



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

CAROLINE CERQUEIRA ARAUJO MAGALHÃES

**PRODUÇÃO DE KOMBUCHA UTILIZANDO MARACUJÁ-
DO-MATO (*Passiflora cincinnata* Mast.)**

Feira de Santana, BA

2024

CAROLINE CERQUEIRA ARAUJO MAGALHÃES

**PRODUÇÃO DE KOMBUCHA UTILIZANDO MARACUJÁ-
DO-MATO (*Passiflora cincinnata* Mast.)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da Universidade Estadual de Feira de Santana como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Giovani Brandão Mafra de Carvalho

Feira de Santana, BA

2024

Ficha Catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteado - UEFS

M165e

Magalhães, Caroline Cerqueira Araújo

Produção de kombucha utilizando maracujá-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.) / Caroline Cerqueira Araújo Magalhães. – 2024

105 p.: il.

Orientador: Giovani Brandão Mafra de Carvalho.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Feira de Santana,
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Feira de Santana, 2024.

1. Kombucha. 2. Fermentação. 3. Microindústria - análise de viabilidade econômica. I. Título. II. Carvalho, Giovani Brandão Mafra de, orient.
III. Universidade Estadual de Feira de Santana.

CDU 663.12

CAROLINE CERQUEIRA ARAÚJO MAGALHÃES

“Produção de kombucha utilizando maracujá do mato (*passiflora cincinnata* mast.)”,

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana, área de concentração em Biotecnologia com ênfase em Recursos Naturais da Região Nordeste, como requisito para obtenção do grau de doutor, tendo sido aprovada pelos membros signatários abaixo.

Feira de Santana, Bahia, 27 de março de 2024.



Dr. Giovani Brandão Mafra de Carvalho
Orientador e Presidente da Banca

Universidade Estadual de Feira de Santana



Dr.ª. Rita de Cássia Lacerda Brambilla
Universidade de São Paulo



Dr. Vanildo Luiz del Bianchi
Universidade Estadual Paulista



Dr. Gervásio Paulo da Silva
Universidade do Estado da Bahia



Dra. Sarah Patrícia de Oliveira Rios

Universidade Estadual de Feira de Santana

Dedico este trabalho a Deus e a toda a minha família.

AGRADECIMENTOS

Ao nosso Deus por todo cuidado e toda capacitação durante esse período. A Ele toda a honra e a glória.

Ao meu esposo, Danilo, por todo cuidado, carinho e compreensão. Pela ajuda nos momentos em que precisei me ausentar, sendo o suporte para os nossos filhos. Obrigada por sempre acreditar em mim e me apoiar.

Aos meus filhos, Ivan e Clara, por entenderem que a mamãe precisava se ausentar por alguns momentos para estudar. Vocês são meus tesouros.

Aos meus pais, Paulo e Maria José, e ao meu irmão, Leonardo, por sempre me apoiarem e terem orgulho de mim. Por serem meu alicerce e exemplo. Por cuidarem dos meus filhos nos momentos em que precisei ir à UEFS.

À Geiza, que sempre esteve disposta a me auxiliar nas metodologias das análises, você é um presente que a UEFS me concedeu.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Giovani Mafra de Carvalho, por sua empatia, seu apoio, sua orientação e seus ensinamentos. Você é um grande pesquisador.

Ao Prof. Dr. José Ailton Conceição Bispo, por sua disponibilidade e ajuda na realização de algumas etapas desse trabalho.

À Profa. Raquel Guimarães Benevides, por disponibilizar o seu laboratório para os experimentos.

A Abner, Paulo e Denise, proprietários da kombucha Unaqui, que abriram a sua fábrica com o maior carinho para me orientarem na produção das kombuchas.

Ao programa de Pós-graduação em Biotecnologia (PPGBiotec) – UEFS, pela grandiosa oportunidade da realização do doutorado.

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

“Porque dEle, e por Ele, e para Ele, são todas as coisas; glória, pois, a Ele eternamente.”

Romanos 11:36

RESUMO

A kombucha é uma bebida fermentada com sabor adocicado, ligeiramente ácido e levemente gaseificado. É produzida através da fermentação de chá preto ou chá verde açucarado pela associação com uma cultura simbiótica de bactérias acéticas e leveduras, denominada SCOBY. É um alimento que está ganhando popularidade mundialmente devido ao seu potencial em exercer efeitos benéficos à saúde humana. O presente trabalho teve o objetivo de produzir uma kombucha utilizando o chá preto, o açúcar cristal e demerara como substrato e saborizar a bebida com maracujá-do-mato, além de monitorar o processo fermentativo através das análises físico-químicas e realizar um estudo da viabilidade econômica do processo de fabricação da kombucha. Um modelo para a cinética da fermentação foi desenvolvido utilizando o software Biolab. As kombuchas saborizadas com maracujá do mato e adoçadas com açúcar cristal e demerara exibiram os maiores níveis de compostos fenólicos, alcançando, respectivamente, 919,4 µgEAG/mL e 853,73 µgEAG/mL. O uso de maracujá do mato na saborização resultou em um aumento significativo da produção de flavonoides, das variantes adoçadas com açúcar cristal e demerara apresentando concentrações de 13,80 µg de quercetina por mL e 14,10 µg de quercetina por mL, respectivamente. Adicionalmente, as kombuchas adoçadas tanto com açúcar cristal quanto demerara, quando combinadas com maracujá do mato, mostraram atividade bactericida efetiva contra *Salmonella sp.* (CCMB281), *Escherichia coli* (CCMB261) e *Staphylococcus aureus* (CCMB263). Foi evidenciado que o maracujá do mato potencializa o efeito antioxidante da kombucha, promovendo um aumento nos níveis de compostos fenólicos e flavonoides. A análise de viabilidade econômica para o estabelecimento de uma microindústria especializada na produção de kombucha saborizada com maracujá do mato indicou que o projeto de investimento apresenta viabilidade econômica, com um TIR de 18% e um VPL de R\$ 17.282,30.

