação. Os resultados obtidos das amostras a partir de sacarose, glicose e frutose separadamente estão expostos na Figura 17.

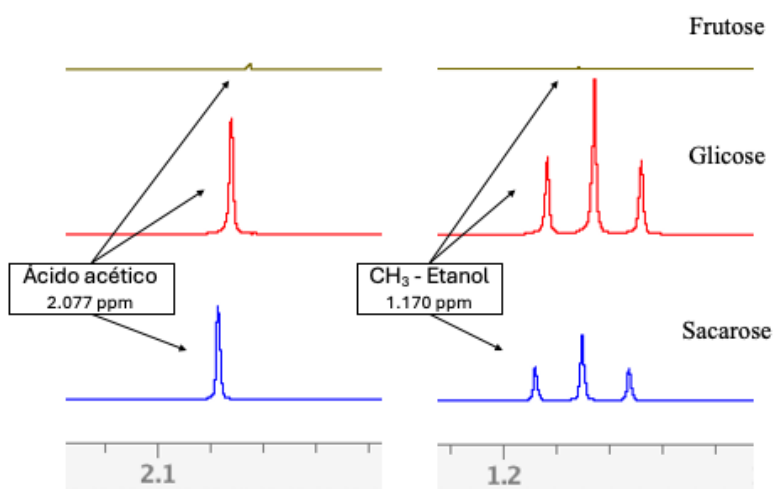
Figura 17: Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) preparados com chá mulungu e sacarose (azul), glicose (vermelho) e frutose (verde) na região entre 5,4 e 4,6 ppm.



Fonte: Próprio autor, 2025.

Analisando os intervalos onde temos sinais característicos da sacarose, da alfa e beta glicose, vemos um comportamento que corrobora a literatura, como exemplo, a sacarose que não tem sinal significativo na amostra feita puramente de glicose e frutose e a glicose que não é identificada na amostra feita puramente com frutose. A Figura 18 demonstra sinais que também vão de encontro com o relatado na literatura, a intensidade do sinal referente ao etanol apresenta menor intensidade na amostra preparada com frutose, uma vez que o processo que gera o etanol é a fermentação alcoólica da glicose, e por sua vez também mostra uma menor intensidade de ácido acético, já que sua formação vem a partir do etanol pelas bactérias acéticas.

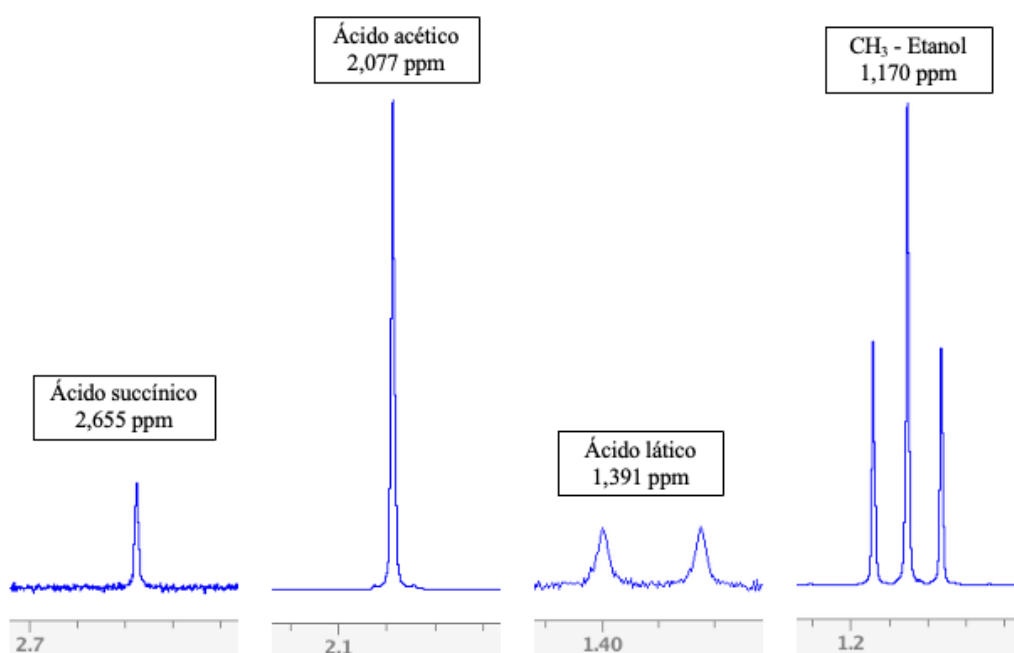
Figura 18: Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) preparados com chá mulungu e sacarose (azul), glicose (vermelho) e frutose (verde) na região entre 2,1 e 1,2 ppm.



Fonte: Próprio autor, 2025.

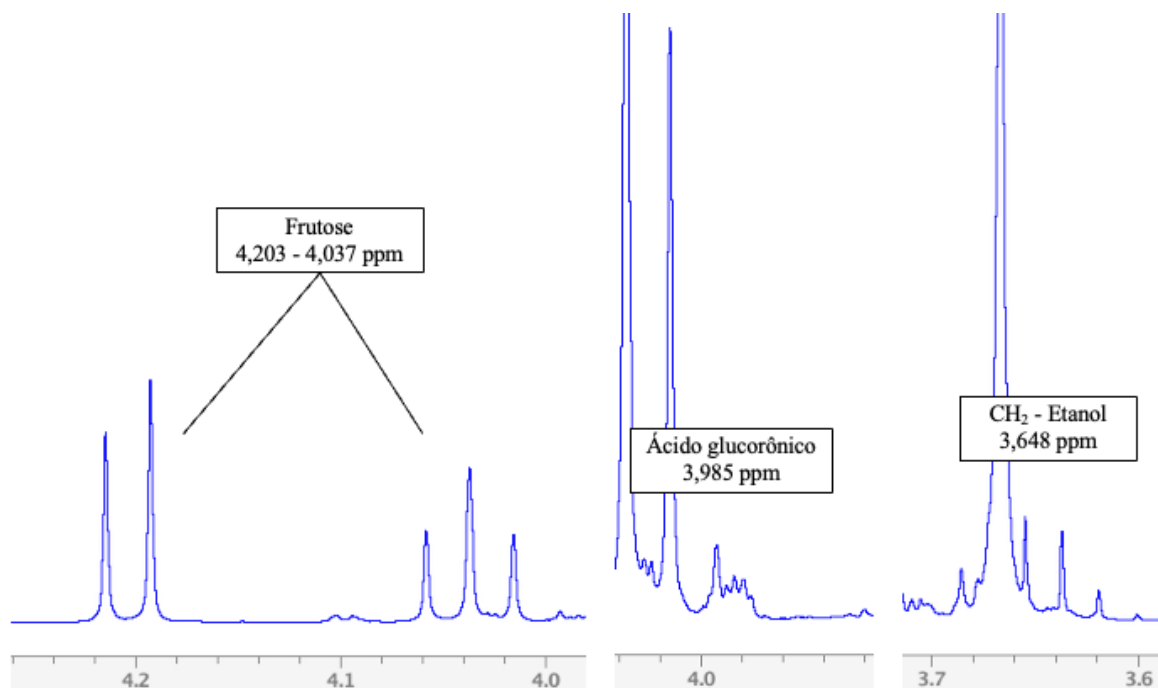
A partir da análise dos espectros e confrontando os dados com os encontrados na literatura, é possível caracterizar os principais picos que são encontrados nos espectros de todas as amostras (Figuras 19, 20 e 21).

