



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS



MARCELO GOMES SOARES

PROPRIEDADES EMERGENTES, APLICAÇÕES E USO TERAPÊUTICO DO
KOMBUCHA E SEU SCOBY: UMA REVISÃO

Patos de Minas

2021

MARCELO GOMES SOARES

PROPRIEDADES EMERGENTES, APLICAÇÕES E USO TERAPÊUTICO DO
KOMBUCHA E SEU SCOBY: UMA REVISÃO

Artigo apresentado à Faculdade de Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora(a): Dra. Vivian Consuelo Reolon Schmidt

Coorientador(a): Dra. Marieli de Lima

Patos de Minas

2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Faculdade de Engenharia Química

Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 1K - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902

Telefone: (34) 3239-4285 - secdireq@feq.ufu.br - www.feq.ufu.br



HOMOLOGAÇÃO

MARCELO GOMES SOARES

Propriedades emergentes, aplicações e uso terapêutico do Kombucha e seu SCOBY: uma revisão

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado nesta data para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) - *campus* Patos de Minas (MG) pela banca examinadora constituída por:

Prof.^a Dr.^a Vivian Consuelo Reolon Schmidt
Orientador(a) - UFU

Prof. Dr. Paulo José do Amaral Sobral
USP

Prof.^a Dr.^a Sara Arvelos
UFU

Patos de Minas, 11 de março de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **Vivian Consuelo Reolon Schmidt, Professor(a) do Magistério Superior**, em 11/03/2021, às 10:56, 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 **Paulo José do Amaral Sobral, Usuário Externo**, em 11/03/2021, às 10:56, 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 **Sarah Arvelos, Professor(a) do Magistério Superior**, em 11/03/2021, às 10:56, 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 **2621649** e o código CRC **2906170C**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente aos meus pais, Leda e Osanan, pelo incentivo aos estudos. Além disso, manifesto meus agradecimentos pelo apoio em todos os momentos de dificuldade durante a graduação e a elaboração deste trabalho.

A minha família, principalmente minhas tias Cida e Sandra, minha avó Lucinda e meu primo Filipe, sou grato por todas as palavras e atitudes de força e carinho, para que eu conseguisse permanecer resiliente em todas as etapas. A minha avó Dalva, um agradecimento especial por acreditar na minha determinação e pelas longas horas de conversas que me deram tanto conhecimento.

Aos meus amigos, Ingrid, Celso, Luiz, Vítor e às amizades que desenvolvi durante a graduação, manifesto minha gratidão por sempre estarem presente em todos os momentos em que haviam obstáculos em minha vida. Agradeço também por torcerem vigorosamente por mim e acreditarem na minha determinação e objetivos.

A minha orientadora, Vivian, agradeço por acreditar no meu esforço, por sempre ajudar-me a desenvolver minhas habilidades profissionais e me dar as inúmeras oportunidades durante a graduação. Sou imensamente grato pelas palavras e conversas amigas nos períodos de dificuldade. A minha professora e coorientadora, Marieli, a oportunidade de acreditar neste projeto e contribuir com seu conhecimento e experiência.

À banca examinadora, agradeço o aceite e a disposição para contribuir com o aprimoramento deste trabalho.

SOARES, Marcelo Gomes. Propriedades emergentes, aplicações e uso terapêutico do kombucha e seu SCOBY: uma revisão. Artigo apresentado à Faculdade de Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Engenharia de Alimentos.

RESUMO

O kombucha é uma bebida probiótica obtida através da fermentação de chá verde e/ou preto adoçado por uma cultura mista de bactérias e leveduras (SCOBY). A propagação da informação em torno dos benefícios associados ao seu consumo expandiu a popularidade desta bebida e as possibilidades de fabricação (sob escala industrial, além da tradicional escala artesanal, incluindo diversos sabores). Juntamente com a bebida, o potencial tecnológico do SCOBY tem sido explorado para outras aplicações em diversos segmentos. Assim, esta revisão bibliográfica tem o objetivo de elucidar os aspectos tecnológicos que estão sendo avaliados no kombucha e no SCOBY, tais como: (a) avaliar os parâmetros de consumo e de produção da bebida em diferentes escalas; (b) descrever a microbiota do SCOBY e os fatores que influenciam na formação da película e do processo fermentativo; (c) demonstrar a capacidade tecnológica de aplicação do kombucha e do SCOBY e (d) sintetizar as principais evidências científicas da literatura com relação ao consumo de kombucha e a saúde humana. Observou-se que embora a dinâmica da fermentação e a seleção das espécies microbianas para o processo sejam elucidados, a produção do kombucha em escala industrial não é predominante, onde há poucas informações a respeito da avaliação da fermentação de grandes volumes de bebida. O SCOBY tem sido aproveitado por diversos setores industriais, especialmente por conta de sua composição, que permite aplicações na área alimentícia, de vestuário, em processos biotecnológicos e na área biomédica. No entanto, para atender a todas essas demandas com mais eficácia, se faz necessária a otimização do processo industrial do kombucha, que incluem estabelecer equipamentos específicos, padronização do produto, redução de custos e rentabilidade do processo.

Palavras-chave: Probiótico; Comunidade microbiana; Bebida; Fermentação; Biofilmes;

SOARES, Marcelo Gomes. Emerging properties, applications, and therapeutic use of kombucha and its SCOBY: a review. Work presented to the Faculty of Chemical Engineering at the Federal University of Uberlândia as a partial requirement for obtaining a bachelor's degree in Food Engineering.

ABSTRACT

Kombucha is a probiotic drink obtained through the fermentation of green and/or black tea sweetened by a mixed culture of bacteria and yeasts (SCOBY). The spread of information around the benefits associated with its consumption has expanded the popularity of this drink and manufacturing possibilities (on an industrial scale, in addition to the traditional artisanal scale, including various flavours). Together with the beverage, the technological potential of SCOBY has been exploited for other applications in various segments. Thus, this literature review aims to elucidate the technological aspects that are being evaluated in kombucha and SCOBY, such as: (a) evaluating the parameters of consumption and production of the beverage at different scales; (b) describe the SCOBY microbiota and the factors that influence the formation of film and the fermentation process; (c) demonstrate the technological capacity of kombucha and SCOBY application and (d) synthesize the main scientific evidence in the literature regarding kombucha consumption and human health. It was observed that although the dynamics of fermentation and the selection of microbial species for the process are elucidated, the production of kombucha on an industrial scale is not predominant, where there is little information regarding the evaluation of the fermentation of large volumes of beverages. SCOBY has been used by several industrial sectors, especially because of its composition, which allows applications in the food, clothing, biotechnological processes and biomedical areas. However, to meet all these demands more effectively, it is necessary to optimize the industrial process of kombucha, which include so-called establishing specific equipment, product standardization, cost reduction and process profitability.

Keywords: Probiotic; Microbial community; Beverage; Fermentation; Biofilms

1. Introdução

O kombucha é um chá obtido tradicionalmente da fermentação da infusão de folhas de chás preto e verde adoçadas, resultando em um produto de sabor levemente ácido e adocicado, com alta aceitação sensorial (Greenwalt, Ledford & Steinkraus, 1998; Hartmann, Burleson, Holmes & Geist, 2000; Jayabalan, Malbaša, Lončar, Vitas & Sathishkumar, 2014; Jayabalan & Waisundara, 2019). É uma bebida que vem se popularizando no Ocidente devido às suas inúmeras propriedades benéficas, principalmente nos Estados Unidos e na Europa, em virtude dos efeitos terapêuticos e sua relação com o retardo no envelhecimento (Chakravorty, Bhattacharya, Chatzinotas, Chakraborty, Bhattacharya & Gachhui, 2016). A ingestão de componentes presentes nos chás, como flavonoides, catequinas, taninos e óleos essenciais têm ligação direta na redução do desenvolvimento de doenças (Kapp & Sumner, 2019).

O kombucha é resultado da atividade metabólica de uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras, nomeada de SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*), que produzem película celulósica durante a fermentação. Os metabólitos resultantes das atividades microbiológicas são os principais constituintes associados aos efeitos benéficos à saúde. Ácidos orgânicos, catequinas, flavonoides e compostos fenólicos tem sido de interesse em pesquisas para explicar a correlação com as propriedades terapêuticas (Vitas, Malbaša, Grahovac, & Lončar, 2013). Entre as várias alegações, os benefícios antimicrobianos, antioxidantes, antidiabéticos e anticancerígenos tem se destacado e despertado o interesse do consumidor (Yang et al., 2010; Chakravorty et al., 2016; Chakravorty, Bhattacharya, Bhattacharya, Sarkar & Gachhui, 2019).

A produção em escala industrial vem sendo utilizada e o mercado tem tido crescimento significativo, sendo o kombucha o produto que mais cresce no setor de

bebidas funcionais (Dutta & Paul, 2019). O mercado global de kombucha tem inúmeras vantagens para um crescimento significativo nos próximos anos, como a crescente conscientização entre os consumidores sobre os benefícios da bebida, a mudança de estilo de vida e preocupações com a saúde (Jayabalan & Waisundara, 2019). O SCOBY tem sido usado como cultura inicial de diversos produtos, tais como lácteos, cereja azeda, laranja, uva, alcachofra de Jerusalém, menta, eucalipto, groselha, água de coco e fermentação de café para melhorar as propriedades funcionais (Xia et al., 2019).

Apesar do foco no desenvolvimento de novas bebidas, tanto o chá quanto SCOBY estão surgindo como outras promissoras aplicações. A alta acidez do chá tem alcançado resultados significativos na inibição de microrganismos patógenos, estimulando a utilização do chá na conservação pós-colheita de frutas e nas indústrias do ramo biomédico (Zhou et al, 2019). Já o SCOBY tem sido testado em diversas formulações de bebidas, com intuito de elevar o potencial terapêutico e a qualidade sensorial, além de ser testado no desenvolvimento de biomateriais por apresentar celulose bacteriana em sua estrutura. Materiais celulósicos têm atraído crescente interesse como alternativa aos materiais sintéticos, especialmente como carga e reforço para compósitos (Qing et al., 2013). Essa substituição dá-se em virtude da celulose bacteriana ter estrutura semelhante à da celulose vegetal e apresentar vantagens como fibras de caráter nanométrico, alta biodegradabilidade, baixos custo e impacto ambiental (Neves, Garcia, Apati, Pezzin & Schneider, 2018).

2. OBJETIVO

Realizar um levantamento bibliográfico a respeito do potencial tecnológico do kombucha e do SCOBY, sua obtenção, possibilidades de aplicação e benefícios à saúde.

2.1. Objetivos específicos

- i) avaliar os parâmetros de consumo, produção e comparar as técnicas de preparo em escala artesanal e industrial,
- ii) descrever as bactérias e leveduras que formam o SCOBY e os fatores que influenciam na fermentação,
- iii) descrever a capacidade tecnológica do chá kombucha e do SCOBY para aplicação no campo industrial,
- iv) obter um levantamento das principais evidências científicas contidas na literatura em relação a saúde humana.

3. História e avanços do consumo de kombucha

O relato do primeiro consumo de kombucha remete a 220 a.C. na região da Manchúria, durante a dinastia Chin, sendo denominado como o "chá da imortalidade" (Santos, 2016). Contudo, a expressão “kombucha” deve-se ao médico Kombu, que usou a bebida para curar os problemas digestivos do imperador japonês Inkyo, em 414 d.C. (Chakravorty et al., 2019). À medida que houve a expansão das rotas comerciais, o consumo do kombucha difundiu-se em várias partes ao redor do mundo, principalmente para a Índia e a Rússia, onde foi reconhecido como um remédio eficiente entre comunidades rurais no tratamento de doenças gastrointestinais, tornando a Rússia o berço moderno do kombucha (Dutta & Paul, 2019). Até a Segunda Guerra Mundial, o consumo era popular em grande parte da Europa, quando ocorreu uma escassez inevitável de chá e açúcar, itens básicos para a fermentação (Jayabalan et al., 2014). Naquela época (1940), alguns estudos empíricos eram desenvolvidos por médicos de um hospital em Omsk que indicaram que pacientes que ingeriram kombucha regularmente encontraram alívio de uma variedade de doenças, incluindo inflamação aguda, angina e problemas digestivos.

Paralelamente, efeitos benéficos em desintéria infantil, aterosclerose e nível de pressão sanguínea (Crum & Lagory, 2016).

Consequentemente, na década de 1960, para comprovar os resultados empíricos, cientistas suíços iniciaram pesquisas que relataram que beber kombucha era igualmente benéfico como comer iogurte. Após o incidente de Chernobyl, estudos russos indicaram que as pessoas que consumiam kombucha regularmente eram mais resistentes aos efeitos da radiação nuclear (Shenoy, Lobo & Dias, 2019).

Assim, a popularidade do chá cresceu ao longo dos anos, principalmente nas últimas duas décadas e sua produção comercial registrou uma ampliação notável, especialmente nos Estados Unidos, além de outras partes do mundo (Shenoy, Lobo & Dias, 2019). Há uma alta demanda na América do Norte e na Europa, e os EUA têm a maior participação de mercado. Em 2016, os EUA responderam por aproximadamente 51% das vendas mundiais. Espera-se um crescimento moderado na América Latina nos próximos anos, mais alto no Brasil, Venezuela e Argentina (Jayabalan & Waisundara, 2019).

