

KOMBUCHA: CARACTERÍSTICAS E ASPECTOS BIOLÓGICOS

KOMBUCHA: CHARACTERISTICS AND BIOLOGICAL ASPECTS

YARA LÚCIA MARQUES MAIA¹, MARIA LUÍSA DE SOUSA CORREIA², JOSÉ VICENTE DA SILVA NETO³, BRUNA NEVES CASTRO⁴.

1. Docente dos cursos de Farmácia e Nutrição da Universidade Paulista e Docente do curso de Farmácia da Faculdade Estácio de Sá Goiás; 2. Nutricionista, graduada em Nutrição pela Universidade Paulista – UNIP; 3. Acadêmico de Nutrição da Universidade Paulista – UNIP; 4. Acadêmica do curso de Nutrição da Universidade Paulista – UNIP.

* Yara Lúcia Marques Maia: Rua C-241 Qd 542 Lt 13 Jardim América, Goiânia-Go, CEP 74.290-160. yaramaia.science@gmail.com

Recebido em 11/03/2020. Aceito para publicação em 06/04/2020

RESUMO

Introdução: Kombucha é uma bebida fermentada probiótica consumida em todo o mundo devido às suas alegadas propriedades benéficas à saúde. É produzida pela fermentação de chá adoçado (tradicionalmente chá verde ou preto) por uma simbiose de bactérias e leveduras que produzem uma camada de celulose, o SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast). **Objetivos:** Este artigo visa apresentar as características do Kombucha, fornecer orientações de preparo, bem como indicações de uso e alegações de saúde baseadas na literatura científica. **Métodos:** Trata-se de uma revisão bibliográfica descritiva. Foram utilizados 43 trabalhos, selecionados de acordo com a qualidade do conteúdo apresentado. **Resultados:** Durante a levedação do Kombucha são produzidos ácidos orgânicos e outros metabólitos e compostos ativos, em grande parte derivados dos polifenóis do chá usado, que podem ser benéficos à saúde do consumidor, principalmente por estímulo do sistema imune. Através de seu consumo são relatadas atividade probiótica, antioxidante, anti-inflamatória, desintoxicante, hepatoprotetora, hipoglicemiante, hipocolesterolemizante, antimicrobiana, imunomoduladora, dentre outras. No entanto para que a bebida tenha as qualidades desejadas, deve ser preparada segundo os parâmetros de boas práticas de manipulação, tempo e condições de fermentação. **Cosiderações Finais:** Apesar de existirem vários relatos dos efeitos benéficos para a saúde do uso de Kombucha, ainda são necessários estudos clínicos e pesquisas dos constituintes da bebida para entendimento dos vínculos entre os parâmetros da fermentação e as atividades funcionais da bebida com evidências das vantagens e desvantagens de seu consumo.

PALAVRAS-CHAVE: Chá de Kombucha; Alimentos Fermentados; Probióticos; Fermentação.

ABSTRACT

Introduction: Kombucha is a probiotic fermented drink consumed worldwide due to its alleged health-beneficial properties. It is produced by fermenting sweetened tea (traditionally green or black tea) by a bacteria and yeasts symbiosis that produce a layer of cellulose, SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast). **Objectives:** This article present Kombucha

characteristics, preparation guidelines, as well as use indications and health claims based on scientific literature. **Methods:** This is a descriptive bibliographic review. 43 articles were used, selected according to the content quality presented. **Results:** During Kombucha fermentation, organic acids, other metabolites and active compounds are produced, largely derived from the tea polyphenols used, which can be beneficial to the consumer's health, mainly by system immune stimulation. Through its consumption are reported probiotic, antioxidant, anti-inflammatory, detoxifying, hepatoprotective, hypoglycemic, hypocholesterolemic, antimicrobial, immunomodulatory, among others benefits. However, for the desired qualities of the drink, it must be prepared according to the good handling practices parameters, time and conditions of fermentation. **Final Considerations:** Although several reports of the health beneficial effects of Kombucha, clinical studies and research of the drink's constituents are still needed to understand the links between parameters fermentation and the drink's functional activities with evidence of the advantages and disadvantages of its consumption.

KEYWORDS: Kombucha Tea; Fermented Foods; Probiotics; Fermentation.

1. INTRODUÇÃO

Kombucha é um refrescante e tradicional chá fermentado que atualmente tem despertado um crescente interesse devido às suas alegadas propriedades benéficas à saúde. É um dos mais populares alimentos fermentados consumidos no mundo, principalmente no oriente. É produzido a partir de chás adoçados de *Camellia sinensis* (tradicionalmente chá preto ou chá verde) que são fermentados por uma simbiose de bactérias e leveduras denominado SCOBY (Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast - Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras). O processo promove mudanças no conteúdo dos princípios ativos do chá usado. Durante o processo os microrganismos produzem uma quantidade

considerável de ácidos orgânicos (glicônico, acético e láctico) gás carbônico e álcool, bem como novos produtos bioativos com alegadas propriedades promotoras para a saúde (MARSH et al., 2014; VILLARREAL-SOTO et al., 2018).

O crescente interesse no consumo de Kombucha se baseia na tendência de consumidores pela busca por um estilo de vida mais saudável, com preferência por produtos minimamente processados, sem aditivos químicos, com alto valor nutricional (VILLARREAL-SOTO et al., 2018). Para este propósito, o Kombucha se apresenta como uma bebida gaseificada refrescante, natural, probiótica, semelhante a um espumante. Suas propriedades antioxidantes e detoxificantes são doadas pelos princípios ativos do substrato fermentável, ou seja, o chá usado no preparo, que caracteristicamente é rico em compostos fenólicos, potentes antioxidantes (CHAKRAVORTY et al., 2016; FILIPPIS et al., 2018). Vários estudos têm descrito as propriedades bioquímicas e biológicas da bebida, bem como a caracterização da comunidade microbiana do SCOBY. No entanto, por serem estudos isolados, ocorre uma dificuldade no entendimento do desenvolvimento das propriedades benéficas do chá de Kombucha durante o processo fermentativo, que é característico de cada tipo de microrganismo (JAYABALAN et al., 2010; CHAKRAVORTY et al., 2016).

O SCOBY é uma simbiose de bactérias e leveduras embebida em uma película polimérica de celulose que forma um biofilme flutuante no chá, compondo dois compartimentos não mutuamente exclusivos: um líquido e o outro sólido, o biofilme contido nele. Todos os microrganismos deste consórcio alimentam-se do açúcar adicionado à bebida (preferindo a glicose à frutose). Como resultado de seu metabolismo produzem álcool e diversos ácidos em quantidades variáveis, dependendo do tempo de fermentação e de demais condições do cultivo. Com o passar do tempo o pH do meio é alterado, de aproximadamente 5 para 2,5, o que contribui para inibir o crescimento de bactérias potencialmente contaminantes, garantindo a presença somente das bactérias probióticas e leveduras do SCOBY (SREERAMULU et al., 2000; VILLARREAL-SOTO et al., 2018). Os ácidos e demais produtos formados interagirão com os compostos do chá usado, produzindo novos produtos biologicamente ativos, incluindo aminoácidos e vitaminas, predominantemente do complexo B. Estes metabólitos podem ser usados para a promoção da saúde, bem como em suplementação alimentar de humanos e animais (JAYABALAN et al., 2010).