Figura 19: Caracterização dos principais compostos evidenciados nos espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O); amostra de chá mulungu com sacarose na região entre 2,7 e 1,1 ppm.



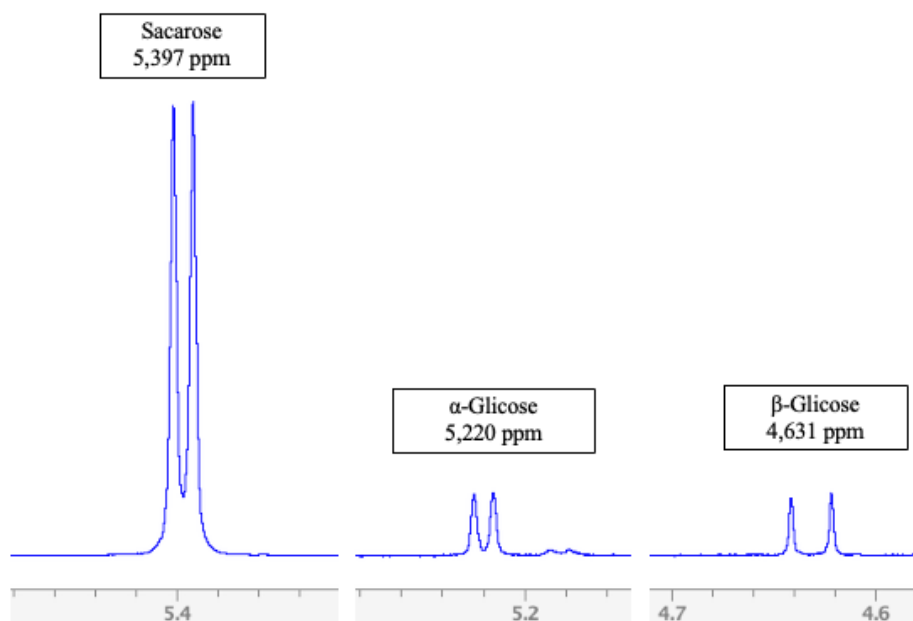
Fonte: Próprio autor, 2025.

Figura 20: Caracterização dos principais compostos evidenciados nos espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O); amostra de chá mulungu com sacarose na região entre 4,3 e 3,6 ppm.



Fonte: Próprio autor, 2025.

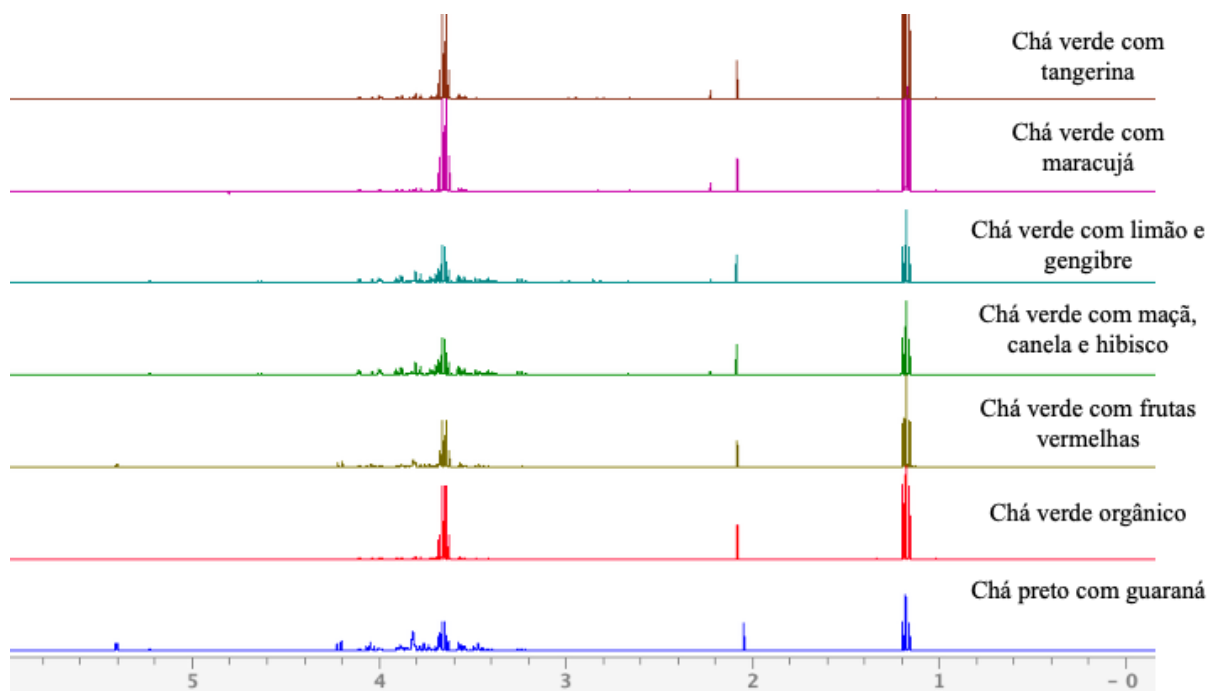
Figura 21: Caracterização dos principais compostos evidenciados nos espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O); amostra de chá mulungu com sacarose na região entre 5,5 e 4,6 ppm.



Fonte: Próprio autor, 2025.

As amostras comerciais analisadas seguem uma linha de raciocínio similar, demonstrando um padrão comum de formação dos metabólitos de maneira geral (Figura 22).