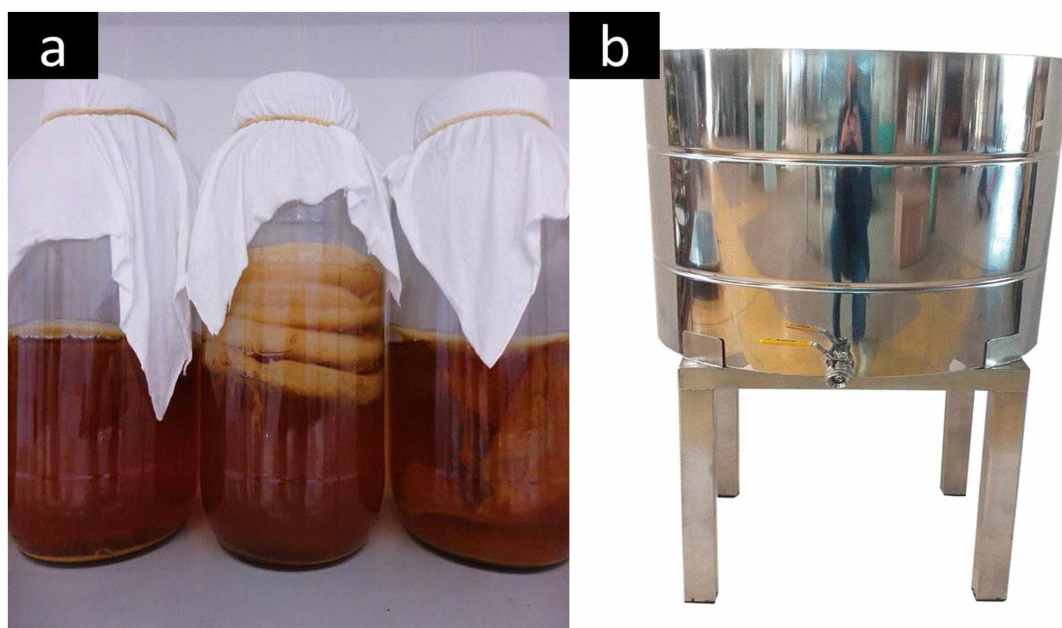
O mercado global de bebidas e alimentos probióticos é um dos setores da indústria de alimentos que mais cresce, o qual atingiu cerca de US\$ 2,5 bilhões em 2020 em equipamentos. Portanto, existem vários artigos científicos investigando seus efeitos terapêuticos (Sinir, Tamer & Suna, 2019; Kapp & Sumner, 2019; Ahmed, Hikal & Abou-Taleb, 2020). No entanto, seus benefícios à saúde têm sido explorados apenas por meio de modelos experimentais e há uma falta de evidências científicas sobre modelos humanos (Jayabalan et al., 2014).

4. Técnicas de preparo do kombucha

O chá preto e chá verde são os mais utilizados para o preparo do kombucha, seja por meio da combinação de ambos ou isoladamente. Geralmente, 50 g de sacarose são dissolvidos em 1 L de água potável fervente e adiciona-se esta mistura às folhas de chá para que haja a infusão (Paludo, 2017; Dutta & Paul, 2019). Diferentes proporções de chás e açúcares são reportadas no preparo do kombucha. Malbaša et al. (2008a), Pure & Pure (2016)a, Kallel, Desseaux, Hamdi, Stocker & Ajandouz (2012) utilizaram 70, 20 e 100 g.L⁻¹ de sacarose para 5, 10 e 12 g.L⁻¹ de folhas de chá, respectivamente. Outras formulações com substratos e infusões já foram testadas, como soro de soja (Tu, Tang, Azi, Hu & Dong, 2019), Coffeeberry® (Essawet et al., 2015), suco de grama de trigo (Sun, Li & Chen, 2015), etc.

Posteriormente à infusão, o arrefecimento prévio do chá é necessário para a inserção da cultura starter para fermentação (SCOBY). Em escala artesanal, SCOBY é adicionado ao chá base em um recipiente de vidro (demonstrado na Figura 1a), e deve ter um gargalo largo de modo a permitir fácil acesso e área de superfície suficiente para a troca de ar com o ambiente. Em escala industrial, há a necessidade de grandes áreas de superfície em tanques de fermentação, como mostrado na Figura 1b, para que haja a troca de culturas (Jayabalan & Waisundara, 2019). Devido ao baixo pH, alguns materiais como latão, ferro fundido e alumínio devem ser evitados. Em escala industrial, é inviável a utilização de tanques feitos de vidro como comumente relatado em escala artesanal. Para isso, adaptações de equipamentos à base de aço inoxidável da produção de cerveja têm sido as opções mais viáveis no setor industrial (Crum & Lagory, 2016).

Figura 1 - (a) Recipiente de vidro e (b) fermentador industrial para kombucha



Fonte: (a) Timeout, 2020; (b) R&G Máquinas, 2021

Após o início da fermentação, cerca de 7 a 8 dias (a 25°C) são necessários até que a primeira fermentação seja produzida. À medida que ocorre a fermentação, uma nova camada de SCOBY é formada na parte superior do caldo, que vai crescendo a partir de novas camadas que se acumulam umas sobre as outras. O SCOBY atinge uma espessura entre 8 e 12 mm por volta de 14 dias e sedimenta quando atinge proporções de peso maiores. As novas películas formadas são removidas para finalizar a primeira fermentação e deve ser acondicionada submersa em um pouco do chá produzido para iniciar outros lotes futuramente (Shenoy, Lobo & Dias, 2019).

Uma segunda fermentação geralmente é feita a fim de aprimorar a aceitação sensorial do kombucha, sendo uma etapa acrescida nas produções artesanais e industriais para adicionar sabor e para que ocorra a carbonatação da bebida. Na produção artesanal, ao chá já envasado é adicionado os compostos de sabor e em seguida o acondicionamento em anaerobiose. Frutas, ervas e óleos essenciais frequentemente são utilizados para

agregar novas características ao produto. Os sabores levam de 2 a 5 dias para a total incorporação no chá, dependendo da potência do composto (Dutta & Paul, 2019).

Algumas etapas adicionais para controle do processo industrial são essenciais, de forma que mantenha-se a qualidade físico-química, nutricional e microbiológica. No processo artesanal, é imprescindível que haja barreiras para pragas, como gaze ou papel toalha (esterelizado a seco), ao mesmo tempo em que permita a passagem de gás para uma fermentação ideal. A fermentação de kombucha exige condições aeróbias parciais e liberação suficiente de CO₂ formada durante a fermentação. Estes cuidados são imprescindíveis para que haja a produção dos ácidos e metabólitos característicos do kombucha (Dutta & Paul, 2019; Villarreal-Soto, Beaufort, Bouajila, Souchard & Taillandier, 2018).

O pH reduzido do chá após 7 a 8 dias de fermentação (entre 2,0 e 3,0) controla o desenvolvimento de patógenos. Entretanto, um controle desse parâmetro deve ser estabelecido, visto que a produção excessiva de ácidos orgânicos pode representar riscos na aceitação do sabor. A cultura deve então ser removida cuidadosamente da bebida e mantida em uma pequena quantidade do chá. Industrialmente, a bebida é bombeada para tanques com CO₂ pressurizado a fim de que ocorra uma maior carbonatação. O chá restante é filtrado, envasado e armazenado a 4°C devido às baixas temperaturas proporcionarem melhor estabilização da fermentação e uma consequente manutenção das condições ideais de consumo (Dutta & Paul, 2019).

Com o crescimento da bebida no mercado mundial, a evolução nos estudos para *scale-up* do processo industrial têm se tornado prioritário. Mohammadshirazi & Kalhor (2016) verificaram que ao aumentar o volume de produção de kombucha, os custos de entradas como microorganismos, eletricidade e despesas de máquinas diminuirão devido os custos de conservação. Os custos e a receita total para produção da bebida seriam de

US\$ 0,97 L⁻¹ e \$ 1,35 L⁻¹, respectivamente (Mohammadshirazi & Kalhor, 2016). Em estudo realizado por Coton et al. (2017), as condições ideais para preparo foram 70 g.L⁻¹ de substrato inicial, área de contato entre o chá e o SCOBY de 0,0231 a 0,0642 cm⁻¹ e 14 dias de fermentação. Além disso, foi mostrado que o volume ou tamanho do vaso também não foram determinantes para obter bebidas com perfis semelhantes. Para a padronização e *scale-up* da produção industrial de kombucha, uma série de fatores ainda são variáveis determinantes, entre eles estão o pH (Malbaša et al., 2006), área interfacial específica (Cvetković, Markov, Djurić, Savić & Velićanski, 2008) e ecologia microbiana (Coton et al., 2017). De todas as etapas, a fermentação exige maior atenção no que diz respeito ao controle crítico para o crescimento de patógenos, sendo que o pH deve ser monitorado continuamente (Nummer, 2013).

5. SCOBY (Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras)

O termo SCOBY refere-se particularmente ao biofilme sobrenadante usado como *starter* para fermentação do chá, sendo conhecido por várias nomeações, como elixir de vida longa, cogumelo milagroso, bactérias do chá vermelho, kombucha de esponja do chá, cogumelo medicinal, tesouro do mar, cogumelo japonês, algas do rio Nilo, gota de água-viva, esponja da Manchúria, fungo de vinho indiano, cogumelo do herói etc (Santos, 2016). Um SCOBY está demonstrado na Figura 2. O termo SCOBY foi dado por Len Porzio, na década de 1990, como uma maneira de distinguir a nova cultura formada no chá da cultura mãe (Crum & Lagory, 2016).

Figura 2 – Aspecto visual do SCOBY



Fonte: Autoria própria, 2021.

O SCOBY composto por uma associação de bactérias e leveduras que criam uma relação simbiótica. Na ecologia microbiana do kombucha/SCOBY, as principais cepas bacterianas e leveduras foram identificadas e apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Principais microrganismos encontrados no kombucha/SCOBY (Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras)

Bactérias	Leveduras	
<i>Acetobacter</i> sp.	<i>Arxula adeninivorans</i>	<i>Lachancea thermotolerans</i>
<i>Acetobacter aceti</i>	<i>Brettanomyces lambicus</i>	<i>Lachancea fermentati</i>
<i>Acetobacter pasteurianus</i>	<i>Brettanomyces claussenii</i>	<i>Lachancea kluyveri</i>
<i>Acetobacter nitrogenifigens</i>	<i>Brettanomyces custersii</i>	<i>Merimblaingelheimense</i>
<i>Acetobacter peroxydans</i>	<i>Candida kefyr</i>	<i>Meyerozyma caribbica</i>
<i>Bacterium gluconicum</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>
<i>Enterobacter cancerogenus</i>	<i>Candida stellata</i>	<i>Mycoderma</i> sp.
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Candida stellimalicola</i>	<i>Mycotorula</i> sp.
<i>Enterobacter ludwigii</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Gluconacetobacter kombuchae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Saccharomyces ludwig</i>
<i>Gluconacetobacter europaeus</i>	<i>Debaryomyces hansenii</i>	<i>Saccharomycodes ludwigii</i>
<i>Gluconobacter saccharivorans</i>	<i>Dekkera anomala</i>	<i>Saccharomycopsis fibuligera</i>
<i>Gluconobacter oxydans</i>	<i>Dekkera bruxellensis</i>	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>
<i>Komagataeibacter xylinus</i>	<i>Eremothecium ashbyii</i>	<i>Starmeraamethionina</i>
<i>Komagataeibacter rhaeticuse</i>	<i>Eremothecium cymbalariae</i>	<i>Starmeracaribae</i>
<i>Komagataeibacter hansenii</i>	<i>Halomonas</i> sp.	<i>Pichia fermentans</i>
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>Pichia mexicana</i>
<i>Oenococcus oeni</i>	<i>Hanseniaspora meyeri</i>	<i>Sporopachydermialactativor</i>
	<i>Hanseniaspora valbyensis</i>	<i>Torulaspora delbrueckii</i>
	<i>Hanseniaspora vineae</i>	<i>Torulopsis</i> sp.
	<i>Herbaspirillum</i> sp.	<i>Zygowillipsia californica</i>
	<i>Kazachstania telluris</i>	<i>Zygosaccharomyces bailii</i>
	<i>Kazachstania exigua</i>	
	<i>Kloeckera apiculata</i>	
	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	

Adaptado de: Chakravorty et al., 2016; Sinir, Tamer & Suna, 2019; Coton et al., 2017.

As espécies fermentativas osmotolerantes* como *Zygosaccharomyces* sp., *Torulaspora delbrueckii* e *Schizosaccharomyces pombe* foram relacionadas com o período inicial de fermentação, enquanto espécies acidotolerantes* como *Dekkera* sp. e *Candida stellata* aparecem posteriormente à medida que ocorre a fermentação acética (Coton et al., 2017). De acordo com a correlação da microbiota e composição bioquímica do chá, mostrou-se que bactérias foram mais abundantes e diversas que as leveduras no caldo de fermentação do que no biofilme durante a fermentação. Das 8 comunidades microbianas principais, 6 bactérias pertenceram a *Gluconacetobacter saccharivorans*, *Acetobacter* sp., *Gluconacetobacter* sp., *Gluconacetobacter europaeus*, *Acetobacter aceti* e *Lactobacillus fermentum*, e 2 leveduras pertenceram a *Saccharomyces cerevisiae* e *Arxula adenivorans* (Zhao et al., 2018). Chakravorty et al. (2016) observaram que a comunidade de leveduras do biofilme não variou muito ao decorrer da fermentação, sendo dominada por *Candida* sp. (73,5-83,0%). Contudo, estes autores mostraram uma significativa mudança de posição de *Candida* sp. para *Lachancea* sp. no sétimo dia de fermentação. *Komagataibacter* foi identificado como o maior gênero bacteriano presente no biofilme e no caldo (~50,0%).

A fim de avaliar a influência de diferentes temperaturas na diversidade microbiana, resultados demonstraram que as cepas do gênero *Gluconacetobacter* foram dominantes em toda¹s as fermentações, independentemente da temperatura. Todavia, a maior temperatura permitiu o crescimento de populações bacterianas subdominantes, caracterizadas comumente por contaminantes ambientais, como *Acinetobacter* sp. e *Propionibacterium* sp. e bactérias do ácido láctico, como *Lactobacillus* spp. e *Streptococcus* sp. Este estudo verificou que a temperatura durante a fermentação do chá

¹ *Osmotolerantes: toleram baixa atividade de água devido à alta concentração de substrato.