PALAVRAS-CHAVE: kombucha; maracujá-do-mato; fermentação; microindústria.

ABSTRACT

Kombucha is a fermented beverage with a sweet, slightly acidic, and slightly carbonated flavor. It is produced through the fermentation of black tea or sugary green tea by association with a symbiotic culture of acetic bacteria and yeast, called SCOBY. It is a food that is gaining popularity worldwide due to its potential to exert beneficial effects on human health. The objective of this work was to produce a kombucha using black tea, crystal sugar and demerara as substrate and flavor the drink with passion fruit, in addition to monitoring the fermentation process through physicochemical analysis and conducting a study of the economic feasibility of the kombucha manufacturing process. A model for fermentation kinetics was developed using Biolab software. Kombuchas flavored with passion fruit and sweetened with crystal sugar and demerara exhibited the highest levels of phenolic compounds, reaching, respectively, 919,4 µgEAG/mL and 853,73 µgEAG/mL. The use of passion fruit in the flavoring resulted in a significant increase in the production of flavonoids, of the variants sweetened with crystal sugar and demerara with concentrations of 13,80 µg of quercetin per mL and 14,10 µg of quercetin per mL, respectively. Additionally, kombuchas sweetened with both crystal and demerara sugar, when combined with passion fruit, showed effective bactericidal activity against *Salmonella* sp. (CCMB281), *Escherichia coli* (CCMB261) and *Staphylococcus aureus* (CCMB263). It has been shown that passion fruit potentiates the antioxidant effect of kombucha, promoting an increase in the levels of phenolic compounds and flavonoids. The economic feasibility analysis for the establishment of a micro-industry specialized in the production of kombucha flavored with passion fruit indicated that the investment project is economically viable, with an IRR of 18% and an NPV of R\$ 17,282.30.

KEYWORDS: kombucha; wild passion fruit; fermentation; microindustry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Flor (A) e fruto (B) do maracujá-do-mato.....	28
Figura 2 - Cultura simbiótica (SCOBY).....	35
Figura 3 - Fruto do maracujá-do-mato.....	35
Figura 4 - Fluxograma do processamento para obtenção da polpa do maracujá-do-mato..	36
Figura 5 - Fermentação do chá preto com açúcar para obtenção da kombucha.....	37
Figura 6 - Kombucha saborizada com maracujá-do-mato.....	37
Figura 7 - Página inicial do Software Biolab.....	44
Figura 8 - pH das kombuchas durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).....	50
Figura 9 - Teor de sólidos solúveis durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).....	52
Figura 10 - Concentração de açúcares redutores (g/L) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).....	54
Figura 11 - Concentração de flavonoides durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1)..	55
Figura 12 - Perfil da concentração de biomassa (C_M) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).....	67
Figura 13 - Concentração de compostos fenólicos (C_{P1}) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr	

1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).....68

Figura 14 - Concentração de flavonoides (V_{P2}) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).....69

Figura 15 - Perfil da concentração de íons H^+ (C_{H+}) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).....70

Figura 16 - Concentração de substrato (C_S) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1)..71

Figura 17 - Velocidade de formação da biomassa (V_M) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).....72

Figura 18 - Velocidade de formação dos compostos fenólicos (V_{P1}) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).....73

Figura 19 - Velocidade de formação dos flavonoides (V_{P2}) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).....74

Figura 20 - Velocidade de formação de íons H^+ (V_{H+}) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).....74

Figura 21 - Velocidade de consumo do substrato (V_S) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1),

kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).....	75
Figura 22 - Produtividade de biomassa (P_M), de compostos fenólicos (P_{P1}), de flavonoides (P_{P2}), de íons H^+ (P_{H+}) e do substrato (P_S) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1)..	76
Figura 23 - Velocidade específica de formação da biomassa (μ_M) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).....	77
Figura 24 - Velocidade específica de formação dos compostos fenólicos (μ_{P1}) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).....	78
Figura 25 - Velocidade específica de formação dos flavonoides (μ_{P2}) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).....	79
Figura 26 - Velocidade específica de formação dos íons H^+ (μ_{H+}) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).....	80
Figura 27 - Velocidade específica de consumo do substrato (μ_S) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).....	81