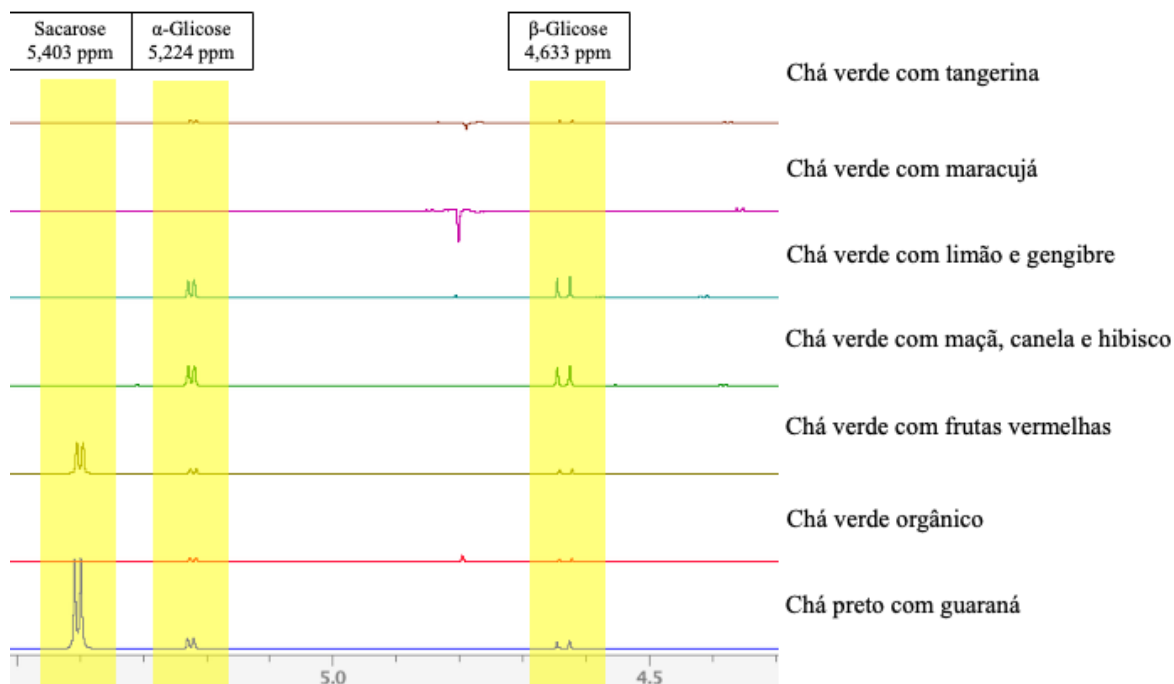
Figura 22: Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) de amostras de kombucha comercial de sabores diversos na região entre 6,0 e 0,0 ppm.



Fonte: Próprio autor, 2025.

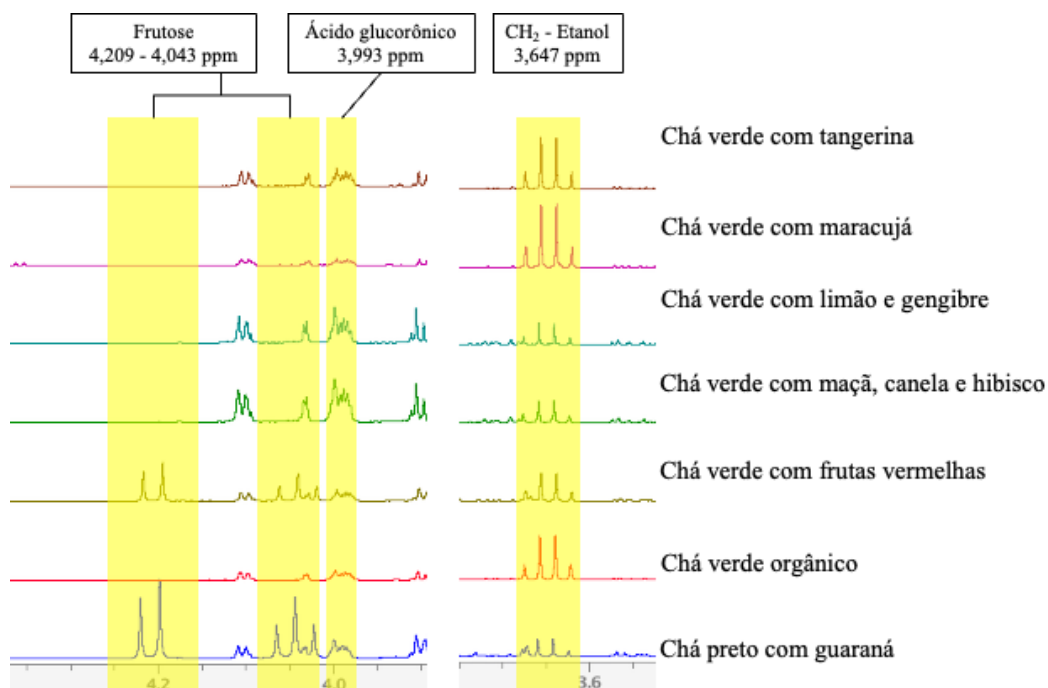
Analisando as regiões já discutidas nas amostras caseiras, observamos que os produtos encontrados nas amostras comerciais são de mesma natureza, as Figuras 23, 24, 25 trazem uma caracterização em setores onde conseguimos encontrar com sinais minimamente apreciáveis todos os compostos encontrados na kombucha de preparo caseiro.

Figura 23: Caracterização dos principais compostos evidenciados nos espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) das kombuchas comerciais de sabores diversos na região entre 5,5 à 4,5 ppm.



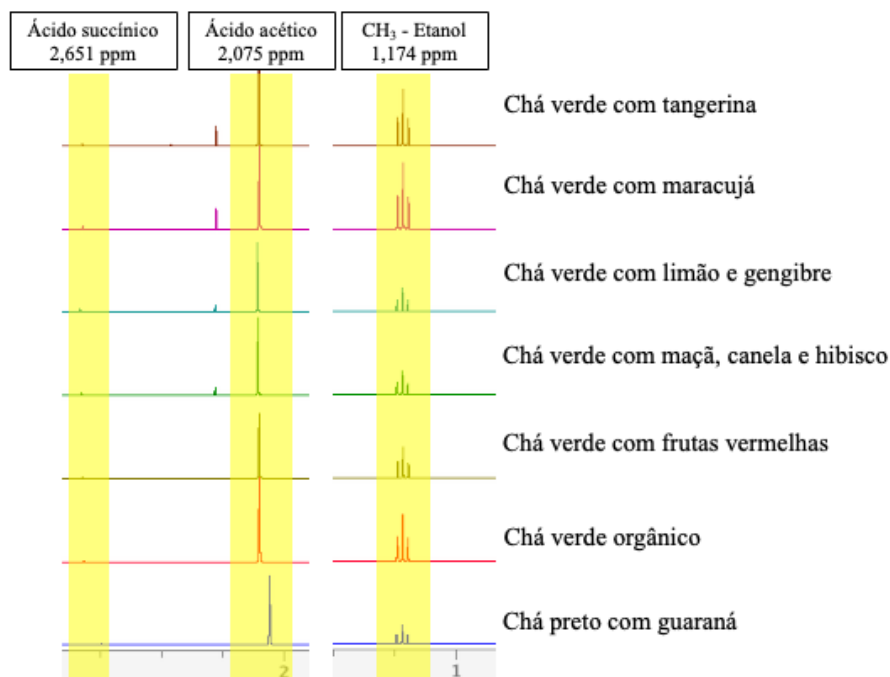
Fonte: Próprio autor, 2025.