*Acidotolerantes: toleram meios com alto pH.

kombucha pode ser usada para selecionar as espécies que conduzirão o processo, influenciando parâmetros como a concentração de ácidos orgânicos (De Filippis, Troise, Vitaglione & Ercolini., 2018).

Diferentes condições (como tipo de chá, açúcares, temperatura, tempo de fermentação, etc.) afetam quantitativa e qualitativamente o desenvolvimento e a composição do consórcio microbiano do SCOBY. O SCOBY investigado por Reva et al. (2015) mostrou que a parte central incluía acetobactérias de dois gêneros *Komagataeibacter* e *Gluconobacter*, e gêneros de leveduras entre *Dekkera* e *Pichia* sp. como cepas dominantes. *Herbaspirillum* sp. e *Halomonas* sp. apareceram em menores quantidades, mas presente em todas as amostras analisadas (Reva et al., 2015). Mayser, Fromme, Leitzmann & Gründer (1995) analisaram 34 SCOBYs alemãs e identificaram na maioria das amostras as leveduras dos gêneros *Dekkera*, *Zygosaccharomyces* e *Saccharomyces* com 56%, 29% e 26% das amostras, respectivamente. Outras leveduras também foram identificadas como as espécies *Saccharomycodes ludwigii* e *Candida kefir* em casos isolados, *Issatchenkia orientalis* (atualmente nomeada de *Candida krusei*) (formadora de película) e leveduras apiculadas como *Kloeckera* sp. e *Hanseniaspora* sp (Boekhout & Robert, 2003).

Já em análise de chás kombucha vendidos comercialmente, notou-se que o número e a diversidade de espécies variou entre os produtos, como as espécies *Dekkera bruxellensis*, *Candida stellata*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Torulaspora delbrueckii* e *Zygosaccharomyces bailii* (Teoh, Heard & Cox (2014). Um sequenciamento genético de alta produtividade de 5 SCOBYs revelou que o gênero bacteriano *Gluconacetobacter* sp. esteve presente em mais de 85% na maioria das amostras, enquanto apenas pequenas populações de *Acetobacter* sp. foram detectadas (<2%). Uma população eminente de *Lactobacillus* sp. também foi identificada (até 30%). As populações de leveduras do

gênero *Zygosaccharomyces* foram encontradas em mais de 95% das amostras da bebida, com maior quantidade de diversidade fungos presente na película celulósica (Marsh, O'sullivan, Hill, Ross & Cotter 2014).

Todos os microrganismos que compõem o kombucha encontram-se tanto no caldo quanto no SCOBY (Paludo, 2017). Estes microrganismos diferem em todo o mundo, devido às condições climáticas da região e pela disponibilidade das bactérias e leveduras que podem crescer juntas, portanto, demonstram composição diferente de região para região (Jayabalan & Waisundara, 2019). Apesar da normalidade de diferenças microbiológicas entre as comunidades microbiológicas do kombucha/SCOBY, algumas características físicas são indicadoras de uma cultura de qualidade: (a) a película deve estar entre 6 e 12 mm de espessura, visto que se for muito fina pode indicar uma cultura contaminada e se muito grossa, pode impedir a oxigenação necessária para a bebida; (b) SCOBYs saudáveis sempre produzirão novas culturas e serem resistentes ao rasgo quando pressionadas entre o polegar e o dedo indicador; (c) e, a coloração do chá deve variar entre branca e marrom claro e apresentar fios de leveduras (Crum & Lagory, 2016).

6. Requerimentos básicos e metabólitos do kombucha

Para o preparo do kombucha, a sacarose é o substrato mais comumente relatado. As leveduras e bactérias no SCOBY utilizam-se da sacarose de maneiras complementares (Dufresne & Farnworth, 2000; Malbaša, Lončar & Djurić, 2008b). Células de leveduras hidrolisam a sacarose em glicose e frutose através da ação da invertase (Jayabalan, 2016) produzindo etanol e consequentemente estimulando o crescimento de bactérias do ácido acético, que utilizam glicose para produzir ácido glucônico e etanol para produzir ácido acético (Gramza-Michałouska et al., 2016). No início da fermentação, a oxidação do etanol em ácido acético requer transferência de oxigênio do ar para o caldo para oxidar

completamente 1 mol de etanol, fazendo com que ocorra a atividade dos microrganismos aeróbicos estritos que compõem o SCOBY. Isto é relevante diante do fato que a disponibilidade de oxigênio não se torne um fator limitante para o funcionamento eficaz do metabolismo microbiano (Villarreal-Soto et al., 2018). A taxa de fermentação de uma amostra de kombucha preparada com 1,5 g·L⁻¹ de chá preto, com 66,47 g·L⁻¹ de sacarose e usando 10 a 15% (v/v) de SCOBY, atingiu a maior taxa de fermentação em aproximadamente 4-5 dias considerando temperaturas que variam de 22 a 30 °C e as taxas de reação foram calculadas como as primeiras derivadas das funções de Boltzmann. Logo após esse pico, as taxas de reação diminuíram acentuadamente (Lončar, Kanurić, Malbaša, Đurić & Milanović, 2014).

A influência da sacarose, lactose, glicose e frutose foram estudadas na produção de etanol e ácido láctico. Reiss (1994) notou que 50 g sacarose por litro de bebida renderam as maiores quantidades de etanol e ácido láctico (concentração de açúcar usada em formulações tradicionais). Os valores de pH das preparações geralmente caíram durante a incubação, como resultado da formação de ácidos orgânicos. Nos primeiros 6 dias, as bebidas tiveram um sabor frutado e na sequência de dias o sabor de vinagre foi consistentemente registrado devido a produção de ácido acético. A fermentação com lactose e a glicose como substratos produziram apenas pequenas quantidades de etanol (Reiss, 1994). Sem cepas de leveduras que fermentam a lactose na cultura microbiana do kombucha, a lactose não é uma fonte alternativa adequada e substrato para fermentação de kombucha. Watawana, Jayawardena, Gunawardhana, & Waisudara (2016) concluíram que diferentes bebidas kombuchas produzidas com açúcar mascavo, açúcar branco, glicose e sacarose promoveram uma maior produção de compostos antioxidantes quando comparados com kombucha produzidos com aspartame, mel de abelha, mel de *Caryota urens* e açúcar Palmyrah Jaggery.

À medida que a fermentação avança, o SCOBY se amplia formando novas camadas que se acumulam umas sobre as outras, atingindo uma espessura entre 8 e 12 mm por volta de 14 dias. Leveduras e bactérias transformam compostos de chá preto, como flavonoides, aminoácidos e ácidos fenólicos (Villarreal-Soto et al., 2019) e produzem muitos metabólitos, como ácido glucurônico (um dos componentes mais valiosos e saudáveis da kombucha), ácidos acético, glucônico, cítrico, láctico, málico, tartárico, malônico, oxálico, succínico, pirúvico e úsnico (Greenwalt, Steinkraus & Ledford, 2000).

Além disso, outros compostos são identificados na bebida após a fermentação, como carboidratos, minerais como potássio, manganês e fluoreto, vitaminas E, K, A e B, aminoácidos e ácido fólico (Malbaša, Lončar & Kolarov, 2002a,b; Malbaša, Vitas, Lončar, & Kravić, 2011; Sievers, Lanini, Weber, Schuler-Schmid & Teuber, 1995; Bauer-Petrovska & Petrushevska-Tozi, 2000; Chen & Liu, 2000; Lončar, Petrović, Malbaša & Verac, 2000; Chu & Chen, 2006; Franco, Perín, Mantovani & Goicoechea, 2006; Jayabalan, Marimuthu & Swaminathan, 2007; Jayabalan, Subathradevi, Marimuthu, Sathishkumar & Swaminathan, 2008; Kumar, Narayan & Hassarajani, 2008; Kumar & Joshi, 2016; Wang, Gan, Tang, Wang & Tan, 2010; Yang et al., 2008; Yavari, Assadi, & Larijani, 2010; Yavari, Assadi, & Moghadam, 2011; Velićanski, Cvetković & Markov, 2013; Vitas, Malbaša, Grahovac & Lončar, 2013).

Neffe-Skocińska, Sionek, Ścibisz & Kołożyn-Krajewska (2017) estudaram três temperaturas (20°C, 25°C e 30°C) no processo de fermentação de 10 dias. A concentração de ácido glucurônico aumentou durante o processo de fermentação para todas as temperaturas testadas, atingindo o teor mais alto no décimo dia de fermentação a uma temperatura de 25°C.

O chá kombucha também pode gerar substâncias com cheiro frutado, que são

ésteres e ácidos voláteis que atribuem suas próprias características ao chá, dependendo do resultado do metabolismo das leveduras dos gêneros *Zygosaccharomyces*, *Saccharomyces*, *Kloeckera* e *Hanseniaspora* (Mayser et al., 1995; Battikh, Bakhrouf e Ammar, 2012; Battikh, Chaieb, Bakhrouf e Ammar, 2013). A dinâmica da fermentação é um fator importante na compreensão das substâncias encontradas no final do metabolismo microbiano da kombucha, uma vez que compostos aromáticos e de sabor podem melhorar os aspectos sensoriais do chá. Em seu chá kombucha, Zhao et al. (2018) encontraram uma diminuição nos valores de pH, e a concentração de polifenóis do chá e aminoácidos livres caiu no final da fermentação após o aumento do estágio inicial. O conteúdo de catequinas e cafeína diminuiu progressivamente ao longo do tempo de fermentação.

A fermentação também depende do tipo de chá infundido, uma vez que os compostos do chá podem alterar a predominância de bactérias no chá kombucha. O chá preto tem mais nitrogênio e purinas do que o chá verde e tem um sabor mais suave. Além disso, os taninos extras no chá verde fornecem um sabor ligeiramente amargo (Coton et al., 2017; Shenoy, Lobo & Dias, 2019). No estudo realizado por Velićanski et al (2013), chás produzidos com erva-cidreira, o processo de fermentação foi encurtado por um ou dois dias em comparação com um feito de chá preto. A maior produção de ácidos foi para o meio com erva-cidreira, sendo estabelecido cerca de seis dias necessários para obter a acidez ideal para o consumo, três dias a menos quando comparado aos obtidos de forma tradicional.

7. Novas perspectivas industriais para o kombucha e o SCOBY

A bebida kombucha, em virtude do potencial estímulo à saúde, atravessou desde os tempos mais antigos até atingir o processamento industrial moderno nos dias de hoje.

Além do uso terapêutico do chá, durante o período de fermentação, as bactérias e leveduras criam as fibras de celulose que se agrupam para formar um material com características únicas (Amarasekara, Wang & Grady, 2020; Dima et al., 2017; Domskiene, Sederaviciute & Simonaityte, 2019; Tu, Tang & Azi, 2019; Ismaiel, Bassyouni, Kamel & Gabr, 2016).

Devido aos preocupantes danos causados ao meio ambiente, vem surgindo o interesse nos processos biotecnológicos como alternativa aos processos tradicionais. Neste sentido, o kombucha, a celulose presente no SCOBY e o SCOBY como membrana foram investigados na aplicação em diversos setores industriais, como cosméticos, têxtil, novas bebidas etc, em razão de sua gama tecnológica.

7.1 Celulose bacteriana contida no SCOBY

A celulose bacteriana possui uma ampla variedade de aplicações no mercado mundial devido às inúmeras propriedades conferidas pelas fibras cristalinas e de nanodimensões, sendo o principal tipo de fibra encontrada na celulose contida no SCOBY (Lee, Buldum, Mantalaris & Bismarck, 2014). A formação da película é dada principalmente pela bactéria *Komogataeibacter xylinus* e outras cepas da família *Acetobacteraceae*, entretanto, outras linhagens de bactérias encontradas na película já foram reportadas como cepas produtoras de celulose (Sinir, Tamer & Suna, 2019).

Os resultados demonstrados por AL-Kalifawi & Hassan (2014) mostraram que diversos fatores como a concentração de sacarose, de nitrogênio, temperatura, períodos de incubação, profundidade, área superficial de contato com o caldo e a condição estática do caldo influenciaram no rendimento de celulose bacteriana produzida. Cafeína e xantinas encontradas no chá também foram relacionadas à capacidade de estimular a síntese da celulose bacteriana (Jaybalan & Waisundara, 2019).

Semjonovs et al. (2017) provaram que cepas isoladas de kombucha, como *Komagataeibacter rhaeticus*, condições estáticas e uma variedade de açúcares também influenciam a produção de celulose. De 5 a 14 dias de fermentação, a concentração de celulose bacteriana passou de $4,77 \pm 0,22 \text{ g.L}^{-1}$ a $9,49 \pm 0,47 \text{ g.L}^{-1}$ para a cepa *K. rhaeticus*. Além disso, a celulose bacteriana em SCOBY atingiu altos valores de resistência à tração ($25.7 \pm 1.2 \text{ MPa}$) e deformação ($12.3 \pm 0.6 \text{ km}$). Esta cepa sintetizou quantidades maiores quando comparada a *K. hansenii* B22 (outro isolado de kombucha) e duas cepas de referência (*K. xylinus* DSM 46604 e *K. hansenii* DSM 5602) para a produção de celulose (Semjonovs et al. 2017). A atividade enzimática desta bactéria produz a difosfoglucose uridina (precursor da celulose), podendo gerar até 200000 moléculas de glicose que são polimerizadas com as ligações beta-1,4 (Emiljanowicz & Malinowska-Pańczyk, 2019).

Son & Lee (2002) investigaram a influência e relação da produção de celulose e a de ácidos no chá kombucha fermentado durante 12 dias. A adição de 30 ml (13% v/v) de kombucha durante a fermentação resultou na produção máxima de película de celulose, enquanto houve baixa produção de ácidos, indicando que a produção de celulose na fermentação do kombucha é inversamente proporcional à produção de ácidos.