Dentre as atividades biológicas do Kombucha em humanos, relatadas na literatura científica, podem ser destacadas sua ação probiótica para prevenção de disbiose do trato gastrointestinal (VILLARREAL-SOTO et al., 2018), atividade antioxidante e anti-inflamatória (VÁZQUEZ-CABRAL et al., 2017) hepatoprotetora (BHATTACHARYA et al., 2011; WANG et al., 2014), antimicrobiana (SREERAMULU et al., 2000), hipocolesterolemizante (YANG et al.,

2008; ALOULOU et al., 2012; JAYABALAN et al., 2014), e na redução da glicemia (pois diminui a absorção de glicose devido à inibição da α -amilase intestinal) (ALOULOU et al., 2012; KALLEL et al., 2012; JAYABALAN et al., 2014). Estudos pioneiros realizados na Rússia coletaram testemunhos indicando que o Kombucha pode estimular o sistema imune, aumentar a resistência a tumores, prevenir doenças cardiovasculares, promover a digestão, reduzir doenças cujo processo patológico básico seja a inflamação, dentre outros benefícios diversos (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000).

As diversas etapas durante a produção do Kombucha estão sujeitas a variáveis, o que têm despertado interesse da comunidade científica. Então, torna-se necessário o conhecimento de todas elas para que possam ser controladas, o que poderá ser obtido com investimento em educação e orientações claras e precisas quanto aos passos do processo. Este artigo visa apresentar as características do chá Kombucha, fornecer orientações de preparo, bem como alegações dos benefícios para a saúde baseados na literatura científica.

2. MÉTODOS

Este estudo é uma revisão descritiva da literatura sobre o uso do Kombucha, suas características de composição e preparo, bem como os aspectos biológicos e clínicos de seu uso. A busca das referências foi feita nas bases de dados PubMed e Google Acadêmico, usando os descritores: Chá de Kombucha, Fermentação, Alimentos Fermentados e Probióticos. Foram utilizados estudos publicados em português, inglês e espanhol, publicados preferencialmente entre 2010 e 2020, no entanto foram incluídos artigos relevantes publicados em período anterior. Também foram usados livros e documentos oficiais de sociedades profissionais. Foram excluídas monografias, trabalhos de conclusão de curso e artigos sobre Kombucha com foco em temas divergentes dos necessários à esta revisão. Ao todo foram utilizados 43 trabalhos para fundamentação temática.

3. REVISÃO DE LITERATURA

O consumo de chá na China tem uma história que remonta há mais de 5.000 anos. Já, a origem do uso de chá fermentado Kombucha é incerta, provavelmente da Manchúria, no nordeste da China, em aproximadamente 220 AC. A partir daí, por volta de 440 DC o Kombucha foi exportado para o Japão devido às suas alegações medicinais, com o objetivo de tratar problemas digestivos do Imperador Inkyo. Com o desenvolvimento das rotas comerciais, seu uso foi se difundindo, a princípio para a Rússia e então para a Europa oriental e depois para a Alemanha, no início do século XX. Em meados do século passado chegou à França e às colônias francesas do norte da África. Na década de 1960 já foram relatados estudos sobre os

benefícios do Kombucha na Suíça, e a partir de então, seu uso foi difundido por todo o mundo. O rápido crescimento do interesse em seu consumo se baseou principalmente no fato de ser uma bebida fermentada probiótica caseira de fácil obtenção (JAYABALAN *et al.*, 2014).

A fermentação é uma das técnicas mais difundidas de conservação de alimentos, com uma história que se perde na antiguidade. Existem vários tipos de fermentação que produzem diferentes substâncias, dependendo da via metabólica utilizada. A fermentação que ocorre no Kombucha é uma combinação da fermentação alcoólica, láctica e acética, produzida pelas diferentes bactérias e leveduras presentes no SCOBY. O produto final, mais láctico ou acético, dependerá do equilíbrio destes microrganismos no meio de cultura (chá). Uma das principais características da fermentação do Kombucha é a produção de celulose por alguns tipos de bactérias, que origina um biofilme que com o passar do tempo vai crescendo na superfície do líquido (RAY; JOSHI, 2014).

Este biofilme, chamado SCOBY, pode ser formado a partir de um chá já fermentado que é acrescentado de quantidade igual de chá fresco adoçado e deixado em repouso por alguns dias. Após aproximadamente 3 a 4 dias já começa a formação da película celulósica na superfície do chá, que vai aumentando de espessura com o passar do tempo. Outra forma de produção do SCOBY é a partir de uma cultura já madura que é depositada em um chá fresco. Esta irá fermentar o chá ao mesmo tempo que produzirá uma nova cultura na superfície do líquido ou aderida a ela própria, que facilmente pode ser removida e usada em uma nova fermentação (BRUSCHI *et al.*, 2018).

Após ter sido fermentado durante um tempo adequado (fermentação F1), o Kombucha pode ser ingerido *in natura*, ou ser submetido à uma segunda fermentação em recipiente fechado (fermentação F2), o que proporcionará o aprisionamento do CO₂ produzido e consequentemente, a gaseificação da bebida. Nesta segunda fermentação podem ser adicionados de 20 a 25% de suco de frutas, frutas frescas, outro chá ou mesmo ervas e especiarias para acréscimo de sabor e propriedades à bebida. Esta etapa, que não é essencial ao processo, constitui uma verdadeira arte na produção de bebidas saborizadas e carbonatadas e tem conquistado muitos adeptos (CRUM; LAGORY, 2016; MEDEIROS; CECHINEL-ZANCHETT, 2019; SILVA *et al.*, 2020).

A tradição orienta que as pessoas que desejam iniciar uma fermentação de Kombucha obtenham sua cultura de SCOBY através de doação de um produtor. No entanto, atualmente existem empresas em todo o mundo que vendem estas culturas *on line* a partir de *websites* e as despacham por transportadoras ou até mesmo por correio. A bebida de Kombucha também tem sido comercializada em garrafas, na apresentação natural ou saborizada, facilmente encontrada em grandes mercados ou em estabelecimentos de alimentos naturais (JAYABALAN *et al.*, 2014; CRUM;

LAGORY, 2016).

COMPOSIÇÃO QUÍMICA

A presença de vitaminas, minerais e demais compostos orgânicos no Kombucha tende a variar de acordo com o chá/substrato utilizado, tempo de fermentação, concentração do chá, microrganismos ativos no inóculo, quantidade de açúcar e qualidade da água. Apesar disso, de maneira geral, a bebida apresenta vitaminas hidrossolúveis, ácidos orgânicos, minerais, proteínas e aminoácidos, purinas, açúcares, lipídeos, pigmentos, enzimas, compostos fenólicos e demais metabólitos (GREENWALT *et al.*, 2000).