Figura 24: Caracterização dos principais compostos evidenciados nos espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) das kombuchas comerciais de sabores diversos na região entre 4,3 à 3,6 ppm.



Fonte: Próprio autor, 2025.

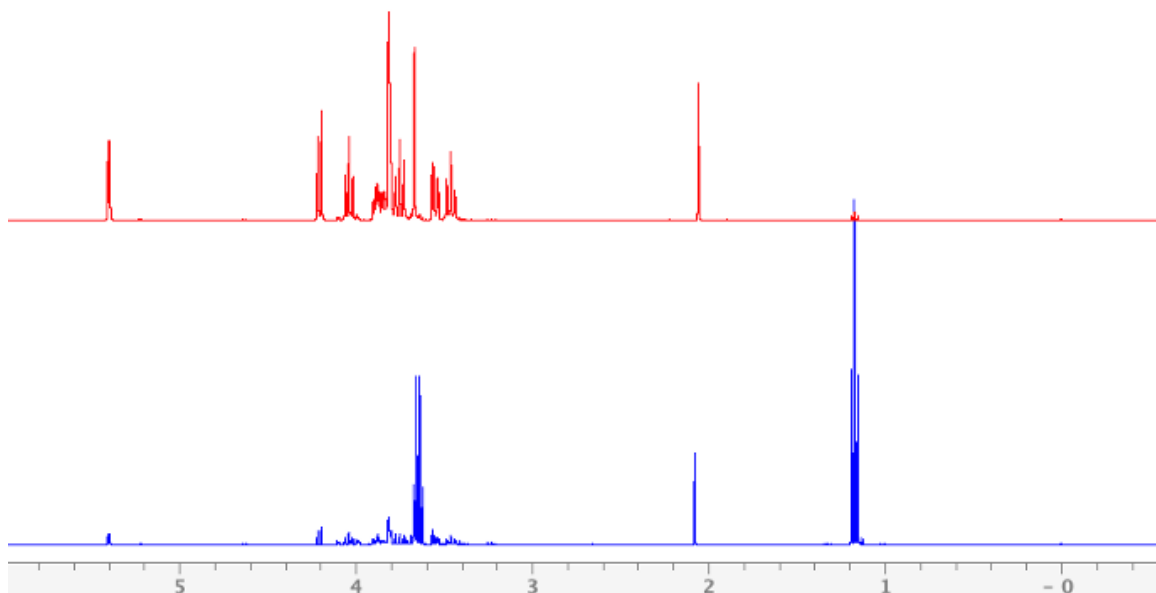
Figura 25: Caracterização dos principais compostos evidenciados nos espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) das kombuchas comerciais de sabores diversos na região entre 2,7 à 1,0 ppm.



Fonte: Próprio autor, 2025.

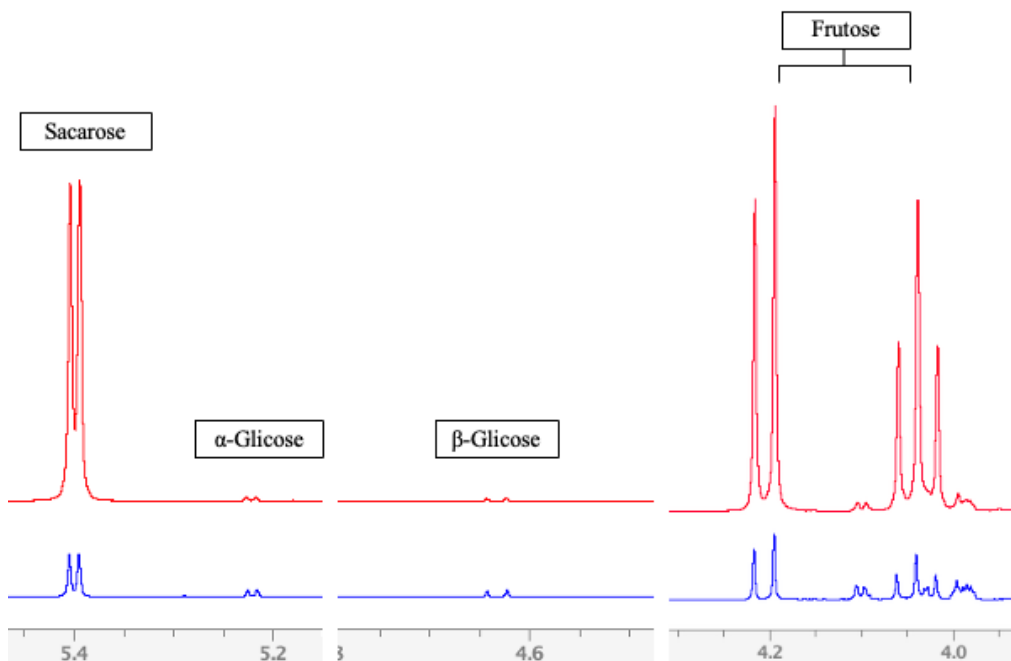
Quando comparada uma amostra de kombucha caseira com uma amostra de kombucha comercial com sabores similares para que os padrões de metabolitos sejam o mais coincidentes possível (Figura 26), nota-se que a amostra caseira apresenta um perfil de açúcares residuais muito mais intenso que a amostra comercial e de maneira inversamente proporcional, uma elevada intensidade nos sinais do ácido acético e do etanol, indicando a possibilidade de um tempo maior de fermentação o que leva o consumo maior dos açúcares e diretamente ao uma produção maior dos produtos da fermentação (Figuras 27 e 28).

Figura 26: Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) de amostra de kombucha caseira em vermelho e comercial de sabor chá verde em azul na região entre 6,0 à 0,0 ppm.