A composição da celulose bacteriana tem sido investigada para melhor compreensão das propriedades do material. A avaliação da celulose bacteriana produzida a partir de kombucha fermentado durante oito dias revelou que o material é composto por uma rede ultrafina compacta com presença de ligações beta-1,4. Os resultados mostraram também que a celulose está livre de contaminantes como lignina e hemicelulose. Fibras com diâmetro menor que 100 nm formam uma rede entrelaçada tridimensional que melhora as propriedades mecânicas da matriz. A rede ainda é composta aleatoriamente por feixe de fibras de 20 a 70 nm de largura, com cerca de 3 a 10 fibrilas com um diâmetro

entre 7 a 10 nm (Goh et al., 2012; Zhu, Li, Zhou, Lin & Zhang, 2014; Emiljanowicz & Malinowska-Pańczyk, 2019).

O mecanismo de formação da rede já é elucidado: fibrilas amorfas sintetizadas pelas bactérias são gradualmente cristalizadas através de transformações enzimáticas em celulose I. A alta cristalinidade é responsável pela estabilidade térmica, que por sua vez permite a esterilização a elevadas temperaturas sem alteração das propriedades (Goh et al., 2012; Zhu et al., 2014; Malinowska-Pańczyk, 2019). A aplicação de pré-tratamentos e processos de desintegração mecânica estão sendo investigados para obtenção de fibras de celulose bacteriana de mais alto valor agregado. A purificação da celulose oriunda do SCOBY para remoção de células bacterianas e de leveduras, bem como metabólitos produzidos, é necessária antes de novos tratamentos. A purificação através de soluções alcalinas de NaOH 1M e 4M foram avaliadas por Dima et al. (2017). Após a purificação, os resultados de micrografias revelaram que houve uma redução nas dimensões da celulose bacteriana. Além disso, foram evidenciadas novas ligações intermoleculares de hidrogênio e nova formação de extremidades e um aumento na estabilidade térmica, ao contrário do visto em celulosas de origem vegetal (Dima et al., 2017).

7.1.1 Desenvolvimentos de biomateriais

A celulose bacteriana contida no SCOBY passou por uma transição tecnológica, isto é, da posição de um resíduo sem valor agregado a uma fonte promissora no desenvolvimento de novos materiais. O material resultante da fermentação do chá está sendo utilizado como matéria-prima na indústria da moda para produzir o chamado “couro vegano”. De acordo com Daley (2016), o SCOBY como couro vegano tem sido explorado na preparação, tratamento e fabricação de roupas, sapatos, joias e bolsas. Entretanto, um desafio a ser enfrentado é a produção em larga escala. A absorção de água

do material é a principal barreira a ser enfrentada para alcançar viabilidade no processo industrial. Além disso, como o couro de origem animal, o couro vegano também necessita de acabamento para aumentar a durabilidade (Rosa, 2019).

Suzanne Lee, uma designer de moda em produtos biodegradáveis desenvolveu roupas e sapatos sustentáveis a partir do SCOBY. Segundo Hunt (2016), a absorção de umidade do ar e da pessoa que veste os produtos são os maiores problemas, além das condições do frio que o tornam quebradiço. A designer ainda investigou que a intenção de compras do produto não era tão alta, apesar do apelo sustentável contido no material. Diante disso, conclui-se que a conscientização social é um fator importante no crescimento desse setor.

O SCOBY bem como outros materiais destinados ao *design* de roupas tem as propriedades mecânicas como as mais importantes. Sendo assim, as condições de obtenção do material não devem influenciar nas propriedades finais do produto. Domskiene et al. (2019) observaram que o SCOBY é sensível a temperatura de secagem. As melhores propriedades de deformação foram mantidas quando o material foi seco a temperatura ambiente, além do que as propriedades do filme mudam significativamente com o tempo, o que por sua vez pode gerar problemas com a durabilidade.

7.2 Desenvolvimentos de novos alimentos à base de kombucha

Recentemente, uma vasta quantidade de matérias-primas foi testada a fim de desenvolver novas bebidas probióticas (o SCOBY como cultura *starter*) com o objetivo de melhorar suas propriedades benéficas à saúde e qualidade sensorial (Vitas, Cvetanović, Mašković, Švarc-Gajić & Malbaša, 2018; Zubaidah, Dewantari, Novitasari, Srianta & Blanc, 2018).

Os chás preto e verde são os ingredientes mais tradicionais no preparo do

kombucha devido aos seus altos níveis de nitrogênio, que estimulam os microorganismos do SCOBY. No entanto, a kombucha feita de chá adoçado de *Echinacea purpurea* L. e *Melissa officinalis* L. têm maior atividade antioxidante do que a kombucha obtida de chá verde ou preto (Essawet et al.; 2015). Os resultados mostraram que essas folhas podem ser usadas na fermentação do kombucha, visto que o conteúdo fenólico total e a atividade antioxidante contra os radicais 1,1-difenil-2-picrilhidraz (DPPH) no chá fermentado foram maiores do que no kombucha tradicional (Četojević-Simin et al., 2012; Velićanski, Cvetković, Markov, Šaponjac & Vulić., 2014). Sun, Li & Chen (2015) misturaram kombucha com suco de trigo germinado e descobriram que cada amostra da formulação em estudo apresentava uma taxa de eliminação diferente de radicais livres. A incubação envolvendo vários substratos produziu diferentes metabólitos com atividades antioxidantes superiores aos da kombucha tradicional. A atividade antioxidante do kombucha de trigo foi alcançada por meio de flavonoides, antocianinas e compostos fenólicos, como o ácido cafeico, ácido fenólico predominante nos polifenóis, seguido do ácido gálico e catequina.

O desenvolvimento de novas bebidas funcionais de kombucha cresceu significativamente com diferentes infusões, assim como alimentos com perfis químicos diferentes de chás preto e verde. As modificações bioquímicas nos chás geram as mais variadas classes de compostos dependendo da matéria-prima. Uma pesquisa sobre novas bebidas de kombucha mostrou que, independente do alimento utilizado no seu preparo, todos os chás fermentados pelo SCOBY apresentaram aumento em pelo menos uma ou mais atividades analisadas após a fermentação, em que as atividades antioxidante e antimicrobiana são os principais benefícios evidenciados na maioria das pesquisas (Shahbazi, Gahruie, Golmakani, Eskandari & Movahedi, 2018; Liamkaew, Chattrawanit e Danvirutai, 2016; Utoiu et al., 2018; Watawana, Jayawardena & Waisundara, 2015a).

Ao analisar a bebida produzida com soro de soja, Tu et al. (2019) descobriram que haviam substâncias voláteis que conferiam um sabor frutado à bebida e melhoravam sua qualidade sensorial. Ao contrário de outros estudos sobre o chá preto e verde, Tu et al. (2019) detectaram ácido cítrico no chá, que aumentou ao longo dos dias de fermentação. Levando em consideração todos os aspectos, a nova bebida apresentou desempenho semelhante ao kombucha produzido com chá preto em apenas seis dias de fermentação, o que foi suficiente para melhorar as atividades antioxidante e antimicrobiana e suas características funcionais e sensoriais.

Matérias-primas com grande quantidade de compostos antioxidantes e fitonutrientes se destacam na produção das novas bebidas de kombucha. Um extrato de café denominado Coffe berry® foi usado como suplemento funcional na fermentação do kombucha. Todas as amostras enriquecidas com Coffe berry® apresentaram ácido clorogênico em sua composição e foram uma fonte rica em polifenóis bioativos. Também havia níveis relativamente altos de cafeína, ácido felúrico, neoclorogênico e criptoclorogênico (Essawet et al., 2015). Seus resultados revelam que, além de suas afirmações positivas para a saúde, o café surge como uma possível matéria-prima, por ser uma das bebidas mais consumidas mundialmente e uma rica fonte de compostos necessários ao metabolismo de microrganismos presentes no SCOBY, como cafeína.

Produtos lácteos fermentados também são bastante interessantes no que diz respeito à ciência dos alimentos funcionais devido às mudanças bioquímicas nos componentes do leite. As bebidas lácteas fermentadas com kombucha a 37 °C e 42 °C apresentaram níveis de alérgenos mais baixos do que o leite. Uma amostra produzida a 37 °C apresentou menores valores de conteúdo de α -lactoalbumina e β -lactoglobulina, sugerindo sua eficácia para remoção dos alérgenos (Hrnjez et al., 2014a; Hrnjez et al., 2014b). A concentração de gordura em bebidas lácteas fermentadas com kombucha

também apresentou alterações bioquímicas que afetam significativamente as características sensoriais. Kombucha com leite contendo 1% (p / p) de gordura é mais rico em proteínas, cinzas e lactose, mas mais pobre em matéria seca e qualidade sensorial do que bebidas com 2,2% (p / p) de teor de gordura (Milanović et al., 2008)

7.3 Compostos antimicrobianos e aplicações

A acidez do chá kombucha é um atrativo que permite-o ser aplicado como conservante natural alternativo. Vários estudos relatados já demonstraram sua atividade antimicrobiana contra múltiplos microrganismos, entre os quais estão patógenos populares em alimentos, como bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*), bactérias gram-negativas (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Shigella sonnei*, *Enterobacter cloacae*, *Aeromonas hydrophila*) e leveduras (*Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida sake*, *Candida dubliniensis*, *Candida albicans*) (Velićanski et al., 2014; Hamdi, 2017; Deghrigue, Chriaa, Battikh, Abid & Bachrouf, 2013; Greenwalt et al., 1998; Battikh et al., 2012).

Kombucha tem sido investigado como um potencial inibidor de diferentes microrganismos devido à produção de seus metabólitos (Bhattacharya et al., 2016). Como resultado da atividade metabólica de leveduras e bactérias, inúmeros ácidos orgânicos produzidos durante a fermentação são os principais contribuintes para a maior parte de sua capacidade antimicrobiana. À medida que o pH diminui, a atividade antimicrobiana pode inibir o desenvolvimento microbiano de duas maneiras: acidificação citoplasmática e acúmulo de ânion ácido dissociado em níveis tóxicos (Ayed et al., 2017).

Entre os ácidos orgânicos produzidos, o ácido acético é o principal contribuinte

para seu potencial antimicrobiano. O ácido acético é relatado como um conservante natural que possui restrições mínimas de aplicação e pode ser utilizado de forma viável no tratamento de frutas pós-colheita (Perkins, Yuan & Joyce, 2017; Venditti, Angiolino, Molinu, Petretto & D'Hallewin, 2009). Os efeitos da relação entre o kombucha e o ácido acético foram mais comumente relatados na preservação pós-colheita de uvas. Sua ação (fermentado por 18 dias na proporção de cerca de 10 g de ácido acético/L de chá) contra a inibição de diferentes espécies de fungos filamentosos mostrou cerca de 55% de inibição para o *Botrytis* sp. em bagos de uva (Matei, Matei, Digutã & Popa, 2017).

Em outro estudo, uma exposição de esporos de *Botrytis cinerea* ao kombucha por 30 segundos mostrou que houve uma redução gradual na viabilidade dos esporos para soluções com concentrações mais altas de chá (80% e 100%). A eficácia da inibição na decomposição dos esporos foi maior após 48 horas da inoculação do microrganismo. Ou seja, o chá era subletal ou quase letal para os esporos da *Botrytis cinerea*, principalmente se utilizado após 48 horas da inoculação (Hafez, 2008). Esses resultados relatados, juntamente com os encontrados por Zhou et al. (2019), como redução da deterioração e consequente aumento da vida útil, assim como a redução significativa da perda de massa e aumento do teor de vitamina C nas uvas, caracterizam o kombucha como um potencial agente antimicrobiano eficaz na conservação pós-colheita.

Além de ser utilizado como revestimento comestível na preservação de alimentos, a incorporação de kombucha foi estudada no desenvolvimento de embalagens ativas. Ashrafi, Jokar & Nafchi (2018) empregaram kombucha e quitosana como conservante em embalagens de ativos para avaliar seu sinergismo. Filmes contendo quitosana e 3% de chá kombucha apresentaram altas propriedades antimicrobianas contra microrganismos gram-negativos (*Escherichia coli*) e gram-positivos (*Staphylococcus aureus*). Além disso, as propriedades antimicrobianas da quitosana revelaram um

aumento na capacidade devido ao aumento da solubilidade e a protonação da quitosana aumentada sob pH ácido.

Além do chá, o SCOBY também pode ser uma alternativa para absorver as toxinas dos alimentos. Em um estudo de Ismaiel et al. (2016), o potencial do sobrenadante foi testado na redução da patulina de três cepas de fungos (*Penicillium expansum* LC015096, *Talaromyces purpureogenus* LC015095 e *Acremonium implicatum* LC015097) em meio líquido e maçãs. Na presença de SCOBY a 10% (v/v), a patulina produzida por *Talaromyces purpureogenus* e *Acremonium implicatum* foi completamente inibida. Na mesma concentração de SCOBY (10% (v/v)), o crescimento micelial de *Penicillium expansum* e *Talaromyces purpureogenus* ainda era evidente, enquanto o de *Acremonium implicatum* foi completamente inibido. Além disso, SCOBY foi usado eficientemente como bioissorvente para remover patulina de uma solução aquosa (a capacidade de desintoxicação foi relativamente maior do que a das células de *Sacharomyces cerevisiae*).

7.4 Indústria biomédica

A celulose bacteriana presente no SCOBY apresenta diversas características, como a alta capacidade de retenção de água, resistência mecânica e biocompatibilidade que têm estimulado o desenvolvimento de produtos para aplicações biomédicas (Figueiredo, 2013). Produtos biomédicos com vasto potencial para cicatrização de feridas são utilizados em materiais para queimaduras de pele e outras lesões dérmicas, que utilizam redes de celulose semelhante à encontrada no SCOBY (Jayabalan et al., 2014). Biocompósitos com extrato de café produzidos com diferentes teores de celulose bacteriana proveniente do SCOBY foram testados para cicatrização de feridas. Os materiais com menor teor de celulose e extrato apresentaram os maiores esforços à tração (3,35 MPa) e taxa de transmissão de vapor de água ($3184,94 \pm 198,07$ g/m²/dia), enquanto

apresentou a menor liberação de polifenóis ($51,85\% \pm 2,94$). Em suma, a celulose bacteriana mostrou-se uma matriz adequada para o carregamento do extrato de café e deu origem a compósitos com características com potencial para contribuir e competir no campo de cicatrização de feridas (El-Wakil et al., 2019).