LISTA DE TABELAS

Tabela1 - Caracterização físico-química da polpa <i>in natura</i> do maracujá-do-mato.....	47
Tabela 2 - pH ao final da fermentação das kombuchas.....	50
Tabela 3 - Sólidos solúveis totais (°Brix) ao final da fermentação das amostras de kombucha, t = 360 h.....	53
Tabela 4 - Concentração de compostos fenólicos totais (µg equivalente de ácido gálico/mL de kombucha.....	56
Tabela 5 - DPPH (IC 50 µg.mL ⁻¹) da fermentação das amostras de kombuchas nos tempos 0h, 96h e 360h.....	58
Tabela 6 - Atividade antimicrobiana, pelo teste difusão em poço, da kombucha.....	59
Tabela 7 - Concentrações inibitórias mínimas e concentrações bactericidas mínimas da kombucha com açúcar cristal, demerara e maracujá-do-mato.....	61
Tabela 8 - Valores dos ajustes calculados pelo programa Biolab.....	82
Tabela 9 - Itens de investimento inicial para início da produção de bebida fermentada kombucha com maracujá-do-mato.....	82
Tabela 10 - Custo fixo mensal com funcionários.....	83
Tabela 11 - Despesas fixas mensais.....	84
Tabela 12 - Custo direto variável relacionado à produção mensal de kombucha com maracujá-do-mato.....	85
Tabela 13 - Outros Custos variáveis.....	86
Tabela 14 - Formação de preço.....	86
Tabela 15 - Fluxo de caixa para uma microindústria de kombucha com maracujá-do-mato.....	87
Tabela 16 - Indicadores de viabilidade econômica de uma microindústria de kombucha com maracujá-do-mato.....	88

LISTA DE SIGLAS

A - Absorbância

C. sinensis - *Camellia sinensis*

CLSI - Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais

CIM - Concentração inibitória mínima

CBM - Concentração bactericida mínima

C_M - Concentração de biomassa

Cr 0 - Kombucha com açúcar cristal sem maracujá-do-mato

Cr 1 - Kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato

Dm 0 - Kombucha com açúcar demerara sem maracujá-do-mato

Dm 1 - Kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato

Eq. - Equação

PIQ - Padrões de Identidade e Qualidade

P1- Compostos fenólicos

P2 - Flavonoides

m - Coeficiente de manutenção

M_0 - Meio de cultura inicial do SCOBY

TIR - Taxa interna de retorno

VPL - Valor presente líquido

EAG - Equivalente de ácido gálico

SCOBY - *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*

SST - Teor de sólidos solúveis totais

TACO -Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

w_M - Coeficiente estequiométrico da biomassa

$Y_{H+/s}$ - Fatores de conversão dos íons H^+

$Y_{M/s}$ - Fator de conversão de biomassa

$Y_{P1/s}$ - Fatores de conversão dos compostos fenólicos

$Y_{P2/s}$ - Fator de conversão dos flavonoides

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVO	19
2.1 OBJETIVO GERAL	19
2.2. Objetivos Específicos	19
3. JUSTIFICATIVAS	19
4. REVISÃO DE LITERATURA	20
4.1. História da kombucha	20
4.2. Preparação da kombucha	21
4.3. Composição Química da kombucha	22
4.4. Matérias-primas	23
4.4.1. Chá	23
4.4.2. Açúcar	24
4.4.3. SCOBY	25
4.4.4. Maracujá	26
4.5. Atividades biológicas da kombucha	28
4.5.1. Atividade antioxidante	29
4.5.2. Atividade hepatoprotetora	30
4.5.3. Atividade antimicrobiana	31
4.5.4. Atividade anticancerígena	32
4.6. Viabilidade econômica	32
5. MATERIAL E MÉTODOS	32
5.1. Matéria-prima utilizada para a preparação da kombucha	33
5.1.1. Chá preto	33
5.1.2. Água	33
5.1.3. Açúcar	33
5.1.4. SCOBY	33
5.1.5. Maracujá-do-mato	34
5.2. Fermentação do chá preto	35
5.3. Análises físico-químicas	37

5.3.1. Determinação do pH.....	37
5.3.2. Determinação do teor de sólidos solúveis totais	37
5.3.3. Determinação de açúcares redutores	37
5.3.4 Determinação de açúcares totais	37
5.3.5. Determinação de compostos fenólicos	38
5.3.6. Determinação acidez total titulável	38
5.3.7. Avaliação da atividade antioxidante da kombucha	39
5.3.8. Determinação de Flavonoides	39
5.3.9. Umidade	40
5.3.10. Cinzas	40
5.3.11. Determinação de Proteínas.....	40
5.3.12. Determinação de Vitamina C	40
5.4. Análise da atividade antimicrobiana	41
5.4.1. Padronização dos microrganismos	41
5.4.2. Teste de susceptibilidade de difusão em disco	41
5.4.3. Teste de susceptibilidade de difusão em poço	42
5.4.4. Concentração inibitória mínima (CIM)	42
5.4.5. Concentração Bactericida Mínima (CBM)	42
5.5. Análise cinética do processo fermentativo da kombucha	43
5.6. Tratamento estatístico	44
5.7. Viabilidade Econômica.....	44
5.7.1. Cálculo de VLP, TIR e <i>Payback</i>	44
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
6.1. Caracterização físico-química da polpa de maracujá-do-mato	46
6.2. Caracterização físico-química das kombuchas com açúcar cristal e demerara	48
6.3. Análise da atividade antibacteriana	57
6.4. Avaliação do processo cinético da produção das kombuchas	62
6.5. Análise da Viabilidade Econômica	81
6.5.1. Investimento Inicial.....	81
6.5.2. Custos fixos	82