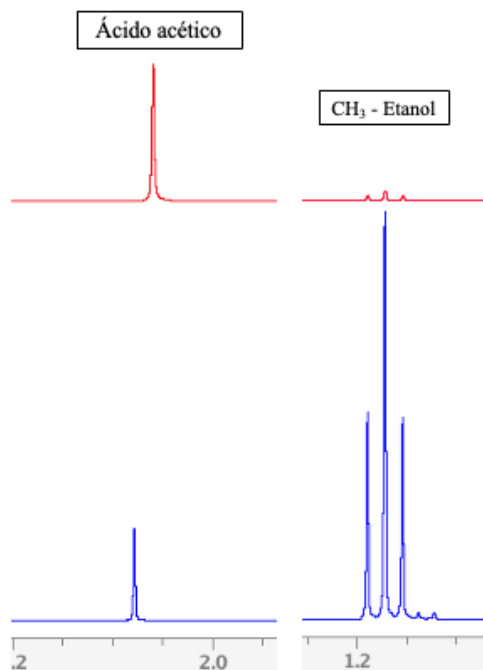
Fonte: Próprio autor, 2025.

Figura 27: Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) de amostra de kombucha caseira em vermelho e comercial de sabor chá verde em azul na região entre 5,4 à 4,0 ppm.



Fonte: Próprio autor, 2025.

Figura 28: Comparação entre os espectros de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) de amostra de kombucha caseira em vermelho e comercial de sabor chá verde em azul na região entre 2,2 à 1,1 ppm.



Fonte: Próprio autor, 2025.

5.2. Ensaio para determinação do teor total de fenóis.

A Tabela 4 exhibe os valores das triplicatas das absorvâncias a 760,0 nanômetros (nm) obtidas para cada uma das concentrações de 5 a 60 $\mu\text{g/mL}$ de ácido gálico. A Tabela 5 traz os valores das absorvâncias corrigidas, que se trata da absorvância da amostra subtraída da absorvância do branco, além da média da absorvância corrigida e do desvio padrão.

Tabela 4: Valores das triplicatas das absorbâncias a 760,0 nanômetros (nm) obtidas para cada uma das concentrações de 5 a 60 µg/mL de ácido gálico.

Absorbâncias para a solução de Ácido Gálico				
Concentração (µg/mL)		Absorbância (760 nm) (triplicata)		
Branco		0,122	0,105	0,118
5,0		0,213	0,196	0,183
10,0		0,215	0,215	0,234
15,0		0,287	0,244	0,231
20,0		0,339	0,357	0,370
25,0		0,438	0,428	0,446
30,0		0,475	0,476	0,488
35,0		0,568	0,556	0,537
40,0		0,586	0,600	0,584
45,0		0,642	0,655	0,635
50,0		0,732	0,745	0,758
55,0		0,802	0,790	0,774
60,0		0,884	0,873	0,890

Fonte: Próprio autor, 2025.

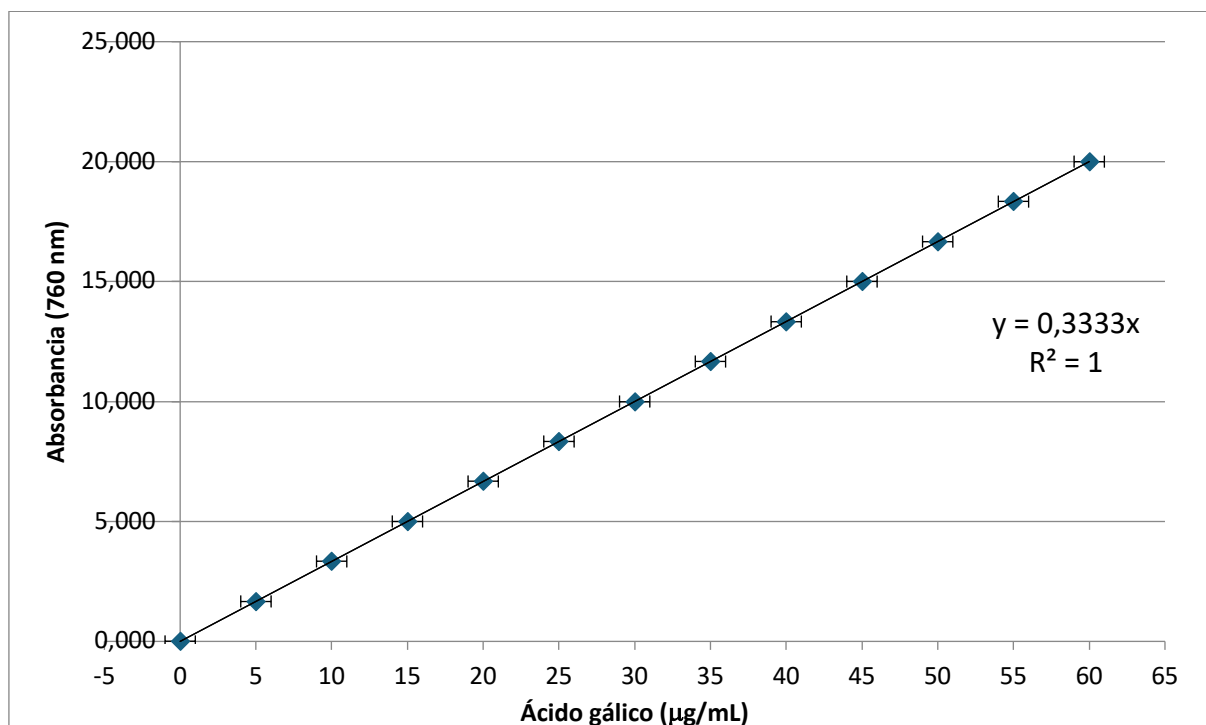
Tabela 5: Medidas das Absorbâncias corrigidas para a solução de Ácido Gálico a 760,0 nm, média e desvio padrão.

Medidas das Absorbâncias corrigidas para Ácido Gálico, média e desvio padrão.				
Absorbância corrigida (760 nm) (triplicata)			Média	Desvio Padrão
0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,091	0,091	0,065	0,082	0,015
0,093	0,110	0,116	0,106	0,012
0,165	0,139	0,113	0,139	0,026
0,217	0,252	0,252	0,240	0,020
0,316	0,323	0,328	0,322	0,006
0,353	0,371	0,370	0,365	0,010
0,446	0,451	0,419	0,439	0,017
0,464	0,495	0,466	0,475	0,017
0,520	0,550	0,517	0,529	0,018
0,610	0,640	0,640	0,630	0,017
0,680	0,685	0,656	0,674	0,016
0,762	0,768	0,772	0,767	0,005

Fonte: Próprio autor, 2025.

Utilizando a média das absorbâncias de cada amostra, podemos exibir de maneira gráfica os resultados da absorbância vs concentração de ácido gálico, para criar uma curva de calibração (Figura 29).

Figura 29: Representação gráfica da Absorbância vs Concentração de Ácido Gálico.



Fonte: Próprio autor, 2025.