Tanto o chá quanto o SCOBY podem ser utilizados na indústria biomédica. Um extrato de kombucha mostrou resultados significativos para reparo tecidual precoce e tardio em feridas de ratos Wistar. A eficiência do extrato de kombucha aplicado na pele dos ratos foi comparada com outro tratamento ativo comercialmente (Brosin) e com grupos de ratos que não receberam nenhum tipo de tratamento. Os resultados obtidos do processo de cicatrização revelaram que houve uma má recuperação no grupo controle, enquanto que os outros dois grupos, Brosin e kombucha, foram semelhantes, com pouca inflamação e alta proliferação e migração celular, que serviram para reparo e renovação do novo tecido (Rosales-Cortés et al., 2015). Resultados de uma análise *in silico*, para apoiar o uso seguro de kombucha em cosméticos, verificaram referências seguras a respeito dos constituintes químicos. Ensaaios com cremes faciais indicaram que o uso não causava irritabilidade nem sensibilidade na pele, indicando a aprovação de segurança do produto (Persaud, Re & Srinivasan, 2017).

Cosméticos e composições dermofarmacêuticas que contêm kombucha e/ou SCOBY já estão sendo patenteadas e lançadas comercialmente com fins para cuidados com a pele, mucosas e prevenir os sinais endógenos e/ou exógenos do envelhecimento (Lintner, 2006). A prevenção de sinais do envelhecimento pelo kombucha pode ser atribuído ao baixo pH e a celulose bacteriana do SCOBY, causando a inibição das bactérias causadoras de espinhas e manchas. Essas condições estimulam a regeneração celular, induzindo os pequenos capilares sob a pele a aumentarem o fluxo sanguíneo para a superfície, criando novas células (Crum e Lagory, 2016).

O kombucha ainda tem demonstrado potencial no tratamento de tecidos pulmonares. Os efeitos da pulverização de kombucha em pulmões de ratos mostraram resultados similares ao ser comparados a um tratamento padrão com tetrandina. Apesar do tratamento ser mais eficaz, o estudo indicou que o tratamento com tetrandrina teve efeitos adversos graves na viabilidade dos macrófagos, enquanto o tratamento com kombucha teve efeito menos pronunciado. Além disso, os níveis de sílica livre em os pulmões dos animais tratados com kombucha eram significativamente menores do que os de qualquer outro grupo exposto à sílica. Estes resultados sugerem que a pulverização com preparações de kombucha pode efetivamente promover a descarga de poeira de sílica dos tecidos pulmonares (Fu et al., 2013).

7.5 Outras aplicações

Além da alimentação humana, o chá kombucha e o SCOBY estão sendo investigados para alimentação animal. A comparação do chá verde e kombucha sobre o desempenho do crescimento de frangos de corte foi verificada. Os autores verificaram um aumento significativo do crescimento ($p < 0,05$) com a inclusão dietética do chá kombucha em comparação com os frangos de controle e alimentados com chá verde (Afsharmanesh & Sadaghi, 2014). O mesmo comportamento foi observado por Murugesan et al (2005), que demonstrou que frangos alimentados com SCOBY aumentaram o consumo de ração, peso corporal, fator de eficiência de desempenho e o perfil da carcaça, além de não mostrar nenhuma anormalidade e a taxa de mortalidade ser nula.

Tanto o chá quanto o SCOBY demonstram potencial para diversas atividades industriais. Uma das mais recentes aplicações foi testar o SCOBY como membrana para tratamento de águas residuais e remoção de metais pesados. Os resultados alcançados

com o SCOBY na remoção de íons Pb (II) da água foram melhores que os obtidos com nanopartículas de óxido de grafeno. A eficiência máxima de adsorção foi obtida a uma temperatura de 50°C e a quantidade de adsorvente de 15 g de SCOBY, obtendo 99,7% de remoção. Além disso, as capacidades máximas de adsorção foram cerca de 126,6 mg.g⁻¹ (Mousavi et al., 2018). Resultados significativos também foram encontrados na avaliação da separação de Ni (II) de solução aquosa usando o SCOBY em reator descontínuo. Os experimentos de adsorção indicaram que em pH neutro, tempo de contato de 15 minutos e temperatura de 25°C, 94,5% dos íons Ni (II) foram removidos da solução, obtendo uma capacidade de adsorção muito alta de 454,54 mg.g⁻¹. Estes resultados quando comparados ao do método tradicional de lodo ativado, demonstram que o SCOBY é uma opção eficaz no tratamento de efluentes industriais, devido ao fato de poder ser adaptado para a purificação de águas residuais e restauração do ambiente poluído com custo acessível (Mousavi et al., 2019). A ação do SCOBY na remoção de Hg²⁺, As³⁺, Pb²⁺, Cd²⁺ e Cr⁶⁺ também foi observada com intuito de produzir uma bebida segura para consumo, verificando as eficiências de 93,3%, 76,7%, 76,1%, 84,3% e 75,4% respectivamente. Foi observado ainda que a quantidade de açúcar no preparo do chá influenciou a operação. O percentual máximo de remoção foi para o teor de 20 g de açúcar. Este fato pode ser explicado pela maior produção de ácidos que estimulam a competição entre prótons e íons metálicos para o SCOBY (Najapfour et al., 2020).

8. Propriedades terapêuticas do kombucha

A instalação do processo de estresse oxidativo decorre da existência de um desequilíbrio entre compostos oxidante e antioxidante, que conduz à oxidação de biomoléculas com consequente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático. Esse desequilíbrio gera relevantes implicações em numerosas

enfermidades crônicas não transmissíveis, entre elas a aterosclerose, diabetes, obesidade, transtornos neuro degenerativos e câncer (Barbosa et al., 2010).

De acordo com relatórios recentes, compostos liberados durante a fermentação do chá kombucha têm propriedades antioxidantes (Watawana, Jayawardena, Gunawardhana & Waisundara, 2015b; Ahmed et al., 2020; Cardoso et al., 2020). Compostos do chá preto, como flavonoides, aminoácidos e ácidos fenólicos são transformados pela ação de leveduras e bactérias em metabólitos que têm sido associados à prevenção de doenças neurodegenerativas, redução da pressão arterial, atividade antioxidante, efeito hipoglicêmico, propriedades anticâncer, etc (Villarreal-Soto et al., 2018).

A fermentação pode aumentar significativamente o conteúdo de compostos fenólicos e vitaminas, levando ao aumento da atividade antioxidante e prevenção do diabetes. Vásquez-Cabral et al. (2017) demonstraram que o chá kombucha infundido com folhas de carvalho tem elevada propriedade antioxidante, que é atribuída à seus compostos fenólicos. Os principais efeitos foram a supressão de lipopolissacarídeos e produção de óxido nítrico (NO), TNF-alfa e IL-6. De acordo com Xia et al. (2019), a fermentação do kombucha aumentou as propriedades antioxidantes da soja à base de leite. Fu et al. (2014) também observaram um aumento na capacidade antioxidante em relação ao DPPH, ânion superóxido e radicais hidroxila (OH). Eles também observaram uma mudança em sua composição probiótica durante o armazenamento a 4 ° C, uma vez que o número de bactérias acéticas diminuiu em até 10 dias de armazenamento, enquanto a taxa de sobrevivência do número de bactérias lácticas (LAB) foi de apenas 0,98% no dia 8 de dias de armazenamento. Watawana et al. (2016) estudaram o desenvolvimento do kombucha preparado a partir da água de coco e relataram aumento da atividade antioxidante e inibição da hidrolase do amido. Chu e Chen (2006) investigaram a influência da origem do kombucha e do tempo de fermentação na capacidade antioxidante

dos radicais livres através de amostras *in vitro*. Esses parâmetros determinaram a produção de metabólitos e uma maior produção de compostos com capacidade antioxidante. Os principais resultados reportados em literatura do kombucha são em relação a sua capacidade antioxidante, no entanto, outras atividades foram já foram demonstradas. Um levantamento das principais propriedades terapêuticas do kombucha foi efetuado e os resultados são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Atividade metabólica, condições de fermentação e principais resultados observados no chá kombucha por diferentes estudos.

Bioatividade	Condições de fermentação	Resultados observados	Referências
Antimicrobiana	Folhas de erva-cidreira fermentadas durante 07 dias a 28°C	Inibiu o crescimento de <i>Staphylococcus saprophyticus</i> , <i>Staphylococcus equorum</i> , <i>Bacillus</i> sp., <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Listeria innocua</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Proteus</i> sp., <i>Escherichia coli</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Salmonella</i> sp.	Velićanski, Cvetković, Markov, Tumbas & Savatović, 2007
Antimicrobiana	Suco de uva fermentado durante 14 dias a 30°C	Inibiu o crescimento de: <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i>	Ayed et al., 2017
Antimicrobiana	Chá preto e verde fermentados durante 12 dias a 25°C	Inibiu o crescimento de: <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> Typhimurium, <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Deghrigue et al., 2013
Antimicrobiana	Chá preto e chá verde fermentados durante 09 dias a 25°C	Inibiu o crescimento de: <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> Typhimurium, <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Greenwalt et al. 1998
Antimicrobiana	Erva-cidreira a 28°C até completar entre 3,5-4,5 g de ácido/L	Inibiu o crescimento de: <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcus enteritidis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Erwinia carotovora</i>	Četojević-Simin et al., 2012; Velićanski et al., 2007
Antimicrobiana	Seis bebidas produzidas a partir de: chá preto, <i>Thymus vulgaris</i> L., <i>Lippia citriodora</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i> , <i>Foeniculum vulgare</i> , <i>Mentha piperita</i> com 21 dias de fermentação a 25°C	Inibiu o crescimento de: <i>Candida glabrata</i> , <i>Candida tropicalis</i> , <i>Candida sake</i> , <i>Candida dubliniensis</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Micrococcus luteus</i>	Battikh et al., 2012, 2013
Antimicrobiana	Chá preto com 21 dias de fermentação a 25°C	Inibiu o crescimento de: <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> Typhimurium, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Bacillus stearothermophilus</i>	Pure & Pure, 2016b

Tabela 2 (continuação)

Bioatividade	Condições de fermentação	Resultados observados	Referências
Antimicrobiana	Chá preto fermentado durante 14 dias a 25°C	Inibiu o crescimento de: <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Shigella sonnei</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Staphylococcus epidermis</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Salmonella enteritidis</i> , <i>Salmonella</i> Typhimurium, <i>Bacillus cereus</i> , <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> .	Sreeramulu et al. 2000, 2001
Hepatoprotetor	Chá preto com 14 dias de fermentação a 28°C	A alimentação oral de kombucha expressou maior atividade inibitória, preventiva e curativa em lesão hepática induzida por CCl ₄ em ratos.	Murugesan et al. 2009
Hepatoprotetor	Chá preto com 14 dias de fermentação a 25°C	A alimentação oral de kombucha demonstrou capacidade de reverter a hepatotoxicidade induzida por hidróperóxido de terc-butila, melhora na fragmentação do DNA e ativação da caspase-3 no tecido pancreático de ratos diabéticos.	Bhattacharya, Gachhui & Sil, 2011; Bhattacharya, Manna, Gachhui & Sil, 2011
Hepatoprotetor	Chá preto com 08 dias de fermentação a 30°C	<i>Gluconacetobacter</i> sp. é a cepa responsável pela produção de ácido-D-sacárico-1,4-lactona, composto com relação direta com a diminuição da hepatotoxicidade induzida por acetaminofeno, fosfatase alcalina, triglicerídeo, malondialdeído em ratos.	Wang et al., 2013
Hepatoprotetor	Chá preto com 10 dias de fermentação a 28°C	A alimentação oral de kombucha em ratos demonstrou capacidade de proteger fígado e rins de dano oxidativo pela exposição a cádmio e irradiação gama.	Ibrahim, 2011
Hepatoprotetor	Chá preto com 12 dias de fermentação a 28°C	A alimentação oral de kombucha em ratos mostrou capacidade de reverter a hepatotoxicidade induzida por tioacetamida.	Karibi, Darabi, Rafieian-Kopaei, Setorki & Doudi, 2014
Hepatoprotetor	Chá preto fermentado durante 8-10 dias a 28°C	A administração oral de kombucha aumentou o conteúdo de malondialdeído e óxido nítrico no rim, uréia e concentrações de creatinina no soro, nível total de radicais livres no sangue, enquanto diminuiu o nível de glutatona em ratos.	Gharib, 2009

Tabela 2 (continuação)

Bioatividade	Condições de fermentação	Resultados observados	Referências
Hepatoprotetor	Chá preto com 12 dias de fermentação a 28°C.	A alimentação oral de kombucha em ratos reduziu o nível de glicogênio armazenado em hepatócitos, a degeneração hepatocelular enecrose, a infiltração de células mononucleares na área portal, a dilatação das veias centrais e a capilarização, revertendo a hepatotoxicidade induzida por acetaminofeno.	Abshenas, Derakhshanfar, Ferdosi & Hasanzadeh, 2012
Hepatoprotetor	Chá preto fermentado durante 8-10 dias a 28°C	A alimentação oral de kombucha em ratos revelou a capacidade de reverter a hepatotoxicidade induzida por tricloroetileno.	Gharib e Gharib, 2008
Hepatoprotetor	Chá preto com 14 dias de fermentação a 24°C	A administração oral de kombucha em ratos demonstrou a capacidade de reverter a hepatotoxicidade induzida por aflatoxina B1.	Jayabalan, Baskaran, Marimuthu, Swaminathan & Yun, 2010
Hepatoprotetor	Chá preto com 14 dias de fermentação a 25°C	Atenuou o acúmulo de lipídios e protegeu o fígado de danos, promovendo a restauração do fígado em camundongos.	Hyun et al., 2016
Hepatoprotetor/ Antiabético	Chá preto com 07 dias de fermentação a 25°C	Aliviou significativamente o aumento glicêmico e lipidêmico alterado e protegeu contra o risco de desenvolver aterosclerose em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina.	Dias e Shenoy, 2016a
Hepatoprotetor	Chá preto com 07 dias de fermentação a 25°C	A administração oral de kombucha demonstrou a capacidade de restauração no sistema renal.	Dias e Shenoy, 2016b
Hepatoprotetor	Chá preto com 14 dias de fermentação a 24°C	A administração oral de kombucha induziu efeitos hipercolesterolêmicos, principalmente em funções fígado-rim em ratos.	Bellassoued et al., 2015
Antidiabético	Chá preto com 14 dias de fermentação a 28°C	Kombucha foi melhor inibidor da α -amilase, atividades de lipase no plasma, pâncreas e um melhor supressor do aumento dos níveis de glicose no sangue.	Aloulou et al., 2012