6.5.3. Custos Variáveis.....	83
6.5.3.1. Custos de produção	83
6.5.3.2. Outros custos variáveis.....	84
6.5.4. Precificação	85
6.5.5. Lucro Líquido.....	86
CONCLUSÃO.....	87
REFERÊNCIAS.....	89

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o aumento de doenças crônicas tem levado consumidores a procurarem um estilo de vida mais saudável, através do consumo de alimentos que apresentem benefícios à saúde, como os alimentos funcionais e os nutracêuticos, que trazem benefícios metabólicos e/ou fisiológicos à saúde. Muitos consumidores passaram, então, a priorizar não apenas o aspecto sensorial de um produto, mas também os benefícios que estes podem trazer à sua dieta e rotina. Os alimentos funcionais afetam benéficamente as funções do organismo, garantindo efeitos nutricionais adequados, bem como levando a uma melhora do estado geral de saúde e à redução de doenças.

Dentro do segmento de alimentos funcionais, um alimento que vem ganhando cada vez mais espaço e está dentro das tendências atuais de mercado é a kombucha. Essa bebida está sendo consumida em todo o mundo devido às suas propriedades refrescantes e benéficas para a saúde humana.

A kombucha é uma bebida fermentada de origem asiática, levemente ácida e doce. É resultante da fermentação de chá verde ou preto adoçado, por uma associação simbiótica de bactérias (prioritariamente produtoras de ácido acético) e leveduras, denominada SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*), à temperatura ambiente. O chá preto e o chá verde são produzidos a partir da folha de *Camellia sinensis*; ambos apresentam uma alta concentração de cafeína, que será utilizada como substrato pelos microrganismos.

A fermentação, um dos processos biotecnológicos mais ancestrais, serve não apenas como uma técnica de conservação eficiente, que prolonga a vida útil dos alimentos com um mínimo consumo de energia e reduz a dependência da refrigeração, mas também é valorizada na atualidade. Isso se deve às propriedades nutricionais e organolépticas dos alimentos fermentados, que são altamente benéficas para a saúde humana.

O maracujá (*Passiflora cincinnata* Mast.) é um fruto silvestre, nativo do semiárido nordestino, popularmente conhecido no Brasil como maracujá-do-mato. Estão presentes na sua composição diversos componentes funcionais como vitaminas, fibras, cálcio, fósforo, ferro, ácidos graxos e polifenóis. Essas espécies são utilizadas no consumo direto (fruta fresca) ou como matéria-prima na indústria de alimentos (geleia, doces, bebidas, óleos), na indústria farmacêutica e na indústria química (aromas e perfumes). A combinação de sabor, aroma e benefícios para a saúde torna o maracujá-do-mato uma ótima opção de saborização para a kombucha e outros alimentos.

Observando o aumento da popularidade dessa bebida fermentada, o objetivo do trabalho foi produzir kombuchas preparadas a partir do chá preto e saborizadas com maracujá-do-mato, adoçadas com açúcar cristal e demerara, bem como determinar suas características físico-químicas e avaliar a viabilidade econômica para abertura de uma microindústria produtora de kombucha saborizada com maracujá do mato.

2. OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma bebida kombucha inovadora utilizando chá preto e maracujá do mato (*Passiflora cincinnata* Mast.), com adoçantes naturais (cristal e demerara), visando explorar benefícios nutricionais e organolépticos, e avaliar a viabilidade econômica da produção em microindústrias.

2.2. Objetivos Específicos

- a) Explorar o uso do maracujá do mato como agente saborizante para kombucha, procurando intensificar as propriedades antioxidantes e nutricionais da bebida.
- b) Avaliar o impacto dos diferentes tipos de açúcar (cristal e demerara), no teor de compostos bioativos, e na atividade antimicrobiana da kombucha.
- c) Avaliar a cinética fermentativa da kombucha, identificando parâmetros ótimos para a produção de compostos bioativos.
- d) Realizar uma análise detalhada da viabilidade econômica para a produção de kombucha saborizada com maracujá do mato, considerando custos de produção, preço de venda e retorno sobre investimento.

3. JUSTIFICATIVAS

A kombucha tem se tornado cada vez mais popular entre os consumidores que procuram um estilo de vida mais saudável e buscam por alimentos que apresentem benefícios à saúde e possam ser acrescentados à dieta. O maracujá-do-mato foi avaliado quanto ao seu potencial para saborizar a kombucha, pois é um alimento que ajuda na prevenção e recuperação de doenças, podendo ser utilizado também como suprimento de vitamina C. A utilização do maracujá-do-mato na produção da kombucha poderá ser uma

alternativa promissora para os consumidores que buscam alimentos funcionais que tragam benefícios à sua saúde física e mental.