As principais vitaminas que compõem a bebida são do complexo B. Em maior concentração são encontradas a Tiamina (B1), Riboflavina (B2), Piridoxina (B6) e Cobalamina (B12), que atuam como coenzimas nas reações metabólicas colaborando na produção de energia (RUBERT *et al.*, 2017). Além destas, também está presente a vitamina C, cuja influência em processos antioxidantes e anti-inflamatórios beneficia o organismo (CAVALARI; SANCHES, 2018).

Dentre os principais ácidos orgânicos estão os ácidos cítrico, fólico, glicônico, glicurônico, láctico, málico, malônico, oxálico, pirúvico, succínico, tartárico e úsnico. Destaca-se o ácido glicurônico, produzido pelo fígado, por sua atividade desintoxicante e precursora da vitamina C. Estes ácidos, juntamente com os açúcares (sacarose, glicose e frutose), conferem o sabor agridoce ao Kombucha (GREENWALT *et al.*, 2000; NEFFE-SKOCIŃSKA *et al.*, 2017).

Os polifenóis encontrados na bebida são oriundos das folhas utilizadas no preparo do chá que será colocado junto ao SCOBY para fermentação. Estes componentes são responsáveis pelas características organolépticas da bebida final (cor, sabor e cheiro). A maioria dos compostos produzem substâncias voláteis, conferindo aroma ao chá. Geralmente proporcionam à bebida sabor ligeiramente amargo e cor dourada (HARBOWY *et al.*, 2010).

Em um estudo realizado por Jayabalan *et al.* (2010) foi analisada a composição do SCOBY, pois esta cultura simbiótica também é utilizada em algumas preparações culinárias. Foi destacado que ele possui em torno de 23% de proteína bruta, 14% de fibra bruta e pouco mais de 5% de lipídeos. O alto teor de proteína bruta encontrado é composto por aminoácidos essenciais (lisina, leucina e isoleucina em maior concentração) e não essenciais (ácido glutâmico, alanina e ácido aspártico se destacam).

Ainda foram encontrados a cada 100 gramas (g) de matéria seca: 0,45g de magnésio, 0,33g de sódio e 0,21g de potássio e demais micronutrientes em quantidades irrisórias. Apesar de uma composição rica, deve ser destacado que a bebida fermentada ou o SCOBY não devem ser ingeridos como única fonte dietética dos macro e micronutrientes encontrados (JAYABALAN *et al.*, 2010).

PROPRIEDADES BIOLÓGICAS

O consumo do chá do Kombucha se dá principalmente pela busca dos benefícios à saúde atribuídos às propriedades intrínsecas ao chá (ou outros substratos utilizados na F1 ou F2) e ao processo de levedação pelas bactérias e leveduras que formam o SCOBY. Apesar da concentração dos componentes benéficos ser variável de acordo com o tempo de fermentação e tipo de chá utilizado, existem propriedades gerais, sempre presentes, que são melhor obtidas quando são respeitados o tempo de fermentação, temperatura e armazenamento ótimos (FILIPPIS et al., 2018; VILLARREAL-SOTO et al., 2018).

A principal propriedade biológica almejada por quem consome a bebida, em suma, é a simbiótica (combinação entre probióticos e prebióticos), que pode controlar e equilibrar a microbiota intestinal (WATAWANA et al., 2015; BRUSCHI et al., 2018). Esta ação é referente ao teor de microrganismos probióticos presentes no chá fermentado, que irão reduzir a permeabilidade intestinal, competir com componentes patogênicos por sítios de adesão e nutrientes que podem estar presentes e recrutar células de defesa para o local. Além deste controle e melhora no perfil do microbioma intestinal, estes microrganismos podem agir prevenindo diarreias, intolerância à lactose, doença de Crohn, síndrome do intestino irritável e, também colaborar com o aumento da imunidade (MEDEIROS; CECHINEL-ZANCHETT, 2019).

O efeito antioxidante e anti-inflamatório da bebida levedada se deve principalmente aos compostos fenólicos presentes no chá da *Camellia sinensis*, que são potencializados pelo processo fermentativo (VÁZQUEZ-CABRAL et al., 2017; MEDEIROS; CECHINEL-ZANCHETT, 2019), e pela presença de vitamina C (HRNJEZ et al., 2014). Os polifenóis, se complexam com metais e, bem como a vitamina C, e irão atuar doando elétrons e hidrogênios atenuando assim os radicais livres. Com isso, há inibição da oxidação lipídica, aumento da transcrição de proteínas antioxidantes, bloqueio das atividades das cicloxigenases (COX) e lipoxigenases (LOX), redução na síntese de interleucinas e de TNF- α e atenuação de processos inflamatórios (MEDEIROS; CECHINEL-ZANCHETT, 2019).

A capacidade desintoxicante do Kombucha é oriunda do ácido glicurônico, que é formado durante o metabolismo do açúcar. Sua forma ativa (ácido uridino difosfato glicurônico) que é formada após um processo enzimático no fígado, possui alta capacidade de conjugação e fácil excreção. Esse ácido se liga a substâncias endógenas, como bilirrubina e hormônios esteroidais excessivos, bem como a substâncias exógenas, como poluentes, produtos químicos e demais substâncias químicas, potencializando a biotransformação. A excreção se dá pela via renal (NGUYEN et al., 2015; MEDEIROS; CECHINEL-

ZANCHETT, 2019).

A bebida possui atividade antimicrobiana e antifúngica, justificada pelo baixo pH e formação de ácidos orgânicos e catequinas durante a levedação. Estes componentes são capazes de inibir o crescimento de algumas bactérias e agentes patogênicos, podendo ser citadas: *Helicobacter pylori*, *Leuconostoc monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermis*. O papel antifúngico do chá está relacionado com a produção e presença de ácido acético (SREERAMULU et al., 2000; WATAWANA et al., 2015; MEDEIROS; CECHINEL-ZANCHETT, 2019).

Existe também associação do consumo do Kombucha com efeito anticâncer, pela presença de polifenóis e substâncias resultantes do processo fermentativo. Estas substâncias atuam estimulando a apoptose de células carcinogênicas, diminuindo assim sua instalação e replicação (*in vitro*). Os compostos fenólicos parecem auxiliar também no bom êxito dos tratamentos quimio e radioterápicos (WATAWANA et al., 2015; MEDEIROS; CECHINEL-ZANCHETT, 2019).

A utilização do Kombucha por portadores de diabetes mellitus é interessante devido a seu efeito hipoglicemiante. A hiperglicemia, a longo prazo, pode acarretar diversas complicações como nefropatia, glaucoma e neuropatia, que podem ser evitadas com o controle efetivo da glicemia. Em estudos realizados com animais, foi possível observar a redução dos níveis de glicose circulante, lentificação do esvaziamento gástrico, regeneração das células β -pancreáticas, melhor captação e distribuição da glicose e estímulo da secreção de insulina. Estes efeitos são oriundos da ação dos compostos fenólicos e ácidos orgânicos e inibição da enzima intestinal α -amilase (ALOULOU et al., 2012; ZUBAIDAH et al., 2018; MEDEIROS; CECHINEL-ZANCHETT, 2019).