Antidiabético	Chá preto com 14 dias de fermentação a 25°C	Os resultados mostraram efeito antidiabético significativo devido as alterações fisiopatológicas induzidas por ALX restauradas.	Bhattacharya, Gachhui & Sil, 2013
---------------	---	---	-----------------------------------

Tabela 2 (continuação)

Bioatividade	Condições de fermentação	Resultados observados	Referências
Antidiabético	Chá preto com 14 dias de fermentação a 28°C	Capacidade de exercer efeito hipoglicêmico em ratos diabéticos induzidos por estreptozocina.	Srihari, Karthikesan, Ashokkumar & Satyanarayana, 2013
Antidiabético/ Cardioprotetiva	Chá preto com 07 dias de fermentação a 25°C	A alimentação oral de kombucha exerceu um efeito protetor nos miócitos, diminuindo ou prevenindo efeitos adversos da isoproterenol em ratos e atividade hipoglicêmica.	Lobo e Shenoy, 2015a/
Antilipidêmico/ Cardioprotetivo	Chá preto com 07 dias de fermentação a 25°C	A alimentação oral de kombucha diminuiu significativamente o colesterol, triglicerídeos, LDL e VLDL, aumentando simultaneamente os níveis de HDL. Da mesma forma, uma diminuição no vazamento de marcadores cardíacos do miocárdio também foi observada.	Lobo e Shenoy, 2015b/ Lobo, Dias e Shenoy, 2017
Antiinflamatório	Chá preto com 12 dias de fermentação a 28°C	Os níveis séricos de NO e TNF- α em camundongos tratados com chá kombucha foram significativamente diminuídos.	Marzban et al., 2015
Citoprotetivo	Chá preto com 8 a 10 dias de fermentação a 28°C	A suplementação de chá kombucha diminui a citotoxicidade induzida por fenol e seu papel protetor é dependente da dose.	Yapar, Cavusoglu, Oruc & Yalcin, 2010
Anticancerígena	Chá preto com 14 dias de fermentação a 28°C	Diminuiu significativamente a sobrevivência das células do câncer de próstata.	Srihari, Arunkumar, Arunakaran & Satyanarayana, 2013b
Antirradioativa	Chá preto com 5-6 dias de fermentação a 25°C	Potencial significativo para proteger o sistema celular de danos induzidos por radiação e a capacidade de eliminar os radicais livres.	Mondal, Pal & Dey, 2015

9. Considerações finais

O kombucha é um dos alimentos funcionais com crescimento mais rápido no setor internacional. No entanto, sua produção ainda está amplamente concentrada em escala artesanal. O setor industrial tem investido na segurança de alimentos e padronização do kombucha para obter bebidas com propriedades semelhantes e ampliar sua produção. Os parâmetros avaliados até o momento estimam diversas variáveis para escalonar os processos de produção, como pH, tempo de fermentação, área de contato entre chá e cultura *starter*, quantidade de oxigênio, agitação, entre outras. Além disso, a seleção de espécies de bactérias e leveduras pode promover um controle eficaz da produção, uma vez que influencia os metabólitos produzidos durante a fermentação. No entanto, faltam análises e simulações da fermentação, o que dificulta sua produção em larga escala.

Processos biotecnológicos, como a produção de kombucha, têm se mostrado uma nova tendência no campo tecnológico. Além disso, SCOBY se destaca como uma nova alternativa sustentável para diferentes setores industriais. A celulose bacteriana contida no SCOBY agrega valor a este biomaterial e, conseqüentemente, amplia seu número de aplicações. SCOBY surge como uma promissora matéria-prima na fabricação de roupas, calçados, joias e bolsas, difusão de novos produtos alimentícios funcionais, inibição de patógenos na indústria alimentícia, extensão da vida útil de alimentos, na indústria biomédica, entre outras contribuições. Estudos futuros devem se concentrar na otimização dos processos industriais do kombucha, desenvolvendo equipamentos específicos e padronização de produtos e calculando redução de custos e lucratividade, de forma que o processo possa atender às demandas específicas de todos os tipos de indústrias.

10. Referências

- Abshenas, J., Derakhshanfar, A., Ferdosi, M.H. & Hasanzadeh, S. (2012). Protective effect of Kombucha tea against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice: a biochemical and histopathological study. *Comparative Clinical Pathology*, 21, 1243–1248. <https://doi.org/10.1007/s00580-011-1273-9>
- Afsharmanesh, M. & Sadaghi, B. (2014). Effects of dietary alternatives (probiotic, green tea powder, and kombucha tea) as antimicrobial growth promoters on growth, ileal nutrient digestibility, blood parameters, and immune response of broiler chickens. *Comparative Clinical Pathology*, 23, 717–724. <https://doi.org/10.1007/s00580-013-1676-x>
- Ahmed, R. F., Hikal, M. S. & Abou-Taleb, K. A. (2020). Biological, chemical and antioxidant activities of different types Kombucha. *Annals of Agricultural Sciences*, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2020.04.001>
- AL-Kalifawi, E. J. & Hassan, I. A. (2014). Factors influence on the yield of bacterial cellulose of kombucha (Khubdat Humza). *Baghdad Science Journal*, 11.
- Aloulou, A., Hamden, K., Elloumi, D., Ali, M. B., Hargafi, K., Jaouadi, B., Ayadi, F., Elfeki, A. & Ammar, E. (2012). Hypoglycemic and antilipidemic properties of kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-63>

Amarasekara, A. S., Wang, D. & Grady, T. L. (2020). A comparison of kombucha SCOBY bacterial cellulose purification methods. *SN Applied Sciences*, 2, 1-7.

<https://doi.org/10.1007/s42452-020-1982-2>

Ashrafi, A.; Jokar, M. & Nafchi, A. M. (2018). Preparation and characterization of biocomposite film based on chitosan and Kombucha tea as active food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 108, 444–454.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.028>

Ayed, L., Abid, S. B. & Hamdi, M. (2017). Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. *Annals of Microbiology*, 67, 111–121.

<https://doi.org/10.1007/s13213-016-1242-2>

Barbosa, K. B. F., Costa, N. M. B., Alfenas, R. C. G., De Paula, S. O., Minim, V. P. R. & Bressan J. (2010). Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. *Revista de nutrição*, 23, 629-43.

<https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>

Battikh, H., Backhouf, A. & Ammar, E. (2012). Antimicrobial effect of Kombucha analogues. *LWT - Food Science and Technology*, 47, 71-77.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.12.033>

Battikh, H., Chaieb, K., Bakhrouf, A. & Ammar, E. (2013). Antibacterial and antifungal activities of black and green kombucha teas. *Journal of Food Biochemistry*, 37, 231–236.

<https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2011.00629.x>

Bauer-Petrovska, B. & Petrushevska-Tozi, L. (2000). Mineral and water-soluble vitamin content in the Kombucha drink. *International Journal of Food Science and Technology*, 35, 201-205.

<https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2000.00342.x>

Bellassoued, K., Ghrab, F., Makni-Ayadi, F., Van Pelt, J., Elfeki, A. & Ammar, E. (2015). Protective effect of kombucha on rats fed a hypercholesterolemic diet is mediated by its antioxidant activity. *Pharmaceutical Biology*, 53, 1699-1709.

<https://doi.org/10.3109/13880209.2014.1001408>

Bhattacharya, S., Gachhui, R. & Sil, P. C. (2011). Hepatoprotective properties of kombucha tea against TBHP-induced oxidative stress via suppression of mitochondria dependent apoptosis. *Pathophysiology*, 18, 221-234.

<https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2011.02.001>

Bhattacharya, S., Manna, P., Gachhui, R. & Sil, P.C. (2011). Protective effect of Kombucha tea against tertiary butyl hydroperoxide induced cytotoxicity and cell death in murine hepatocytes. *Indian Journal of Experimental. Biology*, 49, 511–524.

Bhattacharya, S., Gachhui, R. & Sil, P. C. (2013). Effect of Kombucha, a fermented black tea in attenuating oxidative stress mediated tissue damage in alloxan induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 328-40.

<https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.051>

Bhattacharya, D, Bhattacharya, S., Patra, M. M., Chakravorty, S., Sarkar, S., Chakraborty, W., Koley, H. & Gachhui, R. (2016). Antibacterial activity of polyphenolic fraction of kombucha against enteric bacterial pathogens. *Current Microbiology*, 73, 885-896.

DOI: 10.1007/s00284-016-1136-3

Boekhout, T; Robert, V. (2003). Yeasts in Food: Beneficial and detrimental aspects. CRC Press. Hamburg, Germany.

Cavusoglu, K. & Guler, P. (2010). Protective effect of kombucha mushroom (KM) tea on chromosomal aberrations induced by gamma radiation in human peripheral lymphocytes in-vitro. *Journal of Environmental Biology*, 31, 851-856.

Četojević-Simin, D.D., Velićanski, A.S., Cvetković, D.D., Markov, S.L., Mrdanović, J.Ž, Bogdanović, D.D. & Šolajić, S.V. (2012). Bioactivity of lemon balm kombucha. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 1756–1765.

<https://doi.org/10.1007/s11947-010-0458-6>

Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D. & Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 63-72.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015>

Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Bhattacharya, D., Sarkar, S. & Gachhui, R. (2019).

Kombucha: A promising functional beverage prepared from tea. *Non-Alcoholic Beverages*, 285-327.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815270-6.00010-4>

Chen, C. & Liu, B. Y. (2000). Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. *Journal of Applied Microbiology*, 89, 834-839.

<https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01188.x>

Chu, S. C. & Chen, C. (2006). Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of Kombucha. *Food Chemistry*, 98, 502-507.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.080>

Coton, M., Pawtowski, A., Taminiau, B., Burgaud, G., Deniel, F., Coulloume-Labarthe, L., Fall, A., Daube, G. & Coton, E. (2017). Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. *FEMS Microbiology Ecology*, 93, 1-16.

<https://doi.org/10.1093/femsec/fix048>

Crum, H. & Lagory, A. (2016). *The big book of Kombucha: brewing, flavoring and enjoying the health benefits of fermented tea*. Los Angeles: Storey.

Cvetković, D., Markov, S., Djurić, M., Savić, D., & Velićanski, A. (2008). Specific interfacial area as a key variable in scaling-up Kombucha fermentation. *Journal of Food Engineering*, 85, 387–392.

<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.07.021>

Daley, B. (2016). **Will we soon be growing our own vegan leather at home? The conversation.** <https://theconversation.com/will-we-soon-be-growing-our-own-vegan-leather-at-home-68498>. Accessed April 07, 2020.

De Filippis, F, Troise, A.D., Vitaglione, P. & Ercolini, D. (2018). Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during Kombucha tea fermentation. *Food Microbiology*, 73, 11–16.

<https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.008>

Deghrigue M, Chriaa J, Battikh H, Abid K. & Bakhrouf A. (2013). Antiproliferative and antimicrobial activities of kombucha tea. *African Journal of Microbiology Research*, 2013; 3466-70. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.1230>

Dias, F.O. & Shenoy, C.K. (2016a). Anti hyperlipidemic and anti atherogenic effect of Kombucha in Streptozotocin induced diabetic rats. *Indian Journal of Applied Research*, 6, 716–719.

Dias, F.O. & Shenoy, C.K. (2016b). Protective effect of Kombucha on diabetic nephropathy in Streptozotocin - induced diabetic rats. *Internacional Journal Science and Research*, 5, 945–948.

<https://doi.org/10.21275/v5i3.NOV161951>

Dima, S.O., Panaitescu, D. M., Orban, C., Ghiurea, M., Doncea, S.M., Fierascu, R.C., Nistor, C.L., Alexandrescu, E., Nicolae, C.A., Trica, B., Moraru, A. & Oancea, F. (2017). Bacterial nanocellulose from side-streams of Kombucha beverages production: Preparation and physical-chemical properties. *Polymers*, 9, 374.<https://doi.org/10.3390/polym9080374>

Domskiene, J., Sederaviciute, F. & Simonaityte, J. (2019). Kombucha bacterial cellulose for sustainable fashion. *International Journal of Clothing Science and Technology*, 31, 644-652. <https://doi.org/10.1108/IJCST-02-2019-0010>

Dufresne, C. & Farnworth, E. (2000). Tea, Kombucha, and health: A review. *Food Research International*, 33, 409-21.[https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00067-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00067-3)

Dutta, H. & Paul, S. (2019). Kombucha Drink. Production, quality, and safety aspects. *Production and Management of Beverages*, 259-288. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815260-7.00008-0>

El-Wakil, N. A., Hassan, E. A., Hassan, M. L. & Abd El-Salam, S. S. (2019). Bacterial cellulose/phytochemical's extracts biocomposites for potential active wound dressings. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 2629–2654. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05776-w>

Emiljanowicz, K. E. & Malinowska-Pańczyk, E. (2019). Kombucha from alternative raw materials – The review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–10.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1679714>

Essawet, N., Cvetković, D., Velićanski, A., Čanadanović-Brunet, J., Vulić, J., Maksimović, V. & Markov, S. (2015). Polyphenols and antioxidant activities of Kombucha beverage enriched with Coffeeberry® extract. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 21, 399–409. <https://doi.org/10.2298/CICEQ140528042E>

Figueiredo, A. R. P. (2013). New bacterial cellulose nanocomposites prepared by in situ polymerization. Masters dissertation. Aveiro University. Aveiro, Portugal.