4. REVISÃO DE LITERATURA

A kombucha é uma bebida fermentada obtida através da infusão das folhas de *Camellia sinensis* e açúcares, por cultura simbiótica de leveduras e bactérias microbiologicamente ativas (SCOBY), que serão responsáveis pelo processo fermentativo.

Para a produção da kombucha, é utilizado o chá preto ou o chá verde, sendo o primeiro tradicionalmente mais usado. Ela consiste em uma bebida agridoce, refrescante e ligeiramente carbonatada (Macedo *et al.*, 2020). A fermentação dura em torno de 7–12 dias; se for muito prolongada, a kombucha adquire um sabor avinagrado intenso. Os aspectos sensoriais da kombucha dependem das bactérias e leveduras presentes no SCOBY, do tipo de chá base e de açúcar, da temperatura, que pode variar entre 22 a 30°C, e do tempo de fermentação (Paludo, 2017). O tipo de chá e a quantidade também influenciam as características sensoriais e físico-químicas do produto final (Silva *et al.*, 2021).

4.1. História da kombucha

A kombucha surgiu no nordeste da China, na Manchúria, durante a dinastia Qin, e foi valorizada devido às suas propriedades energizantes e desintoxicantes. O imperador Qin Shi Huangdi acreditava ter encontrado o chá da imortalidade (Young, 2019). Os primeiros registros são de 220 a.C. O médico Kombu, em 414 d.C., levou a kombucha da Coreia para o Japão, a fim de curar os problemas digestórios do imperador Inkyo (Kapp e Sumner, 2019). Surgiu, a partir daí, o nome “Kombucha” ou “chá do kombu”, em homenagem ao médico coreano Kombu.

A bebida tornou-se conhecida entre os samurais, que começaram a utilizá-la antes das batalhas para aumentar sua energia e sua força (Young, 2019). Com a expansão das rotas comerciais, a kombucha, durante a Primeira Guerra Mundial, foi da Rússia para outras áreas do leste europeu, como Alemanha e Dinamarca, no início do século XX. Na Segunda Guerra Mundial, essa bebida foi reintroduzida na Alemanha e, por volta de 1950, chegou à França, à Itália e à Espanha. O hábito de beber kombucha, então, tornou-se bastante popular (Ofori *et al.*, 2015).

Devido à escassez generalizada durante a Segunda Guerra Mundial e ao racionamento das provisões utilizadas para fazer o chá, como as folhas e o açúcar, o consumo da kombucha diminuiu. Na década de 1960, pesquisadores suíços relataram que o consumo da kombucha era tão benéfico quanto o do iogurte; assim, aumentou a popularidade dessa bebida (Jayabalan *et al.*, 2016).

Atualmente, a kombucha vem sendo amplamente divulgada no mercado mundial de bebidas e produtos como um alimento com grande potencial funcional (Silva *et al.*, 2022). O chá produzido através da planta *Camellia sinensis* é a segunda bebida não alcoólica mais consumida no mundo, obtendo uma grande importância social e econômica (Santos *et al.*, 2019).

4.2. Preparação da kombucha

A kombucha é uma bebida fermentada preparada através da infusão de folhas do chá preto (*Camellia sinensis*) em água fervida adoçada com açúcar; outros chás, como o branco, o verde e o *oolong*, também podem ser utilizados como base (Wongthai *et al.*, 2021).

O modo de produção e as proporções de chá, inóculo e açúcar variam de acordo com o produtor. O procedimento inicial é a preparação de um chá base quente. Após o resfriamento do chá, as folhas são filtradas e removidas, então é adicionada a cultura simbiótica de bactérias acéticas, lácticas (Su *et al.*, 2023) e leveduras (SCOBY) e 10 a 20% de uma kombucha já fermentada, denominada chá de arranque (*starter*) (Dutra e Paul, 2019; Pedersen, 2013). Isso provocará a diminuição do pH do meio e consequentemente inibir o crescimento de microrganismos indesejados. Então, o recipiente é coberto com pano, para evitar contaminações por moscas e esporos, e incubado à temperatura ambiente, por 7-12 dias, sem agitação, quando ocorre a primeira fermentação pelas bactérias acéticas. Quanto mais tempo o chá ficar incubado, mais avinagrado ficará o produto final. O recipiente não deve ser fechado, para permitir a entrada de ar e a realização da fermentação aeróbia.

Depois desse tempo, uma nova película de celulose (“mãe da kombucha”) irá se formar na superfície; a cultura flutuante em forma de disco é removida, podendo ser utilizada em outra fermentação. O líquido é filtrado e está pronto para consumo. É possível realizar uma segunda fermentação adicionando frutas como fonte de açúcar à bebida já

fermentada, com o objetivo de adicionar sabor e criar uma gaseificação natural ao produto (Villareal-Soto *et al.*, 2018).

A composição e o sabor da kombucha variam de acordo com o tipo de chá e fruta utilizados. Em sua composição, pode-se observar a presença de polifenóis, proteínas, ácidos orgânicos, açúcares (glicose e frutose) (Malbasa *et al.*, 2008), vitamina B e C, minerais, entre outros (Jayabalan; Marimuthu; Swaminathan, 2007).