O gráfico da curva de calibração apresenta equação da reta $y = 0,3333x$ onde podemos correlacionar o valor referente ao eixo x com a concentração de Ácido Gálico e o valor referente ao eixo y com a absorbância medida a 760 nm, logo podemos reescrever a equação como $A = 0,333C$, onde A é absorbância e C é concentração em µg/mL.

As medidas obtidas no ensaio com as amostras do chá mulungu, da kombucha caseira sabor chá mulungu e da kombucha comercial sabor chá verde orgânico são expressos na Tabela 6. Assim como os valores das absorbâncias corrigidas, a média das absorbâncias corrigidas e o desvio padrão são exibidos na Tabela 7.

Tabela 6: Medidas as absorbâncias a 760 nm das amostras de chá mulungu, kombucha caseira e kombucha comercial.

Medidas das Absorbâncias corrigidas das amostras a 760 nm			
	Triplicatas		
Branco	0,125	0,112	0,116
Amostra chá mulungu	0,207	0,213	0,198
kombucha caseira	0,476	0,468	0,488
kombucha comercial	1.384	1.362	1.418

Fonte: Próprio autor, 2025.

Tabela 7: Absorbâncias corrigidas a 760 nm das amostras de chá mulungu, kombucha caseira e kombucha comercial, média e desvio padrão.

Medidas das Absorbâncias corrigidas das amostras a 760 nm					
	Triplicatas			Média	Desvio Padrão
Amostra Chá Mulungu	0,082	0,101	0,082	0,088	0,011
Kombucha Caseira	0,351	0,356	0,372	0,360	0,011
Kombucha Comercial	1,259	1,250	1,302	1,270	0,028

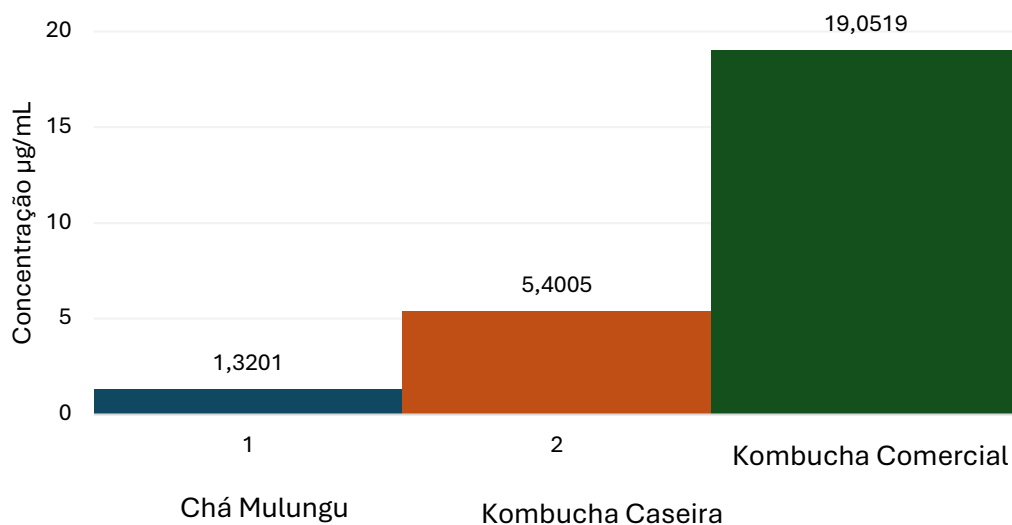
Fonte: Próprio autor.

Para quantificar o teor total de fenóis presente em cada amostra analisada utilizou-se a equação da reta gerada pela curva de calibração do ácido gálico escrita em termos de concentração e absorbância, isolando a concentração e utilizando a absorbância média corrigida de cada amostra (Figura 30) em µg de ácido gálico por mL de amostra. O resultado obtido foi multiplicado por 5 como fator de correção à diluição inicial da amostra que foi de 5 vezes, dessa maneira, temos os resultados expostos na Figura 31.

Figura 30: Equação da reta escrita em termos de absorbância (A) e concentração (C) e modificação da equação da reta para cálculo da concentração.

$$A = 0,3333C \qquad C = \frac{A}{0,3333}$$

Fonte: Próprio autor, 2025.

Figura 31: Concentração em μg de ácido gálico por mL de amostra.

Fonte: Próprio autor, 2025.

Os dados obtidos demonstram um aumento muito expressivo na quantidade de fenóis totais encontrados nas amostras, o alto potencial antioxidante de chás é bastante conhecido e retratado na literatura logo espera-se que a concentração de fenóis seja diretamente proporcional, a ação da simbiose sob a matriz vegetal, causou um aumento de pouco mais de 4 vezes na concentração de compostos fenólicos, resultados muito similares ao relatado por Jakubczyk et al. (2022), aumento esse que pode ser relacionado diretamente ao teor antioxidante da bebida. A amostra comercial apresentou um total de compostos fenólicos pouco maior que 14 vezes se comparado ao substrato inicial, porém é necessário ressaltar que as proporções de chá e água para o preparo do substrato base da amostra comercial, bem como os parâmetros de fermentação em contato com a simbiose, somado ao fato que a diluição de 5 vezes a que todas as amostras foram submetidas, foi ineficiente em diluir a amostra para que a medida da absorbância ficasse dentro dos limites, porém permitem constatar que existe uma concentração bem elevada se comparada a amostra caseira (cerca de 3,5 vezes maior).

6. Conclusão

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciam que a kombucha é uma bebida fermentada de grande complexidade química, cujo perfil final é influenciado por diversos fatores de produção, embora nenhum deles se destaque como exclusivamente determinante. A comparação entre as amostras que diferiram apenas pelo tipo de chá mostrou que a matriz vegetal exerce influência modesta no perfil químico, possivelmente em função de sua baixa proporção relativa ao açúcar, cerca de dez vezes menor. Assim, o açúcar utilizado no preparo emerge como um dos principais responsáveis pelas características observadas nos espectros, especialmente no que diz respeito aos açúcares residuais não consumidos durante o metabolismo da simbiose microbiana, que depende de fatores como sazonalidade e localização geográfica da cultura mãe (SCOBY).