Franco, V. G., Perín, J. C., Mantovani, V. E. & Goicoechea, H. C. (2006). Monitoring substrate and products in a bioprocess with FTIR spectroscopy coupled to artificial neural networks enhanced with a genetic-algorithm-based method for wavelength selection. *Talanta*, 68, 1005-1012. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.07.003>

Fu, N., Luo, C., Wu, J., Zheng, Y. Y., Gan, Y. J., Ling, J. N., Liang, H. Q., Liang, D. Y., Xie, J., Chen, X. Q., Li, X. J., Pan, R. H., Chen, Z. X. & Jiang, S. J. (2013). Clearance of free silica in rat lungs by spraying with chinese herbal kombucha. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2013/790792>

Fu, C., Yan, F., Cao, Z., Xie, F., & Lin, J. (2014). Antioxidant activities of kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotics during storage. *Food Science and Technology*, 34, 123-26. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612014005000012>

Gharib, O. A., Gharib, M. A. (2008). Kombucha tea ameliorates trichloroethylene induced hepatic damages in rats via inhibition of oxidative stress and free radicals induction. *Egyptian Journal Radiation Sciences and Applications*, 21, 481–498.

Gharib, Ola. (2009). Effects of Kombucha on oxidative stress induced nephrotoxicity in rats. *Chinese Medicine*, 4, 23. <https://doi.org/10.1186/1749-8546-4-23>

Goh, W. N., Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim, A. A. & Bhat, R. (2012). Microstructure and physical properties of microbial cellulose produced during fermentation of black tea broth (Kombucha). *International Food Research Journal*, 19, 153-158.

Gramza-Michałowska A., Kulczyński B., Xindi Y. & Gumienna M. (2016). Research on the effect of culture time on the kombucha tea beverage's antiradical capacity and sensory value. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 15, 447-57. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2016.4.43>

Greenwalt, C. J., Ledford, R. A. & Steinkraus, K. H. (1998). Determination and characterization of the antimicrobial activity of the fermented tea kombucha. *LWT - Food Science and Technology*, 31, 291–296. <https://doi.org/10.1006/fstl.1997.0354>

Greenwalt, C. J., Steinkraus, K. H. & Ledford, R. A. (2000). Kombucha, the fermented tea: Microbiology, composition, and claimed health effects. *Journal of Food Protection*,

63, 976-81. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.7.976>

Hafez, M. (2008). Pre-Harvest application of kombucha filtrate to control. *Annals of Agricultural Sciences*, Moshtohor, 46, 33-44.

Hartmann, A. M., Burleson, L. E., Holmes, A. K. & Geist, C. R. (2000). Effects of chronic kombucha ingestion on open-field behaviors, longevity, appetitive behaviors, and organs in C57-BL/6 mice: A pilot study. *Nutrition*, 16, 755-61. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(00\)00380-4](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(00)00380-4)

Hrnjez, D., Vaštag, Ž., Milanovic, S., Vukic, V., Ilicic, M., Popovic, L. & Kanuric, K. (2015a). The biological activity of fermented dairy products obtained by kombucha and conventional starter cultures during storage. *Journal Functional Foods*, 10, 336–345. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.06.016>

Hrnjez, D. V., Vukić, V. R., Milanović, S. D., Iličić, M. D., Kanuric, K. G., Torbica, A. M. & Tomic, J. M. (2015b). Nutritive aspects of fermented dairy products obtained by kombucha application Protein profile in fermented dairy products. *Agro Food Industry Hi-Tech*, 25, 70-73.

Hunt, A. (2016). This sustainable ‘leather’ comes from Kombucha tea. *Futurity*. Available in: <https://www.futurity.org/scoby-fabric-kombucha-leather-1149392-2/>, 2016. Accessed 07 April 2020.

Hyun, J., Lee, Y., Wang, S., Kim, J., Kim, J., Cha, J. H.; Seo, Y. S. & Jung, Y. (2016). Kombucha tea prevents obese mice from developing hepatic steatosis and liver damage. *Food Science and Biotechnology*, 25, 861–866. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0142-3>

Ibrahim, N. K. (2011). Possible protective effect of kombucha tea fermentation cadmium chloride induced liver and kidney damage in irradiated rats. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering*, 5, 6.

Ismail, A. A.; Bassyouni, R. H.; Kamel, Z. & Gabr, S. M. (2016). Detoxification of Patulin by Kombucha tea culture. *CyTA–Journal of Food*, 14, 271–279. <https://doi.org/10.1080/19476337.2015.1096828>

Jayabalan, R., Marimuthu, S. & Swaminathan, K. (2007). Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chemistry*, 102, 392–398. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.032>

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

Jayabalan, R., Baskaran, S., Marimuthu, S., Swaminathan, K. & Yun, S.E. (2010). Effect of Kombucha tea on aflatoxin B1-induced acute hepatotoxicity in albino rats—prophylactic and curative studies. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 53, 407–416. <https://doi.org/10.3839/jksabc.2010.063>

Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S. & Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, 538-50. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>

Jayabalan, R., Malbaša, R. V. & Sathishkumar, M. (2016). Kombucha. *Reference Module in Food Sciences*, 1-8. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03032-8>

Jayabalan, R. & Waisundara, V. Y. (2019). Kombucha as a functional beverage. *Functional and Medicinal Beverages*, 413-46. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816397-9.00012-1>

Kallel, L., Desseaux, V., Hamdi, M., Stocker, P. & Ajandouz, E. H. (2012). Insights into the fermentation biochemistry of Kombucha teas and potential impacts of Kombucha drinking on starch digestion. *Food Research International*, 49, 226–232. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.018>

Kapp, J. M. & Sumner, W. (2019). Kombucha: a systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Annals of Epidemiology*, 30, 66-70. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2018.11.001>.

Karibi, N., Darabi, M. A., Rafieian-Kopaei, M., Setorki, M. & Doudi, M. (2014). Protective effects of Kombucha tea on liver damage induced by thioacetamide in rats. *Journal of Biological Sciences*, 14, 343-348. DOI: 10.3923/jbs.2014.343.348

Kumar, S.D., Narayan, G. & Hassarajani, S. (2008). Determination of anionic minerals in black and Kombucha tea using ion chromatography. *Food Chemistry*. 111, 784–788. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.012>

Kumar, V. & Joshi, V. K. (2016). Kombucha: Technology, microbiology, production, composition and therapeutic value. *International Journal of Food and Fermentation Technology*, 6, 13-24. 10.5958/2277-9396.2016.00022.2

Lee, K.Y., Buldum, G., Mantalaris, A. & Bismarck, A. (2014). More than meets the eye in bacterial cellulose: biosynthesis, bioprocessing, and applications in advanced fiber composites. *Macromolecular Bioscience*, 14, 10–32. <https://doi.org/10.1002/mabi.201300298>

Liamkaew, R., Chattrawanit, J. & Danvirutai, P. (2016). Kombucha Production by combinations of black tea and apple juice. *Science and Technology RMUTT Journal*, 6, 139-146, 2016.

Lintner, K. (2006). Cosmetic or dermatopharmaceutical compositions containing kombucha. United States Patent Application Publication. Pub. No.: US 2006/0165643 A1. Pub. Date: Jul. 27, 2006.

Lobo, R.O., & Shenoy, C.K. (2015a). Evaluation of Kombucha consumption against myocardial infarction. *International Journal of Science and Research*, 4, 237–38.

Lobo, R.O. & Shenoy, C. K. (2015b). Myocardial potency of bio-tea against isoproterenol induced myocardial damage in rats. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 4491–4498. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1492-6>

Lobo, R. O., Dias, F. O., & Shenoy, C. K. (2017). Kombucha for healthy living: Evaluation of antioxidant potential and bioactive compounds. *International Food Research Journal*, 24, 541-546.

Lončar, E. S., Petrović, S. E., Malbaša, R. V. & Verac, R. M. (2000). Biosynthesis of glucuronic acid by means of tea fungus. *Nahrung*, 44, 138–139.

Lončar, E., Kanuric, K., Malbaša, R., Đurić, M. S. & Milanović, S. D. (2014). Kinetics of saccharose fermentation by Kombucha. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 20, 345–352. <https://doi.org/10.2298/CICEQ121113016L>

Malbaša, R. V., Lončar, E. S., & Kolarov, L. J. A. (2002a). Sucrose and inulin balance during tea fungus fermentation. *Romanian Biotechnology Letters*, 7, 573–576.

Malbaša R. V., Lončar E. S., & Kolarov L. J. A. (2002b). L-Lactic, L-Ascorbic, total and volatile acids contents in dietetic kombucha beverage. *Romanian Biotechnology*

Letters.7, 891 – 896.

Malbaša, R., Lončar, E., Djurić, M., Klašnja, M., Kolarov, L. J., & Markov, S. (2006). Scale-up of black tea batch fermentation by Kombucha. *Food and Bioprocess Technology*, 84(3 C), 193–199. <https://doi.org/10.1205/fbp.05061>

Malbaša, R., Lončar, E., Djurić, M. & Došenović, I. (2008a). Effect of sucrose concentration on the products of Kombucha fermentation on molasses. *Food Chemistry*, 108, 926-32. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.069>

Malbaša, R., Lončar, E. & Djurić, M. (2008b). Comparison of the products of Kombucha fermentation on sucrose and molasses. *Food Chemistry*, 106, 1039-1045. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.020>

Malbaša, R. V., Vitas, J. S., Lončar, E. S. & Kravić, S. T. (2011). Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. *Food Chemistry*, 127, 1727–1311. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.048>

Marsh, A. J., O'sullivan, O., Hill, C., Ross, R.P. & Cotter, P.D. (2014). Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiology*, 38, 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.09.003>

Marzban, F., Azizi, G., Afraei, Sanaz, S. R., Seyedzadeh, M. H., Razavi, A. E. & Mirshafiey, A. (2015). Kombucha tea ameliorates experimental auto immune encephalomyelitis in mouse modelo multiple sclerosis. *Food and Agricultural Immunology*, 26, 782–793.

<https://doi.org/10.1080/09540105.2015.1036353>

Matei, B, Matei, F., Diguță, C. & Popa, O. (2017). Potential use of Kombucha crude extract in post harvest grape moulds control. *Scientific Bulletin*, 21, 4.

Mayser, P., Fromme, S., Leitzmann C. & Gründer K. (1995). The yeast spectrum of the tea fungus Kombucha. *Mycoses*, 38, 289-95. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.1995.tb00410.x>

Milanović, S., Lončar, E., Djurić, M., Malbaša, R. V., Tekić, M. N., Iličić, M. D. & Duraković, K. G. (2008). Low energy Kombucha fermented milk-based beverages. *Acta periódica technologica*, 39, 37–46. <https://doi.org/10.2298/APT0839037M>

Mohammadshirazi, A., & Kalhor, B. E. (2016). Energy and cost analyses of kombucha beverage production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 55, 668–673. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.11.022>

Mondal, T., Pal, S. & Dey, S. K. (2015). Fermented black tea ameliorates gammaradiation- induced cellular and DNA damage in human blood lymphocytes. *International Journal of Biotechnology Research*, 3, 55-64.

Murugesan, G, Sathishkumar, M. & Swaminathan, K. (2005). Supplementation of waste tea fungal biomass as a dietary ingredient for broilerchicks. *Bioresource Technology*, 96, 1743–1748. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.01.006>

Murugesan, G. S., Sathishkumar, M., Jayabalan, R., Binupriya, A. R., Swaminathan, K. & Yun, S. E. (2009). Hepatoprotective and curative properties of Kombucha tea against carbon tetrachloride-induced toxicity. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19, 397-402. <https://doi.org/10.4014/jmb.0806.374>

Mousavi, S. M., Hashemi, S. A., Amani, A. M., Esmaeili, H., Ghasemi, Y., Babapoor, A., Mojoudi, F. & Arjomand, O. (2018). Pb (II) removal from synthetic waste water using Kombucha Scoby and graphene oxide/Fe₃O₄. *Physical Chemistry Research*, 6, 759-771. DOI: 10.22036/pcr.2018.133392.1490

Mousavi, S. M., Hashemi, S. A., Babapoor, A., Savardashtaki, A., Esmaeili, H., Rahnema, Y., Mojoudi, F., Bahrani, S., Jahandideh, S. & Asadi, M. (2019). Separation of Ni (II) from Industrial waste water by Kombucha Scoby as a colony consisted from bacteria and yeast: kinetic and equilibrium studies. *Acta Chimica Slovenica*, 66, 865–873. <https://doi.org/10.17344/acsi.2019.4984>

Neffe-Skocińska, K., Sionek, B., Ścibisz, I. & Kołożyn-Krajewska, D. (2017). Contenido de ácido y efectos de las condiciones de fermentación en las propiedades físico químicas, microbiológicas y sensoriales de bebidas de té de Kombucha. *CYTA - Journal of Food*,

15, 601-07. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1321588>

Neves, E.Z., Garcia, M. C. F., Apati, G. P., Pezzin, A. P. T. & Schneider, A. L. S. (2018, November). Development of bacterial cellulose membranes with incorporation of plant extract. Poster session presentation at Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 7088-099, Foz do Iguaçu, PR.

Najafpour, A., Rajabi Khorrami, A., Aberoomand Azar, P. & Saber Tehrani, M. (2020). Study of heavy metals biosorption by tea fungus in Kombucha drink using Central Composite Design. *Journal of Food Composition and Analysis*, 86, 103359. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103359>

Nummer, B. A. (2013). Kombucha Brewing Under the Food and Drug Administration Model Food Code: Risk Analysis and Processing Guidance. *Journal of Environmental Health*, 76, 4.