A associação do Kombucha com a redução do colesterol se dá pela ação dos polifenóis na inibição da ação das lipases pancreáticas. Desta forma, existe uma redução dos ácidos graxos livres, menor concentração de LDL-c, redução dos triglicerídeos totais e aumento na porção HDL-c. Além disto, sua ação antioxidante reduz a atividade aterogênica, principalmente por redução do LDL-c (ALOULOU et al., 2012; MEDEIROS; CECHINEL-ZANCHETT, 2019).

Além das propriedades expostas, a potencialidade do chá fermentado reduz o estresse oxidativo de maneira geral, colaborando com a redução dos sintomas de doenças autoimunes inflamatórias, prevenção de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), problemas cardiovasculares, melhora da digestão e função hepatoprotetora (BHATTACHARYA et al., 2011; WANG et al., 2014). Estes benefícios estão associados aos flavonoides contidos na bebida e ao seu consumo regular (MEDEIROS; CECHINEL-ZANCHETT, 2019).

VARIÁVEIS NO PROCESSO DE PRODUÇÃO DO KOMBUCHA

A fermentação do Kombucha é influenciada por muitos fatores, como temperatura, pH, quantidade de oxigênio, CO₂ dissolvido, tipos de frascos e forma do sistema fermentativo, fornecimento de precursores, bem como a natureza e a composição do meio, fornecidos pelo tipo e qualidade das folhas de chá e de açúcar usados, o tempo de fermentação e possibilidade de contaminação por bactérias externas ao sistema fermentativo (MARSH et al., 2014). Qualquer variação desses fatores pode afetar a taxa e o desempenho da fermentação, as propriedades organolépticas, a qualidade nutricional e outras propriedades físico-químicas e biológicas do produto (WOLFE; DUTTON, 2015). Os principais envolvidos no processo fermentativo suscetíveis a variáveis serão relatadas abaixo:

SCOBY

Pode também ser chamado de fungo do chá, mas é constituído de bactérias e leveduras. É uma simbiose de microrganismos que em condições aeróbicas, em um período de 7 a 10 dias, convertem o açúcar e o chá em uma bebida levemente carbonatada, contendo vários ácidos, 14 aminoácidos, algumas enzimas e vitaminas, principalmente do complexo B (MALBAŠA et al., 2011).

A constituição de bactérias e leveduras do SCOBY pode variar entre as fermentações, no entanto existem espécies que sempre estarão presentes nas culturas. Dentre as leveduras predominantes encontram-se as *Brettanomyces bruxellensis*, *Brettanomyces intermedius*, *Candida famata*, *Pichia*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ludwigii*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Torulaspota delbrueckii*, *Zygosaccharomyces bailii* e a *Zygosaccharomyces rouxii*. As bactérias predominantes são *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus* (*Acetobacter xylinum*), *Acetobacter xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Gluconacetobacter kombuchae* e *Gluconobacter oxydans*, conforme visto na Tabela 1 (GREENWALT et al., 2000; REVA et al., 2015; CHAKRAVORTY et al., 2016; CRUM; LAGORY, 2016; AMARASINGHE et al., 2018; VILLARREAL-SOTO et al., 2018).

Os diferentes gêneros e espécies de leveduras presentes no SCOBY interagem metabolicamente gerando características desejáveis ao produto final (VILLARREAL-SOTO et al., 2018). Esta interação benéfica entre leveduras de *Saccharomyces* e não-*Saccharomyces* primordialmente evita o risco de paralização da fermentação, entre vários outros benefícios ao processo (SUN et al, 2014).

Os diferentes gêneros e espécies de leveduras presentes no SCOBY interagem metabolicamente gerando características desejáveis ao produto final (VILLARREAL-SOTO et al., 2018). Esta interação benéfica entre leveduras de *Saccharomyces* e não-

Saccharomyces primordialmente evita o risco de paralização da fermentação, entre vários outros benefícios ao processo (SUN et al, 2014).

Tabela 1. Micro-organismos predominantes nas culturas de SCOBY em várias regiões do mundo.

MICRO-ORGANISMOS	
Leveduras	
	<i>Brettanomyces bruxellensis</i>
	<i>Brettanomyces intermedius</i>
	<i>Candida famata</i>
	<i>Pichia</i>
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
	<i>Saccharomyces ludwigii</i>
	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>
	<i>Torulaspota delbrueckii</i>
	<i>Zygosaccharomyces bailii</i>
	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>
Bactérias	
	<i>Acetobacter aceti</i>
	<i>Acetobacter pasteurianus</i> (<i>Acetobacter xylinum</i> ; <i>Komagataebacter xylinus</i>)
	<i>Acetobacter xylinoides</i>
	<i>Bacterium gluconicum</i>
	<i>Gluconacetobacter kombuchae</i> sp
	<i>Gluconobacter oxydans</i>

Fonte: GREENWALT et al., 2000; CRUM; LAGORY, 2016; AMARASINGHUE et al., 2018; VILLARREAL-SOTO et al., 2018.

As bactérias acéticas ou bactérias ácido acéticas (BAA) constituem a comunidade dominante na cultura do Kombucha. Elas são aeróbicas e transformam o álcool em ácido acético, necessitando de grande quantidade de oxigênio para sua atividade e crescimento (JAYABALAN et al., 2014). A produção do biofilme de celulose é feita por bactérias do gênero *Acetobacter*, predominantemente pela espécie *Komagataebacter xylinus* (classificada anteriormente como *Acetobacter xylinum*) (YAMADA et al., 2012), que usam a glicose para produzir a celulose através de vários passos metabólicos. O biofilme celulósico pode variar dependendo das cepas usadas, do tempo de cultura e dos aditivos químicos presentes nos meios de cultura (LEE et al, 2015).

No primeiro estágio da fermentação as bactérias produtoras de celulose aumentam sua população através do consumo de oxigênio dissolvido. Durante esse período, eles sintetizam certa quantidade de celulose no meio líquido e apenas as bactérias que

estão na interface ar/meio podem manter sua atividade e produzir celulose, que é formada por camadas sobrepostas. À medida que o tempo de fermentação avança, a espessura da membrana é aumentada pela geração de novas camadas na superfície, formando uma estrutura suspensa no meio de cultura. O desenvolvimento do biofilme continuará durante toda a fermentação, até atingir seu limite, crescendo para baixo e aprisionando todas as bactérias, que se tornarão inativas devido ao suprimento insuficiente de oxigênio (ESA, TASIRIN, RAHMAN, 2014).

As bactérias que permanecem na fase líquida do meio de cultura estão em estado adormecido e podem ser reativadas e usadas como inóculo em uma fermentação posterior. Existem vários fatores a serem considerados para maximizar o rendimento de celulose microbiana e otimizar o processo, por exemplo, o volume do meio inoculado, o tempo de incubação, a área superficial e as condições de altura da superfície (CACICEDO et al., 2016).