Do ponto de vista das propriedades organolépticas, a kombucha é uma bebida consumida com o intuito de uma alimentação saudável, leve e agradável que se alia a algum tipo de propriedade probiótica e terapêutica. Partindo desse ponto de vista, as análises por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) permitiram identificar compostos característicos da fermentação, como ácidos orgânicos, açúcares residuais, etanol e outros metabólitos, sendo possível citar que algumas características não sejam pretendidas ao final do processo, como por exemplo um alto teor acético, que deixa a bebida com um sabor “avinagrado”, um cheiro forte e desagradável, pouco dulçor e um teor alcoólico considerável, uma vez que a kombucha não é consumida no intuito de obter efeitos causados por bebidas alcóolicas. Os perfis obtidos por amostras puras de glicose e frutose demonstram baixo teor de açúcares residuais e altos teores de ácido acético ou etanol. As amostras que foram preparadas a partir de sacarose, açúcar de coco, açúcar demerara e açúcar de confeitiro demonstram certa similaridade já que a diferença entre eles se baseia basicamente no nível de processamento industrial recebido, as pequenas diferenças observadas podem ser confrontadas com o princípio de que o preparo caseiro pretende ser mais simples e prático com ingredientes que são mais acessíveis, sendo assim a sacarose traz um intermediário em acessibilidade e um perfil metabólico rico em açúcares residuais e uma proporção, comparativamente com os demais, balanceada em níveis de ácido acético e etanol. Quanto a matriz vegetal, não apresenta diferenças significativas na alteração dos chás, levando em vista a produção caseira, o chá mulungu é uma espécie nativa da região de caatinga, portanto, não enfrenta problemas de sazonalidade e é facilmente encontrado na região.

O ensaio de fenóis totais traz à tona uma variação apreciável do teor de compostos fenólicos quando comparamos a matriz vegetal com a kombucha pronta, cerca de 5 vezes maior. O mesmo pode ser dito quando comparamos a amostra caseira com a comercial, sendo essa maior em teor total de fenóis, até mesmo excedendo o limite da curva de calibração.

Se confrontarmos esse fato às análises comparativas dos espectros de RMN observamos que essa quantidade maior de compostos fenólicos pode ser resultado de um processo de fermentação mais prolongado, já que é observado nos espectros das amostras comerciais um baixo teor de açúcares residuais e um alto teor dos produtos naturais da fermentação. O processo de fabricação das amostras comerciais não é exposto ao público, então essa afirmativa não é totalmente assertiva, o mesmo sobre os teores de compostos fenólicos, não é sabido se esses compostos são acrescentados para aumentar a vida útil da bebida ou similar.

No que diz respeito ao preparo caseiro, os resultados indicam ausência de diferenças significativas decorrentes da mudança do tipo de chá ou do tipo de açúcar utilizado. Essa baixa discriminação pode estar relacionada às elevadas concentrações de açúcar residual, etanol e ácido acético, que acabam mascarando outros sinais nos espectros. Assim, novas análises, como a aplicação de supressão seletiva de múltiplos sinais intensos, são recomendadas para permitir a identificação de diferenças mais sutis entre as amostras.

Considerando todos esses aspectos, a kombucha caseira preparada com chá de mulungu e sacarose se apresenta como uma escolha adequada, associando uma espécie vegetal nativa e facilmente disponível na região a um açúcar amplamente acessível e de baixo custo, conciliando praticidade e um perfil químico compatível com a produção doméstica.

7. Referências bibliográficas

AL-MOHAMMADI, Abdul-Raouf et al. Chemical constitution and antimicrobial activity of kombucha fermented beverage. **Molecules**, v. 26, n. 16, p. 5026, 2021. <https://doi.org/10.3390/molecules26165026>.

ALDERSON, Hazel et al. Sensory profile of kombucha brewed with New Zealand ingredients by focus group and word clouds. **Fermentation**, v. 7, n. 3, p. 100, 2021. <https://doi.org/10.3390/fermentation7030100>.

ALVIM, Raquel Patrícia Rungue et al. Identification of volatile organic compounds extracted by headspace solid-phase microextraction in specialty beers produced in Brazil. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 123, n. 2, p. 219-225, 2017. <https://doi.org/10.1002/jib.416219>.

AUNG, Thinzar; EUN, Jong-Bang. Impact of time and temperature on the physicochemical, microbiological, and nutraceutical properties of laver kombucha (*Porphyra dentata*) during fermentation. **Lwt**, v. 154, p. 112643, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112643>.

BARAKAT, Nathalie et al. Kombucha analogues around the world: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 63, n. 29, p. 10105-10129, 2023. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2069673>.

BELL, Fiona et al. Designing interactions with Kombucha SCOBY. In: *Proceedings of the Seventeenth International Conference on Tangible, Embedded, and Embodied Interaction*. 2023. p. 1-5. <https://doi.org/10.1145/3569009.3571841>.

BISHOP, Peyton et al. Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the Chemical and flavor profile. **Food Chemistry Advances**, v. 1, p. 100025, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100025>.

BORTOLOMEDI, Bruna Milena; PAGLARINI, Camila Souza; BROD, Fábio Cristiano Angonesi. Bioactive compounds in kombucha: A review of substrate effect and fermentation

conditions. **Food chemistry**, v. 385, p. 132719, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132719>.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. Instrução Normativa nº 41, de 17 de setembro de 2019. Dispõe sobre Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) da Kombucha. Brasília, DF, 2004. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/mapa-definir-padroes-de-qualidade-e-identidade-da-kombucha>.

CAO, Liang et al. Rapid preparation and proton NMR fingerprinting of polysaccharides from Radix Astragali. **Carbohydrate Research**, v. 536, p. 109053, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2024.109053>.

CARDOSO, Rodrigo Rezende et al. Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. **Food research international**, v. 128, p. 108782, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.02.071>.

COTON, Monika et al. Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. **FEMS microbiology ecology**, v. 93, n. 5, p. fix048, 2017. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix048>.

COUTO, Gabriela Olba do et al. Determinação de compostos fenólicos totais do chá verde e chá preto não fermentados e suas respectivas kombuchas. **Cadernos da Escola de Saúde**, v. 20, n. 2, p. 21-30, 2020. <https://doi.org/10.25192/issn.1984-7041.v20i25918>.

EDWARDS, John C. **Quantitative ¹H NMR Analysis Of “Off-The-Shelf” Commercial Kombucha Beverages**. Janeiro 2016. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.28518.02884>.

FABRICIO, Mariana Fensterseifer. **Padronização do processo produtivo de kombucha pela aplicação de técnicas de biotecnologia e bioprocesso**, 2022, doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2022.

GAGGIÀ, Francesca et al. Kombucha beverage from green, black and rooibos teas: A comparative study looking at microbiology, chemistry and antioxidant activity. **Nutrients**, v. 11, n. 1, p. 1, 2018. <https://doi.org/10.3390/nu11010001>

HARRISON, Keisha et al. Live, Probiotic, or Neither? Microbial Composition of Retail-Available Kombucha and “Hard” Kombucha in the Pacific Northwest of the United States. **Beverages**, v. 9, n. 3, p. 59, 2023. <https://doi.org/10.3390/beverages9030059>.

HASSLER, Verena; BRAND, Nele; WEFERS, Daniel. Isolation and characterization of exopolysaccharides from Kombucha samples of different origins. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 267, p. 131377, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131377>.