Paludo, N. (2017). Development and characterization of kombucha, from green tea and yerba mate extract: artisanal process and laboratory scale. Completion work. Federal University Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Paraná, Rio Grande do Sul, Brazil.

Perkins, M. L., Yuan, Y., & Joyce, D. C. (2017). Ultrasonic fog application of organic acids delays postharvest decay in red bayberry. *Postharvest Biology and Technology*, 133, 41-47. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.06.009>

Persaud, R., Re, T. & Srinivisan, V. A. (2017). Weight-of-evidence approach for the safety evaluation of kombucha extract in cosmetic products. EUA: L'Oreal R&I, Clark, NJ 07066. Access: www.congress.loreal.com/posters.php. Date: Feb/28/ 2020.

Podolich, O., Zaets, I., Kukharenko, O., Orlovska, I., Reva, O., Khirunenko, L., Sosnin, M., Haidak, A., Shpylova, S., Rabbow, E., Skoryk, M., Kremenskoy, M., Demets, R., Kozyrovska, N. & Vera, J. P. (2017). Kombucha multi microbial community under simulated space flight and martian conditions. *Astrobiology*, 17, 459–469. <https://doi.org/10.1089/ast.2016.1480>

Pure, A. E., & Pure, M. E. (2016a). Antioxidant and antibacterial activity of kombucha beverages prepared using banana peel, common nettles and black tea infusions, *Applied Food Biotechnology*, 3, 125-130.

Pure, A. E. & Pure, M. E. (2016b). Antioxidant, antibacterial and color analysis of garlic fermented in kombucha and red grape vinegar, *Applied Food Biotechnology*, 3, 7.

Qing, Y., Sabo, R., Zhu, J. Y., Agarwal, U., Cai, Z. & Wu, Y. (2013). A comparative study of cellulose nano fibrils disintegrated via multiple processing approaches. *Carbohydrate Polymers*, 97, 226–234. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.04.086>

Reiboldt, W., & Le, L. M. (2017). Consumer acceptability of a kombucha coffee (Coffea) prototype with traditional coffee characteristics. (August). Retrieved from

<https://ezproxy.usim.edu.my:2066/docview/1958956132/C7E7C9B8A8134764PQ/6?acountid=33993>

Reiss, J. (1994). Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungus. *Z. Lebensm-Unters-Forsch*, 198, 128–261. <https://doi.org/10.1007/BF01192606>

R&Q Máquinas, (2021). Tanque para fermentação de kombucha. https://www.rgmaquinas.ind.br/Produtos/Kombucha/Tanque_para_fermenta%C3%A7%C3%A3o_de_Kombucha. Accessed February 17, 2021.

Reva, O. N.; Zaets, I. E., Ovcharenko, L. P., Kukhareno, O. E., Shpylova, S. P. Podolich, O. V., Vera, J. P. & Kozyrovska, N. O. (2015). Metabarcoding of the kombucha microbial community grown in different microenvironments. *AMB Express*, 5, 35. <https://doi.org/10.1186/s13568-015-0124-5>

Rosa, K. S. da. (2019). Aproveitamento no mundo da moda: “couro vegano”. Completion of course work. South University Santa Catatina. Florianópolis, SC. Brazil

Rosalés-Cortes, M., Esther, A. R., Guillermo, N. R., Mireles, R. L. de C., Figueroa, L. Á., Orozco, J. J. I. & Peña, E. R. de L. (2014). Evaluation of the properties of healing of the extract of kombucha in sheep in growth with malnutrition, parasitosis and respiratory problems. *Open Journal of Veterinary Medicine*, 4175-4182. <https://doi.org/10.4236/ojvm.2014.48020>

Rosalés-Cortes, M., Albarrán-Rodríguez, E., Nolasco-Rodríguez, G., Avila-Figueroa, D., Cervantes-Mireles, R. L., Rosales-Ramírez, R. & García-Carrasco, D. M. (2015). Healing effect of the extract of kombucha in male wistar rats. *Open Journal of Veterinary Medicine*, 5, 80-88. <http://dx.doi.org/10.4236/ojvm.2015.54011>

Santos, M. J. (2016). Kombucha: caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração. Master Dissertation. University Nova de Lisboa. Lisboa. Portugal.

Semjonovs, P., Ruklisha, M., Paegle, L. (2017). Cellulose synthesis by *Komagataeibacter rhaeticus* strain P 1463 isolated from Kombucha. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101, 1003–1012. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7761-8>

Shahbazi, H., Hashemi, G. H., Golmakani, M. T., Eskandari, M. H. & Movahedi, M. (2018). Effect of medicinal plant type and concentration on physicochemical, antioxidant, antimicrobial, and sensorial properties of kombucha. *Food Science & Nutrition*, 6, 2568–2577. <https://doi.org/10.1002/fsn3.873>

Shenoy, C. K., Lobo, R. O. & Dias, F. O. (2019). Kombucha (Bio-Tea): An Elixir for Life?. *Nutrients in Beverages*, 591-616. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816842-4.00016-2>

Sievers, M., Lanini, C., Weber, A., Schuler-Schmid, U. & Teuber, M. (1995). Microbiology and fermentation balance in a kombucha beverage obtained from tea

fungus fermentation. *Systematic and Applied Microbiology*, 18, 590-594.

[https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(11\)80420-0](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(11)80420-0)

Sinir, G. Ö., Tamer, C. E., & Suna, S. (2019). Kombucha Tea: A promising fermented functional beverage. *Fermented Beverages*. 401-432. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815271-3.00010-5>

Son, H. & Lee, S. (2002). Production cellulose and acids in Kombucha. *Journal of Food Science and Nutrition*, 7, 37-42. <https://doi.org/10.3746/jfn.2002.7.1.037>

Sreeramulu, G., Zhu, Y. & Knol, W. (2000). Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2589–2594. <https://doi.org/10.1021/jf991333m>

Sreeramulu, G., Zhu, Y. & Knol, W. (2001). Characterization of antimicrobial activity in kombucha fermentation. *Acta Biotechnology*, 21, 49–56. [https://doi.org/10.1002/1521-3846\(200102\)21:1<49:AID-ABIO49>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/1521-3846(200102)21:1<49:AID-ABIO49>3.0.CO;2-G)

Srihari, T., Karthikesan, K., Ashokkumar, N. & Satyanarayana, U. (2013a). Antihyperglycaemic efficacy of kombucha in streptozotocin-induced rats. *Journal of Functional Foods*, 5, 1794-1802. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.08.008>

Srihari, T., Arunkumar, R., Arunakaran, J. & Satyanarayana, U. (2013b). Down regulation of signal ling molecules involved in angiogenesis of prostate câncercellline

(PC-3) by kombucha (lyophilized). *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 3, 53–58.
<https://doi.org/10.1016/j.bionut.2012.08.001>

Sun, T. Y., Li, J. S. & Chen, C. (2015). Effects of blending wheatgrass juice on enhancing phenolic compounds and antioxidant activities of traditional kombucha beverage. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23, 709-718.<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.01.009>

Teoh, A. L., Heard, G. & Cox, J. (2004). Yeast ecology of Kombucha fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 95, 119-26.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.12.020>

Timeout, (2020). Kombucha: a bebida que está a fermentar em Guimarães.
<https://www.timeout.pt/porto/pt/noticias/kombucha-a-bebida-que-esta-a-fermentar-em-guimaraes-011920>. Accessed February 17, 2021.

Tu, C., Tang, S., AZI, F. (2019). Use of kombucha consortium to transform soy whey into a novel functional beverage. *Journal of Functional Foods*, 52, 81–89.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.024>

Utoiu, E., Matei, F., Toma, A., Digut, C. F., Stefan, L. M., Mănoiu, S., Vărajmas, V. V., Moraru, I., Oancea, A., Roming, F. I., Cornea, P. C., Aruxandei, D. C., Moraru, A. E. & Oancea, F. (2018). Bee collected pollen with enhanced health benefits, produced by fermentation with a kombucha consortium. *Nutrients*, 10, 1365.
<https://doi.org/10.3390/nu10101365>

Vásquez-Cabral, B. D., Larrosa-Perez, M., Gallegos-Infante, J. A., Moreno-Jimenez, M.

R., Gonzalez-Laredo, R. F., Rutiaga-Quinones, J. G., Gamboa-Gómez, C. I. (2017). Oak Kombucha protects against oxidative stress and inflammatory processes. *Chemico-Biological Interactions*, 272, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.05.001>

Velićanski, A., Cvetković, D., Markov, S., Tumbas, V. T. & Savatović, S. M. (2007). Antimicrobial and antioxidant activity of lemon balm Kombucha. *Acta periodica technologica*, 38, 165–172. <https://doi.org/10.2298/APT0738165V>

Velićanski, A., Cvetković, D. & Markov, S. (2013). Characteristics of Kombucha fermentation on medicinal herbs from Lamiaceae family. *Romanian Biotechnological Letters*, 18, 9.

Velićanski, A. S., Cvetković, D. D., Markov, S. L., Šaponjac, V. T. T. & Vulić, J. J. (2014). 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*, 2, 420–429. <https://doi.org/10.17113/ftb.52.04.14.3611>

Venditti, T., Angiolino, C., Dore, A., Molinu, M. G., Petretto, A., & D'Hallewin, G. (2009). Treatments with acetic acid followed by curing reduce postharvest decay on citrus fruit. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 74(3):723-8.

Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. P. & Taillandier, P. (2018). Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review: Understanding Kombucha tea

fermentation. *Journal of Food Science*, 83, 580–588. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14068>

Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. P., Renard, T., Rollan, S. & Taillandier, P. (2019). Impact of fermentation conditions on the production of bioactive compounds with anticancer, anti-inflammatory and antioxidant properties in kombucha tea extracts. *Process Biochemistry*, 83, 44-54. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.05.004>

Vitas, J., Malbaša, R. & Grahovac, J. (2013). The antioxidant activity of kombucha fermented milk products with stinging nettle and winter savory. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 19, 129–139. <https://doi.org/10.2298/CICEQ120205048V>

Vitas, J. S., Cvetanović, A. D., Mašković, P. Z., Švarc-Gajić, J. V. & Malbaša, R. V. (2018). Chemical composition and biological activity of novel types of kombucha beverages with yarrow. *Journal of Functional Foods*, 44, 95-102. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.019>

Wang, K., Gan, X., Tang, X., Wang, S. & Tan, H. (2010). Determination of d-saccharic acid-1,4-lactone from brewed kombucha broth by high-performance capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 878, 371-374. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.12.003>

Wang, Y., Ji, B., Wu, W., Wang, R., Yang, Z., Zhang, D. & Tian, W. (2013). Hepatoprotective effects of kombucha tea: Identification of functional strains and quantification of functional components. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 265-272. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6245>

Watawana, M.I., Jayawardena, N. & Waisundara, V.Y. (2015a). Enhancement of the functional properties of coffee through fermentation by the Kombucha ‘tea fungus’. *Journal Food Processing and Preservation*, 39, 2596–2603. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12509>

Watawana, M. I., Jayawardena, N., Gunawardhana, C. B. & Waisundara, V. Y. (2015b). Health, wellness, and safety aspects of the consumption of kombucha. *Journal of Chemistry*. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/591869>

Watawana, M. I., Jayawardena, N., Gunawardhana, C. B. & Waisudara, V. Y. (2016). Enhancement of the antioxidant and starch hydrolase inhibitory activities of king coconut water (*Cocos nucifera* var. *aurantiaca*) by fermentation with kombucha ‘tea fungus’. *Food Science and Technology*, 51, 490-98. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13006>

Xia, X., Dai, Y., Wu, H., Liu, X., Wang, Y., Yin, L., Wang, Z., Li, X. & Zhou., J. (2019). Kombucha fermentation enhances the health-promoting properties of soymilk beverage. *Journal of Functional Foods*, 62, 103549. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103549>

Yang, Z., Zhou, F., Ji, B., Li, B., Luo, Y., Yang, L., & Li, T. (2008). Symbiosis between microorganisms from Kombucha and kefir: potential significance to the enhancement of Kombucha function. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 160, 446–455. <https://doi.org/10.1007/s12010-008-8361-6>

Yang, Z.W., Zhou, F., Ji, B., Li, B., Luo, Y. & Li, T. (2010). Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of kombucha tea in highcholesterol fed mice. *Journal of the Science and Food and Agriculture*, 89, 50-156. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3422>

Yapar, K., Cavusoglu, K., Oruc, E. & Yalcin, E. (2010). Protective effect of kombucha mushroom (KM) tea on phenol-induced cytotoxicity in albino mice. *Journal of Environmental Biology*, 31, 615-621.

Yavari, N., Assadi, M. M. & Larijani, K. (2010). Response surface methodology for optimization of glucuronic acid production using kombucha layer on sour cherry juice. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4, 3250-3256.

Yavari, N., Assadi, M. M. & Moghadam, M. B. L. (2011). Optimizing Glucuronic acid production using tea fungus on grape juice by response surface methodology. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5, 1788-1794.

Zhao, Z.-J., Sui, Y., Wu, H., Zhou, Cai-bi, Hu, X. & Zhang, J. (2018). Flavour chemical dynamics during fermentation of Kombucha tea. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 30, 732-741. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2018.v30.i9.1794>

Zhou, X., Tan, J., Gou, Y., Liao, Y., Xu, F., Li, G., Cao, J., Yao, J., Ye, J., Tang, N. & Chen, Z. (2019). The biocontrol of postharvest decay of table grape by the application of kombucha during cold storage. *Scientia Horticulturae*, 253, 134-39. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.04.025>

Zhu, C., Li, F., Zhou, X., Lin, L. & Zhang, T. (2014). Kombucha-synthesized bacterial cellulose: Preparation, characterization, and biocompatibility evaluation. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 102, 1548-57. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34796>

Zubaidah, E., Dewantari, F. J., Novitasari, F. R., Srianata, I. & Blanc, P. J. (2018). Potential of snake fruit (*Salacca zalacca* (Gaerth.) Voss) for the development of a beverage through fermentation with the Kombucha consortium. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13, 198-203. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.12.012>