FOLHAS DE CHÁ E AÇÚCAR

Apesar das receitas mais tradicionais de Kombucha usarem o chá preto, atualmente todos os tipos de chás obtidos das folhas de *Camellia sinensis* têm sido usados em seu preparo, como o chá verde, chá branco, chá oolong e o pu-erh-tea (chá preto prensado entre tijolos e fermentado em cavernas subterrâneas). Eles se diferenciam pelo tipo da folha coletada (jovem ou adulta) e pelo processo de seu preparo, como fermentação e secagem. Todos possuem entre seus componentes majoritários a cafeína e vários compostos polifenólicos, tais como epicatequina, epicatequina galato, epigallocatequina, epigallocatequina galato, e teaflavina, que possuem reconhecida atividade biológica antioxidante que é doada ao produto final da fermentação (CHAKRAVORTY et al., 2016; CRUM; LAGORY, 2016). O conteúdo de cafeína, que é necessária para o desenvolvimento da cultura do microrganismo, diminui durante o processo de fermentação em aproximadamente dois terços na primeira semana de fermentação, deixando a bebida final com menos cafeína do que o chá original (CRUM; LAGORY, 2016; RODRIGUES et al., 2018).

No entanto, alguns autores têm estudado outros substratos como uma alternativa para a produção de Kombucha, que conseqüentemente possuirão características biológicas diferentes daquelas produzidas pelos chás tradicionais. Filippis et al (2018) realizaram a caracterização química de chás de hibisco (*Hibiscus sabdariffa*, L.), comparando-o com chá preto e produziram uma bebida com características químicas e qualidade sensorial aceitáveis, mesmo sem a presença de cafeína neste tipo de chá. Rodrigues et al (2018) também estudaram as características físico-químicas do chá de hibisco para preparo de Kombucha e obtiveram um produto menor açedez que a do Kombucha original e com coloração menos intensa que o chá original.

Alguns pesquisadores testaram o uso do chá de

Equinácea (*Echinacea purpurea*, L.) e segurelha da montanha (*Satureja montana*, L.) como fontes alternativas de nitrogênio (ao invés da cafeína), e obtiveram uma redução do tempo de fermentação, e demais características semelhantes ao chá original. Outros autores fermentaram água de coco (*Cocos nucifera* var. aurantiaca) com o SCOBY e observaram algumas propriedades biológicas diferentes (VILLARREAL-SOTO et al., 2018). Aeyd et al (2017) fermentaram um suco de uva com SCOBY e observaram as propriedades funcionais e sensoriais com 6 dias de fermentação. Estas pesquisas nos mostram que a investigação de diferentes substratos para a fermentação do Kombucha se constitui em uma interessante área de pesquisa.

As culturas de SCOBY alimentam-se do açúcar adicionado ao chá, preferindo a glicose à frutose. A concentração de açúcar no produto final pode diferir entre as fermentações, indicando que os caminhos metabólicos de fermentação não ocorreram da mesma forma. As concentrações de etanol aumentam inicialmente até alcançar um valor máximo por volta do dia 7 de fermentação, seguida de uma diminuição após o dia 21. Esta diminuição se deve à utilização do etanol pelas bactérias ácido acéticas BAA que o converterão em ácido acético. Estas bactérias usualmente são dominantes na comunidade bacteriana do Kombucha e guiam o processo fermentativo. O período de maior redução da concentração de açúcar do meio ocorre nos primeiros 7 dias quando a sacarose é hidrolisada em glicose e frutose pelas invertases das leveduras, produzindo etanol e CO₂. Este período é seguido por uma intensa utilização destes açúcares. As bactérias acéticas convertem a glicose em ácido glicurônico e a frutose em ácido acético. Também são produzidos outros ácidos orgânicos como o tartárico, málico, cítrico e vários outros micronutrientes (CHAKRAVORTY et al., 2016; FILIPPIS et al., 2018).

TEMPERATURA E TEMPO DE FERMENTAÇÃO

Filippis et al, (2018) observaram a seleção de diferentes bactérias ácidas e acéticas durante a fermentação do Kombucha em diferentes temperaturas (20 e 30°C). Foram monitoradas as concentrações de ácido glicônico e glicurônico, bem como o total de compostos polifenólicos. Houve significativas diferenças no crescimento da microbiota nas duas temperaturas, com seleção de diferentes espécies, o que conduziu produção de diferentes quantidades de ácido. Esta seleção de populações bacterianas de acordo com a temperatura pode ser útil na otimização da produção de Kombucha em escala industrial e explicar as características distintas dos Kombuchas fermentados em climas diferentes.

O tempo de fermentação produzirá muitas mudanças bioquímicas nos constituintes do chá usado como substrato e afetará o tipo e a quantidade dos princípios ativos, bem como as propriedades do produto final, como ação biológica e digestibilidade

(VILLARREAL-SOTO et al., 2018). No terceiro dia de fermentação é encontrado o ácido lático. Em 12 dias de fermentação ocorre a produção máxima de ácido D-glicônico, considerado o principal agente terapêutico. Após 15 dias de fermentação há um aumento na produção de ácido acético. Tempo de fermentação prolongado não é recomendado, devido à acumulação de ácidos no líquido que pode atingir níveis perigosos para o consumo direto. Este período pode ser controlado para a obtenção do produto final com as características desejadas, desde uma bebida suave, obtida em um período de 6 a 10 dias, até uma bebida com sabor mais avinagrado quando submetida a maior tempo de fermentação (VILLARREAL-SOTO et al., 2018; GREENWALT et al., 2000)

pH

O pH é um dos parâmetros mais importantes que afetam o microambiente fermentativo do Kombucha. Alguns ácidos formados durante o processo, como o ácido acético e o ácido glicônico são responsáveis por algumas das propriedades biológicas e atividades farmacológicas da bebida. O pH também influencia as alterações químicas e estruturais dos compostos fitoquímicos, o que pode alterar a atividade antioxidante e inibir ou estimular o crescimento das comunidades microbianas. O pH não deve estar abaixo de 3 para que a bebida possa ser ingerida sem causar danos para o trato gastrointestinal. O pH ideal para que a bebida tenha uma boa palatabilidade e propriedades biológicas é entre 4,0 e 5,0. O período para obtenção deste pH é dependente principalmente da temperatura ambiente e das condições fermentativas do meio de cultura (VILLARREAL-SOTO et al., 2018)

PREPARAÇÃO DO KOMBUCHA

Durante o preparo do Kombucha devem ser usados vasilhames estéreis (preferencialmente de vidro ou aço inox para não haver interação do ácido formado na fermentação com o material do frasco) para prevenir a contaminação por microrganismos patogênicos transportados pelo ar ou pelos recipientes. As proporções de chá e açúcar utilizados nas preparações variam de acordo com a literatura. O chá (10 a 12 g/L de chá seco) deve ser preparado em água fresca fervente, contendo de 50 a 150 g/L de sacarose (5 a 15%) e deixado em infusão por um período de no máximo 10 minutos. Após este período, deve-se coar as folhas de chá e deixar o líquido esfriar à temperatura ambiente. Então este chá fresco deve ser adicionado a um frasco de vidro, juntamente com a colônia do SCOBY e 10% (100 mL por L) de um chá já fermentado anteriormente, que diminuirá o pH do meio, protegendo-o contra contaminantes. O frasco deve ser coberto com um papel toalha e fixado com elástico ou de outra forma, para proteção de insetos, poeiras e outros contaminantes. O frasco deve ser deixado em local fresco e seco, ao abrigo de muita luz,

por um período de 7 a 10 dias. Se a fermentação continuar por mais tempo, aumentará o conteúdo de ácido em quantidades que podem se tornar impróprias para o consumo. Após este tempo, que é denominado de Fermentação 1 (F1) deve-se remover a colônia do SCOBY e com ela iniciar nova fermentação, estando o líquido pronto para se ingerido desta forma, ou para ser submetido à uma segunda fermentação (F2) (GREENWALT et al., 2000; BRUSCHI et al., 2018).