4.3. Composição Química da kombucha

A composição química da kombucha e as concentrações dos metabólitos dependem de vários fatores como: tipo de microrganismo presente no inóculo (Nguyen *et al.*, 2015), tempo de fermentação (Coton *et al.*, 2017; Souza, 2019) e velocidade de fermentação (Vitas *et al.*, 2018), tipo (Santos, 2020) e concentração de açúcar e chá (Fu *et al.*, 2017), temperatura (Jayabalan *et al.*, 2008; Loncar *et al.*, 2006) e tipo de água utilizada para o procedimento. O tempo de fermentação e a temperatura podem variar de 7 a 12 dias e de 22 a 30 °C, respectivamente. Quanto maior o tempo de fermentação mais ácido será o sabor (Paludo, 2017). Quaisquer mudanças nas matérias-primas e nas condições da fermentação afetam as propriedades funcionais do produto final, em maior ou menor grau (Soto *et al.*, 2019; Bortolomedi *et al.*, 2022; Paramithiotis *et al.*, 2024). Por exemplo, preparações a base de chá verde apresentam maior concentração de ácido lático quando comparadas a preparações com base de chá preto (Santos, 2016).

Os principais metabólitos produzidos no chá fermentado são: ácidos orgânicos (glicurônico, glucônico, acético, cítrico, lático, málico, oxálico, malônico, pirúvico e succínico) (Chen & liu, 2000; Jayabalan *et al.*, 2007, Loncar *et al.* 2006; Chakravorty *et al.*, 2019), vitaminas B1, B2, B6, B12, E e C (Bauer; Petrovska, 2000; Malbasa *et al.*, 2011), açúcares (glicose, sacarose e frutose), aminoácidos, glicerol, proteínas, etanol, compostos fenólicos e minerais (Na, K, P, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn) (Jabeen *et al.*, 2019).

Os ácidos orgânicos produzidos durante a fermentação possuem atividade antibacteriana e previnem a contaminação da kombucha por bactérias patogênicas (Coelho *et al.*, 2020), e o açúcar confere o sabor adocicado à kombucha. Dentre os constituintes da kombucha, o ácido glicurônico é considerado o principal agente terapêutico (Kumar; Joshi, 2016). O SCOBY, também conhecido como a 'mãe da kombucha', é composto por proteínas e fibras, sendo rico em aminoácidos essenciais e não essenciais. Entre eles, a lisina é o aminoácido presente em maior concentração (Jayabalan *et al.*, 2010).

4.4. Matérias-primas

A kombucha é uma bebida fermentada preparada a partir de água potável, infusão ou extrato aquoso de *Camellia sinensis*, açúcares, cultura simbiótica de bactérias e leveduras (SCOBY), contendo fibras, vitaminas do complexo B e C, sais minerais, ácidos orgânicos (acético e glicurônico), proteínas, polifenóis, entre outros (Camara *et al.*, 2022).

4.4.1. Chá

Os chineses utilizam e produzem o chá desde a antiguidade. A lenda chinesa mais conhecida faz referência ao consumo de chá em 2737 a.C. (Bruini *et al.*, 2019). O chá foi se popularizando e se espalhando pelo mundo devido às suas propriedades benéficas. Hoje, ele apresenta uma grande importância econômica, com uma produção de três bilhões de toneladas de chá seco por ano, sendo 75% de chá preto (Khan; Mukhtar, 2007; Jabeen *et al.*, 2019).

Os chás são derivados da mesma espécie de plantas, *Camellia sinensis*, uma árvore perene, nativa do Sudeste Asiático, com folhas longas e flores branco-amareladas, pertencente à família Theaceae (Duarte; Menarim, 2006, Ahmed; Stepp, 2013). O significado do seu nome científico é camélia da China, pois suas flores parecem com as das camélias. A *C. sinensis* é cultivada em mais de 30 países tropicais e subtropicais (Lima *et al.*, 2009).

Os chás foram classificados em quatro tipos dependendo da forma de processamento, bem como dos níveis de oxidação e fermentação: preto, *oolong*, branco e verde. Todos são provenientes da *C. sinensis* e diferem através do grau de oxidação. No chá branco, as folhas são jovens e os botões são protegidos e não sofrem oxidação (Braiabante *et al.*, 2014). No chá verde, após a colheita, as enzimas foliares são inativadas pela exposição ao calor, evitando a oxidação enzimática. Já no chá *oolong*, as folhas são picadas e cortadas, ocorrendo a oxidação parcial pelas enzimas presentes nas folhas, diferente do chá preto, em que a oxidação ocorre por um período prolongado (Dartora, 2010; Lima *et al.*, 2009). O chá verde é proveniente da variedade *assamica*, que apresenta folhas largas, e o chá preto da variedade *sinensis*, com folhas pequenas (Mcgee, 2004).