JAKUBCZYK, Karolina et al. Effects of fermentation time and type of tea on the content of micronutrients in kombucha fermented tea. **Nutrients**, v. 14, n. 22, p. 4828, 2022. <https://doi.org/10.3390/nu14224828>.

JESUS, Lázaro S. de et al. NMR and Chemometrics in the determination of chemical profiles for the distinction of Brazilian ale and lager beers. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 35, n. 6, p. e-20230192, 2024. <https://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20230192>.

KIM, Hayeong et al. Enhancement of the phenolic compounds and antioxidant activities of Kombucha prepared using specific bacterial and yeast. **Food Bioscience**, v. 56, p. 103431, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103431>.

LADEVANYA, D.; et al. Current challenges, applications and future perspectives of SCOBY cellulose of Kombucha fermentation. *Journal of Cleaner Production*, v. 295, p. 126454, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126454>.

LIMA, Maria Aducleia de et al. Potencial antioxidante do mulungu (*Erythrina velutina*) e Cordão-de-são-francisco (*Leonotis nepetaefolia*). **Europub Journal of Health Research**, v. 3, n. 4 Edição Especial, p. 368-373, 2022. <https://doi.org/0.54747/ejhrv3n4-ed.esp.023>.

MÁQUINA, Ademar Domingos Viagem et al. Analysis of ^1H NMR spectra of diesel and crambe biodiesel mixtures using chemometrics tools to evaluate the authenticity of a Brazilian standard biodiesel blend. **Talanta**, v. 209, p. 120590, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120590>.

MELO, Leticia Maria de et al. Historical overview and current perspectives on kombucha and SCOBY: A literature review and bibliometrics. **Food Bioscience**, v. 59, p. 104081, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104081>.

MIRANDA, Jeniffer Ferreira de et al. Kombucha: A review of substrates, regulations, composition, and biological properties. **Journal of Food Science**, v. 87, n. 2, p. 503-527, 2022. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16029>.

MOHSIN, Aliah Zannierah et al. The effects of encapsulation process involving arabic gum on the metabolites, antioxidant and antibacterial activity of kombucha (fermented sugared tea). **Food hydrocolloids for health**, v. 2, p. 100072, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.fhfh.2022.100072>.

NURIA ELIZABETH ROCHA-GUZMÁN, M. R. M.-J, et al. Polyphenolic Profile, Sugar Consumption and Organic Acids Generation along Fermentation of Infusions from Guava (*Pisidium guajava*) by the Kombucha Consortium. **Recent Research in Science and Technology**, [S. l.], v. 10, p. 16–22. <https://doi.org/10.25081/rrst.2018.10.3399>.

NAM, Younhee et al. Isolation and Purification of Antibacterial Compound from Kombucha of SCOBY. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 35, p. e2504012, 2025. <https://doi.org/10.4014/jmb.2504.04012>.

NEVES, Kidney OG et al. ^1H NMR Chemical Profile and Antioxidant Activity of Eugenia. Punicifolia Extracts Over Seasons: A metabolomic pilot study. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 35, n. 7, p. e-20240010, 2024. <https://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20240010>.

NURANI, Laela Hayu et al. Metabolite fingerprinting using ^1H -NMR spectroscopy and chemometrics for classification of three *Curcuma* species from different origins. **Molecules**, v. 26, n. 24, p. 7626, 2021. <https://doi.org/10.3390/molecules26247626>.

OLIVEIRA, Jordan Teixeira et al. Green tea and kombucha characterization: Phenolic composition, antioxidant capacity and enzymatic inhibition potential. **Food Chemistry**, v. 408, p. 135206, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135206>.

PALMIOLI, Alessandro et al. Metabolomic profiling of beers: Combining ^1H NMR spectroscopy and chemometric approaches to discriminate craft and industrial products. **Food chemistry**, v. 327, p. 127025, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127025>.

PIRES, Bruna de Campos et al. Camellia sinensis: benefícios no auxílio ao tratamento da obesidade. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 15411-15420, 2021. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n2-251>.

PRIMIANI, C. Novi et al. Kombucha fermentation test used for various types of herbal teas. In: **Journal of Physics: Conference Series**. IOP Publishing, 2018. p. 012073. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1025/1/012073>.

QUIFER-RADA, Paola et al. A comprehensive characterisation of beer polyphenols by high resolution mass spectrometry (LC–ESI-LTQ-Orbitrap-MS). *Food chemistry*, v. 169, p. 336-343, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.154>.

SILVA, Mariana Muniz da et al. Use of kombucha SCOBY and commercial yeast as inoculum for the elaboration of novel beer. **Fermentation**, v. 8, n. 12, p. 748, 2022. <https://doi.org/10.3390/fermentation8120748>.

SOARES, Marcelo Gomes; DE LIMA, Marieli; SCHMIDT, Vivian Consuelo Reolon. Technological aspects of kombucha, its applications and the symbiotic culture (SCOBY), and extraction of compounds of interest: A literature review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 110, p. 539-550, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.017>.

TAN, Wee Ching; MUHIALDIN, Belal J.; MEOR HUSSIN, Anis Shobirin. Influence of storage conditions on the quality, metabolites, and biological activity of soursop (*Annona muricata*. L.) kombucha. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 603481, 2020. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.603481>.

THAI, Thanh Thao Sandy. **Application Of NMR Analysis to Determine Concentration of Ethanol, Acids, And Sugars in Kombucha Beverages**. A Project Paper Presented to the Faculty of the Graduate School of Cornell University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Professional Studies in Agriculture and Life Sciences Field of Food Science and Technology. Ithaca, NY, EUA. P – 49. 2018.

TU, Chuanhai et al. Dynamics of microbial communities, flavor, and physicochemical properties of kombucha-fermented *Sargassum fusiforme* beverage during fermentation. **Lwt**, v. 192, p. 115729, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.115729>.

VARGAS, Bruna Krieger. **Avaliação de toxicidade e potencial antioxidante *in vitro* e *in vivo* de kombucha de chá verde padronizada**. 2024. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2024.

XIA, Xiudong et al. Kombucha fermentation enhances the health-promoting properties of soymilk beverage. **Journal of Functional Foods**, v. 62, p. 103549, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103549>.

XIONG, Ruo-Gu et al. Antioxidant activities, phenolic compounds, and sensory acceptability of kombucha-fermented beverages from bamboo leaf and mulberry leaf. **Antioxidants**, v. 12, n. 8, p. 1573, 2023. <https://doi.org/10.3390/antiox12081573>.

YANG, Jieping et al. Microbial and chemical profiles of commercial kombucha products. **Nutrients**, v. 14, n. 3, p. 670, 2022. <https://doi.org/10.3390/nu14030670>.