A F2 vai promover o aprisionamento de gás na bebida, pois é feita em recipiente fechado. Para fazê-la, adiciona-se ao chá fermentado obtido na F1, na proporção de 20 a 25%, pedaços de frutas, sucos de frutas, legumes, ervas aromáticas, raízes, outros chás aromatizantes naturais, dentre outros (CRUM; LAGORY, 2016; MEDEIROS; CECHINEL-ZANCHETT, 2019; SILVA et al., 2020). Esta mistura é colocada em garrafas fechadas (para impedir a saída do gás formado na fermentação) que deverão ser deixadas em repouso à temperatura ambiente por um período que depende da temperatura ambiente (de 03 a 05 dias em média). Após este período, devem ser colocadas em refrigeração e o frasco deve ser aberto somente no momento do consumo. Neste período ocorre a carbonatação da bebida com uma maior produção de dióxido de carbono (CO₂) que a gaseificará. A experimentação e a criatividade são elementos cruciais para o desenvolvimento de novos sabores, pois são possíveis inúmeras combinações (CRUM; LAGORY, 2016).

COMO É CULTIVADO O SCOBY

A cultura do SCOBY se multiplica a cada fermentação, então em pouco tempo tem-se várias culturas que podem ser mantidas estocadas em um ambiente chamado “hotel de SCOBY”. Este é um método de armazenamento e cultivo da cultura a fim de utilizá-la em futuras fermentações, doações, produção de filmes biodegradáveis, procedimentos estéticos, dentre outros (CRUM; LAGORY, 2016; DOMENEGHETTI et al., 2019). Para começar a produção do hotel recomenda-se o uso de frascos ou jarras grandes de vidro. A primeira amostra que pode ser chamada de SCOBY-mãe, dará origem ao SCOBY-filho por meio do processo de fermentação. Estes SCOBYs podem ser mantidos guardados, imersos em chá, caso não sejam usados em outras fermentações. A manutenção do frasco do hotel deve ser realizada, no mínimo uma vez por mês, feita com a adição de mais chá adoçado. O hotel deve ser coberto em condições que permitam a aerobiose e não deve ser congelado ou refrigerado, pois as bactérias ácido acéticas - BAA podem entrar em estado de dormência. Sendo assim, quando reajustadas à temperatura ambiente sua reativação pode ser lenta, tornando-as incapazes de proteger o ambiente, permitindo então o surgimento de bolores. Se a nova camada da superfície ultrapassar 2,5 cm o oxigênio pode ter dificuldade para atingir o líquido inferior, causando estagnação ou morte dos

microrganismos. Para evitar este procedimento, recomenda-se empurrar o Scoby-filho para baixo do líquido ainda com espessura fina, se ele insistir em flutuar o produtor pode retirá-lo, remover o excesso de líquido com papel toalha, cortá-lo ao meio de forma horizontal e retirar os excessos. De dois a seis meses é necessário retirar os fungos que crescem em demasia, evitando o desequilíbrio da simbiose com as BAA (CRUM; LAGORY, 2016).

POTENCIAL TOXIDADE E CUIDADO NO USO

O Kombucha, na maioria dos casos, é uma bebida de preparo caseiro. Devido a este fato, caso não sejam observadas as precauções de higiene durante seu preparo e período de fermentação, existe a possibilidade de contaminação por microrganismos patogênicos (VILLARREAL-SOTO et al., 2018). Há também o risco de formação de produtos tóxicos, caso não sejam seguidas as orientações quanto ao tipo de utensílios que devem ser usados durante o preparo. A literatura relata um caso de envenenamento por chumbo em um casal que há 6 meses tomava o chá preparado em uma panela de cerâmica. Os ácidos da bebida dissolveram o chumbo do pigmento do esmalte do recipiente, causando a intoxicação (JAYABALAN et al., 2014)

Apesar de todos os benefícios do Kombucha, estudos relatam alguns casos isolados, envolvendo poucos indivíduos, onde o chá pode ter apresentado efeito desagradáveis como tonturas, náusea, cefaleia, icterícia e reações alérgicas. Também foi relatado que pessoas com insuficiência renal e sensibilidade a ácidos apresentaram reações alérgicas e desconforto estomacal após o consumo do chá Kombucha (JAYABALAN et al., 2014; WATAWANA et al., 2015). Quatro pessoas relataram efeitos adversos após o consumo de Kombucha, sendo que dois apresentaram sinais alérgicos, o outro icterícia e o último dor de cabeça, náusea e vômito. Todos sintomas foram anulados com a interrupção do uso do chá fermentado (SRINIVASAN et al., 1997).

Vijayaraghavan et al. (2000) estudaram a potencial toxicidade subaguda da ingestão de Kombucha em modelos de ratos por um período de 90 dias, e não encontraram toxicidade. O U.S. Food and Drug Administration realizou testes bioquímicos e microbiológicos com o chá de Kombucha e relatou sua segurança para consumo humano (NUMMER, 2013). No entanto, devido à possibilidade de eventos desagradáveis em algumas pessoas, seu consumo é contraindicado em gestantes e lactantes, pacientes com HIV e pacientes com insuficiência renal (JAYABALAN et al., 2014; WATAWANA et al., 2015)

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Kombucha constitui um dos alimentos fermentados mais conhecidos em todo o mundo, que é ingerido devido às duas propriedades biológicas promotoras da

saúde. No entanto, os benefícios para a saúde ainda carecem de estudos clínicos. A maioria das pesquisas das atividades promotoras da saúde foram realizadas em modelos animais e grande parte do consumo e alegações de propriedades biológicas se baseiam em relatos de casos e de uso etnofarmacológico. Os casos de toxicidade pelo uso do Kombucha são muito escassos e isolados. A toxicidade deve ser avaliada minuciosamente usando procedimentos modernos. Também são necessárias mais pesquisa com foco na cinética de fermentação do Kombucha, relatando especialmente os produtos formados com potencial atividade biológica. São necessárias orientações constantes quanto aos constituintes que devem ser usados no preparo do Kombucha, pois a substituição das folhas de chá preto ou verde (*Camellia sinensis*) por outros tipos de chá, que é uma tendência atual, não garante as atividades biológicas já conhecidas deste tipo de fermentação, podendo apresentar atividades diversas. O SCOBY é um excelente exemplo de biofilme que pode ser usado como uma alternativa à celulose tradicional em várias aplicações, devendo ser incentivados estudos no campo de desenvolvimento de biomateriais. Mais pesquisas científicas devem ser feitas para entender os vínculos entre a fermentação e a atividade funcional com evidências das vantagens e desvantagens de seu consumo. Há vários parâmetros e variações a serem medidos, controlados, experimentados e compreendidos para determinação das condições ideais de fermentação, para que o consumo de Kombucha como alimento funcional saudável tenha credibilidade e seja usado com segurança por seus consumidores.

5. AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos e reconhecimento vão para a Sra Rose Maia, que sem me conhecer pessoalmente, me introduziu no fascinante mundo do Kombucha através de seu trabalho informativo nas redes sociais, onde fornece aos principiantes na arte da fermentação, orientações amparadas em sua experiência de mais de vinte anos de cultivo de Kombucha. Minha eterna gratidão.

Yara Lúcia Marques Maia

6. REFERÊNCIAS

- [1] ALOULOU, A., HAMDEN, K., ELLOUMI, D., et al. Hypoglycemic and antilipidemic properties of kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 12, n. 63, p. 1–9. Mai 2012. Disponível em: <http://bit.ly/2wWps3t>
- [2] AMARASINGHE, H., NIMSHA, S.W., VIDURANGA, Y.W. Evaluation of physicochemical properties and antioxidant activities of kombucha “Tea Fungus” during extended periods of fermentation. **Food Science & Nutrition**, v. 6, n. 1, p. 659–665. Fev 2018. Disponível em: <http://bit.ly/2vRNe0x>

- [3] AYED, L., BEN ABID, S., HAMDI, M. Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. *Annals of Microbiology*, v. 67, p. 111–121. Nov 2017. Disponível em: <http://bit.ly/2w1LAtk>
- [4] BHATTACHARYA, S., GACHHUI, R., SIL, P.C. Hepatoprotective properties of kombucha tea against TBHP-induced oxidative stress via suppression of mitochondria dependent apoptosis. *Pathophysiology*, v. 18, n. 3, p. 221–234. Jun 2011. Disponível em: <http://bit.ly/2IGf9Dp>
- [5] BRUSCHI, J.S., SOUSA, R.C.S., MODESTO, K.R. O ressurgimento do chá de kombucha. *Revista de Iniciação Científica e Extensão - REIcEn*, v. 1, n. Esp., p. 162–168. Jul 2018. Disponível em: <http://bit.ly/2vdFTIe>
- [6] CACICEDO, M.L., CASTRO, M.C., SERVETAS, I., BOSNEA, L., BOURA, K., TSAFRAKIDOU, P., CASTRO, G.R. Progress in bacterial cellulose matrices for biotechnological applications. *Bioresource Technology*, v. 213, p. 172–180. Ago 2016. Disponível em: <http://bit.ly/33cLnQ8>
- [7] CAVALARI, T. G., SANCHES, R. Os efeitos da vitamina c. *Revista saúde em foco*, p. 749–765. 2018. Disponível em: <http://bit.ly/2xDisV7>
- [8] CHAKRAVORTY, S., BHATTACHARYA, S., CHATZINOTAS, A., WRITACHIT, C., BHATTACHARYA, D., GACCHUI, R. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, v. 220, p. 63–72. Mar 2016. Disponível em: <http://bit.ly/2VZO1Hy>
- [9] CRUM, H., LAGORY, A. **The big book of kombucha: brewing, flavoring, and enjoying the health benefits of fermented tea**. 1ª ed. North Adams: Storey publishing; 2016.
- [10] DOMENEGHETTI, P. A., SOARES, M., SCHMIDT, V. C. Caracterização de scoby do kombucha para a produção de biofilmes. *Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica*. Ago 2019. Disponível em: <http://bit.ly/2IJRCRY>
- [11] DUFRESNE, C., FARNWORTH, E. Tea, Kombucha, and health : a review. *Food Resersearch International*, v. 33, n. 2000, p. 409–421. Jul 2000. Disponível em: <http://bit.ly/2xtpAb2>
- [12] ESA, F., TASIRIN, S.M., RAHMAN, N.A. Overview of bacterial cellulose production and application. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, v. 2, n. 2014, p. 113-119. Dez 2014. Disponível em: <http://bit.ly/2vkVaXW>
- [13] FILIPPIS, F., TROISE, A.D., VITAGLIONE, P., ERCOLINI, D. Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during Kombucha tea fermentation. *Food Microbiology*, v. 73, n. 2018, p. 11–16. Ago 2018. Disponível em: <http://bit.ly/3cSZsqd>
- [14] GREENWALT, C.J., STEINKRAUS, K.H., LEDFORD, R.A. Kombucha, the fermented tea: Microbiology, composition, and claimed health effects. *Journal of Food Protection*, v. 63, n. 7, p. 976–981. Jul 2000. Disponível em: <http://bit.ly/33fzSaR>
- [15] HARBOWY, M., BALENTINE, D., DAVIES, A., CAI, Y. Tea Chemistry. *Critical Reviews in Plant Sciences*, v. 16, n. 5, p. 415–480. Set 2010. Disponível em: <http://bit.ly/2TNQxiA>
- [16] HRNJEZ, D., VAŠTAG, Ž., MILANOVIĆ, S., VUKIĆ, V., ILIĆIĆ, M., POPOVIĆ, L.J., KANURIĆ, K. The biological activity of fermented dairy products obtained by kombucha and conventional starter cultures during storage. *Journal of Functional Foods*, v. 10, n. 1, p. 336–345. Set 2014. Disponível em: <http://bit.ly/2w1rMWZ>
- [17] JAYABALAN, R., MALBAŠA, R.V., LONČAR, E.S., VITAS, J.S., SATHISHKUMAR, M. A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 13, n. 4, p. 538–550. Jun 2014. Disponível em: <http://bit.ly/2v612W7>
- [18] JAYABALAN, R., MALINI, K., SATHISHKUMAR, M., SWAMINATHAN, K., YUN, S. Biochemical characteristics of tea fungus produced during kombucha fermentation. *Food Science and Biotechnology*, v. 19, n. 3, p. 843–847. Jun 2010. Disponível em: <http://bit.ly/2W8KBCn>
- [19] KALLEL, L., DESSEAUX, V., HAMDI, M., STOCKER, P., AJANDOUZ, H. Insights into the fermentation biochemistry of Kombucha teas and potential impacts of Kombucha drinking on starch digestion. *Food Research International*, v. 49, n. 1, p. 226–232. Nov 2012. Disponível em: <http://bit.ly/3ARPe7W>
- [20] LEE, C.M, GU, J., KAFLE, K., CATCHMARK, J., KIM, S. H. Cellulose produced by *Gluconacetobacter xylinus* strains ATCC 53524 and ATCC 23768: Pellicle formation, post-synthesis aggregation and fiber density. *Carbohydrate Polymers*, v. 111, n. 20, p. 270-276. Nov 2015. Disponível em: <http://bit.ly/2TODrBH>
- [21] MALBAŠA, R., LONČAR, E., VITAS, J., ČANADANOVIĆ-BRUNET, J. Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. *Food Chemistry*, v. 127, n. 4, p. 1727–1731. Ago 2011. Disponível em: <http://bit.ly/3aOhc4m>
- [22] MARSH, A., O’SULLIVAN, O., HILL, C.; ROSS, R.P., COTTER, P.D. Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiology*, v. 38, p. 171–178. Ago 2014. Disponível em: <http://bit.ly/33f6rFI>
- [23] MEDEIROS, S.C.G., CECHINEL-ZANCHETT, C.C. Kombucha: Efeitos in Vitro E in Vivo. *Infarma - Ciências Farmacêuticas*, v. 31, n. 2, p. 73–79. Out 2019. Disponível em: <http://bit.ly/335VR3M>
- [24] NGUYEN, N.K., NGUYEN, P.B., NGUYEN, H.T., LE,