Os chás de *C. sinensis* são uma das bebidas mais consumidas no mundo (Ferreira *et al.*, 2020), sendo preparados com folhas secas, que passaram por um processo de secagem para reduzir o seu peso em 55% do peso da folha original. A composição química

da *C. sinensis*, que confere a variedade de aromas e sabores dos chás, depende das condições de cultivo, coleta, preparo e acondicionamento das folhas (Reto *et al.*, 2008).

Os chás da *C. sinensis* têm demonstrado efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios, pois são ricos em flavonoides, catequinas, polifenóis, teobromina, cafeína e micronutrientes como vitaminas e minerais (Ferreira *et al.*, 2020). Os flavonoides são compostos distribuídos no reino vegetal, encontrados em folhas, frutos e sementes, que são usados no tratamento complementar das doenças, pois impedem a ação dos radicais livres, evitando formação de lesões nas células, ou podem reparar as lesões presentes, removendo os danos e reconstituindo as células danificadas (Souza, 2019).

O chá também pode conter os aminoácidos essenciais: histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, valina, triptofano e treonina (Rodriguez, 2018). A cafeína desempenha um papel importante durante o processo de fermentação, fornecendo às bactérias e leveduras, o nitrogênio necessário para os processos metabólicos, formação de novas células e geração de energia (Crum *et al.*, 2016).

Outros numerosos benefícios para a saúde têm sido atribuídos ao consumo dos chás, como auxílio na digestão, estímulo no sistema imunológico, proteção contra câncer e doenças cardiovasculares, prevenção de infecções, propriedades hipoglicêmicas e hipolipidêmicas e eliminação de radicais livres (Malbasa *et al.*, 2011; Morais, 2009; Saigg; Silva, 2009; Ferreira *et al.*, 2020).

4.4.2. Açúcar

O açúcar é o substrato para a simbiose das bactérias e leveduras, sendo um ingrediente essencial na produção da kombucha (Phung *et al.*, 2023). Durante a fermentação, a sacarose é convertida em frutose e glicose através da enzima invertase, produzidas pelas leveduras da cultura simbiótica (SCOBY) (Kuzu *et al.*, 2023). As leveduras transformam a glicose em dióxido de carbono e álcool etílico, que são as fontes principais para a produção dos ácidos orgânicos que conferem características sensoriais ao produto. Consequentemente, estimulam o crescimento de bactérias acéticas (Soares *et al.*, 2021).

Durante o processo de fermentação, as bactérias acéticas utilizam a sacarose como fonte de carbono para produzir uma rede de celulose como metabólito secundário da fermentação, originando um novo SCOBY, e metabolizam o etanol produzido pelas

leveduras em ácido acético, pelas enzimas aldeído desidrogenase, bem como convertem a glicose em ácido glicurônico e a frutose em ácido acético (Vieira *et al.*, 2021).

O tipo de sacarose utilizada durante a produção da kombucha pode resultar em alterações nas suas características sensoriais e na sua composição química (Jayabalan *et al.*, 2014). São produzidos, então, diferentes concentrações de ácidos orgânicos, sendo o açúcar branco a maior fonte de produção de ácidos orgânicos durante o processo fermentativo (Santos *et al.*, 2018; Santos 2016).

A metabolização da sacarose pode ser afetada pela temperatura de fermentação, composição microbiana do SCOBY, tempo, concentração e tipo de açúcar e chá (Souza, 2019; Santos, 2019).

4.4.3. SCOBY

O SCOBY é uma película gelatinosa celulósica que se forma na superfície do líquido, sendo composta por uma cultura simbiótica de leveduras e bactérias, que são responsáveis pela fermentação e pela liberação de vitaminas e enzimas que trazem diversos benefícios para a saúde, além de carbonatar de forma natural a bebida (Bruini, 2019).

As bactérias acéticas que formam o SCOBY durante a fermentação da kombucha, produzem um biofilme de microrganismos que ficam flutuando na superfície do chá com uma aparência parecida com a tampa de um cogumelo (Villarreal-Soto *et al.*, 2019). O SCOBY induz a adição de novas membranas de celulose mais espessas, que tomam a forma de seu recipiente e potencializam o efeito simbiótico entre bactérias e leveduras (Landis *et al.*, 2022). O SCOBY também mantém os microrganismos na superfície, permitindo a disponibilidade de oxigênio suficiente para o seu desenvolvimento e a proteção para os microrganismos dos raios UV, da alta pressão hidrostática ou de quaisquer desafios ambientais (Laavanya *et al.*, 2021).

A cultura simbiótica de bactérias e leveduras é formada por alguns probióticos, como as bactérias acéticas dos gêneros *Gluconobacter*, *Acetobacter* e *Gluconacetobacter*. As principais espécies de bactérias encontradas na cultura são *Acetobacter xylinoides*, *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter pasteurianus*, *Acetobacter aceti*, *Gluconobacter oxydans* e *Bacterium gluconicum* (Dufresne; Farnworth, 2000). A mais relevante dessas é a *Acetobacter xylinum*, responsável pela formação da película de celulose que formará a “mãe da kombucha” (Dutta; Gachhui, 2007; Nguyen *et al.*, 2008; Caili *et al.*, 2014; Marsh *et al.*, 2014). Ela é formada ainda por algumas espécies de leveduras, como *Brettanomyces*

bruxellensis, *Brettanomyces lambicus*, *Brettanomyces custersii*, *Kloeckera apiculata*, *Saccharomycodes ludwigii*, *Schizosaccharomyces pome*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, e espécies de *Candida* e *Pichia* (Malbasa *et al.*, 2011).