- P.H. Screening the optimal ratio of symbiosis between isolated yeast and acetic acid bacteria strain from traditional kombucha for high-level production of glucuronic acid. **Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 1149–1155. Dez 2015. Disponível em: <http://bit.ly/2vlulTw>
- [25] NUMMER, B.A. Kombucha brewing under the food and drug administration model food code: Risk analysis and processing guidance abstract. **Journal of Environmental Health**, v. 76, n. 4, p. 8–12. Nov 2013. Disponível em: <http://bit.ly/2IEe5jz>
- [26] RAY, C., JOSHI, V. Fermented Foods: Past, Present and Future. **Research Gate**, v. 1, n. 1, p. 1–37. 2014. Disponível em: <http://bit.ly/33c2aCS>
- [27] REVA, O.N., ZAETS, I.E., OVCHARENKO, L.P., KUKHARENKO, O.E., SHPYLOVA, S.P., PODOLICH, O.V., KOZYROVSKA, N.O. Metabarcoding of the kombucha microbial community grown in different microenvironments. **AMB Express**, v. 5, n. 35, p. 1–8. Jun 2015. Disponível em: <http://bit.ly/2U3N0v8>
- [28] RODRIGUES, R.S., MACHADO, M.R.G., BARBOZA, Gay.G.R., SOARES, L.S., HERBELE, T., LEIVAS, Y.M. Características físicas e químicas de Kombucha à base de chá de hibisco (*Hibiscus sabdariffa*, L.). **6º Simpósio de Segurança Alimentar**. Mai 2018. Disponível em: <http://bit.ly/33dXJYc>
- [29] RUBERT, A., ENGEL, B., ROHLFES, A., MARQUARDT, L., BACCAR, N. Vitaminas do complexo B: uma breve revisão. **Revista Jovens Pesquisadores**, v. 7, n. 1, p. 30–45. Jan 2017. Disponível em: <http://bit.ly/38Nh5EP>
- [30] SILVA, D., SBRAVATI, S., SEHNEM, N. Kombucha da serra – desenvolvimento de um novo sabor da bebida probiótica. **VII Congresso de Pesquisa e Extensão da FSG**, v. 7, n. 7, p. 852–854. Fev 2020. Disponível em: <http://bit.ly/2wM6Jre>
- [31] SREERAMULU, G., ZHU, Y., KNOL, W. Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. **J Agric Food Chem.**, v. 48, n. 6, p. 2589–2594. Jun 2000. Disponível em: <http://bit.ly/39MTSUA>
- [32] SRINIVASAN, R., SMOLINSKE, S., GREENBAUM, D. Probable gastrointestinal toxicity of Kombucha tea: Is this beverage healthy or harmful? **Journal of General Internal Medicine**, v. 12, n. 10, p. 643–644. Out 1997. Disponível em: <http://bit.ly/2IJZqmK>
- [33] SUN, T.Y., LI, J.S., CHEN, C. Efeitos da mistura de suco de grama de trigo sobre o aumento de compostos fenólicos e atividades antioxidantes da bebida tradicional de kombucha. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 23, n. 4, p. 709–718. Dez 2015. Disponível em: <http://bit.ly/2TIWDka>
- [34] VÁZQUEZ-CABRAL, B., LARROSA-PÉREZ, M., GALLEGOS-INFANTE, J.A., MORENO-JIMÉNEZ, M.R., GONZÁLEZ-LAREDO, R.F., RUTIAGA-QUIÑONES, J.G., GAMBOA-GÓMEZ, C.I., ROCHA-GUZMÁN, N.E. Oak kombucha protects against oxidative stress and inflammatory processes. **Chemico-biological interactions**, v. 272, p. 1–9. Jun 2017. Disponível em: <http://bit.ly/38NL0N7>
- [35] VIJAYARAGHAVAN, R., SINGH, M., RAO, P.V.L., BHATTACHARYA, R., KUMAR, P., SUGENDRAN, K., KUMAR, O., PANT, S.C., SINGH, R. Subacute (90 days) oral toxicity studies of kombucha tea. **Biomedical and Environmental Sciences**, v. 13, p. 293–299. Nov 2000. Disponível em: <http://bit.ly/2w5E4xB>
- [36] VIJAYARAGHAVAN, R., SINGH, M., RAO, P.V.L., BHATTACHARYA, R., KUMAR, P., SUGENDRAN, K., KUMAR, O., PANT, S.C., SINGH, R. Subacute (90 days) oral toxicity studies of kombucha tea. **Biomedical and Environmental Sciences**, v. 13, p. 293–299. Nov 2000. Disponível em: <http://bit.ly/2w5E4xB>
- [37] VILLARREAL-SOTO, S.A., BEAUFORT, S., BOUJILA, J., SOUCHARD, J.P., TAILLANDIER, P. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 3, p. 580–588. Mar 2018. Disponível em: <http://bit.ly/2w5iO16>
- [38] WANG, Y., JI, B., WU, W., WANG, R., YANG, Z., ZHANG, D., TIAN, W. Hepatoprotective effects of kombucha tea: Identification of functional strains and quantification of functional components. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 2, p. 265–272. Jan 2014. Disponível em: <http://bit.ly/33fd7Ur>
- [39] WATAWANA, M.I., JAYAWARDENA, N., GUNAWARDHANA, C.B., WAISUNDARA, V.Y. Health, Wellness, and Safety Aspects of the Consumption of Kombucha. **Journal of Chemistry**, v. 2015, n. 1, p. 1–11. Dez 2015. Disponível em: <http://bit.ly/2wKfgWY>
- [40] WOLFE, B. E., DUTTON, R. J. Fermented foods as experimentally tractable microbial ecosystems. **Cell**, v. 161, n. 1, p. 49–55. Mar 2015. Disponível em: <http://bit.ly/2IHgB8v>
- [41] YAMADA, Y., YUKPHAN, P., VU, H.T. Description of *Komagatacibacter* gen. nov., with proposals of new combinations (Acetobacteraceae). **Journal of General and Applied Microbiology**, v. 58, n. 5, p. 397–404. Nov 2012. Disponível em: <http://bit.ly/38KmuNO>
- [42] YANG, Z., JI, B., ZHOU, F., LI, B., LOU, U., LI, T. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of kombucha tea in high-cholesterol fed mice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 1, p. 150–156. Jan 2008. Disponível em: <http://bit.ly/2wQjnpI>
- [43] ZUBAIDAH, E., APRIYADI, T.E., KALSUM, U., WIDYASTUTI, E., ESTIASIH, T., SRIANTA, I., BLANC, P.J. In vivo evaluation of snake fruit Kombucha as hyperglycemia therapeutic agent. **International Food Research Journal**, v. 25, n. 1, p. 453–457. Fev 2018. Disponível em: <http://bit.ly/2xAtD5B>