As leveduras no início da fermentação hidrolisam a sacarose em frutose e glicose; esses açúcares são consumidos pelas leveduras para produção de etanol e dióxido de carbono (CO₂). As bactérias acéticas metabolizam o etanol produzido pelas leveduras, gerando ácido acético e diminuindo o pH do meio. As bactérias lácticas e acéticas metabolizam a glicose e a frutose, produzindo diferentes ácidos orgânicos, que são responsáveis pelo sabor ácido da bebida (Etgeton; Zanette, 2020). A sacarose restante do processo fermentativo pode ser utilizada, principalmente pela bactéria acética *Acetobacter xylinum*, como fonte de carbono para produzir uma rede de celulose como metabólito secundário da fermentação, dando origem a um novo SCOBY (De Souza, 2022).

4.4.4. Maracujá

Com a popularização da kombucha, novos processos foram desenvolvidos na elaboração da bebida, como a utilização de frutas como substrato no processo fermentativo e para aromatização da bebida (Thorat; Dastager, 2018). As frutas adicionam novos compostos nutricionais, sabor e aroma durante a fermentação. O uso de diferentes tipos de frutas na produção de kombucha produz diferentes metabólitos secundários, fitoquímicos e compostos nutricionais (Flores *et al.*, 2019; Malaterre *et al.*, 2018). Como resultado, o maracujá é uma fruta que pode ser usada para dar sabor ao kombucha, tornando-se uma alternativa promissora para os consumidores que procuram alimentos funcionais que tragam benefícios à sua saúde.

A produção de maracujá é de grande importância para a economia brasileira, devido ao emprego intensivo de mão de obra, à geração de renda e principalmente à colheita continuada da safra ao longo do ano. Além disso, seu cultivo pode ser realizado em vários estados brasileiros, posicionando o Brasil como maior produtor e consumidor mundial de maracujá (Barbosa *et al.*, 2012), com área plantada de 44.827 hectares e produção de 683.993 toneladas (IBGE, 2020). As espécies mais cultivadas no Brasil são maracujá-roxo (*Passiflora edulis*), maracujá amarelo (*Passiflora edulis*) e maracujá doce (*Passiflora alata*) (Araújo, 2007).

Entretanto, apesar de a maioria das pesquisas com maracujazeiros serem direcionadas a espécie *Passiflora edulis* (maracujá-amarelo ou azedo) (Carvalho *et al.*,

2021), outras espécies de maracujazeiros silvestres apresentam características importantes, as quais merecem atenção da comunidade científica, como o maracujá-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast).

O gênero *Passiflora cincinnata* Mast., por exemplo, é uma dessas espécies cuja ocorrência é frequente e espontânea na região semiárida do nordeste brasileiro, onde sua exploração ocorre basicamente de forma extrativista (Araújo, 2002). Estima-se que tenha mais de 500 espécies (Araújo *et al.*, 2008; Montero *et al.*, 2016), distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais.

As flores do maracujá-do-mato são axilares, de coloração azul-rosada ou violeta, e os frutos são ovoides ou globosos (Figura 1). Os frutos são utilizados para fins medicinais, ornamentais e nutricionais e têm ganhado destaque no mercado de fábricas caseiras e da agricultura familiar, por ser um produto com aroma e sabor característico (Oliveria, 2016).

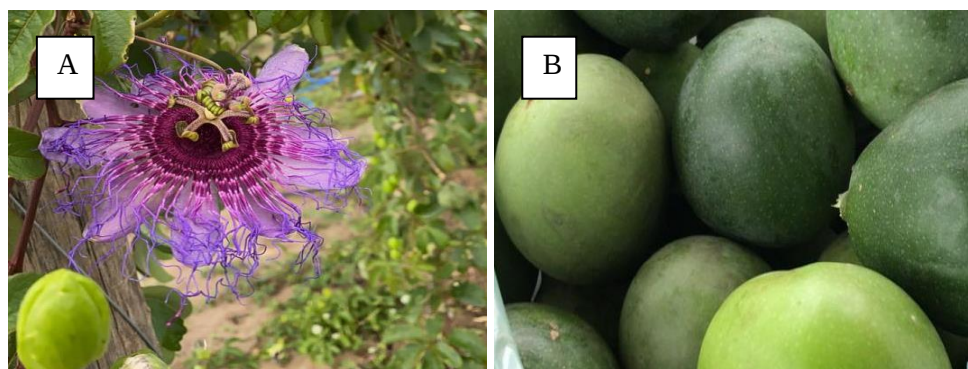


Figura 1 - Flor (A) e fruto (B) do maracujá-do-mato.

Fonte: Magalhães, 2024.

A determinação da composição centesimal desse fruto é, portanto, fundamental para sua avaliação nutricional e o desenvolvimento de novos produtos que ampliem as possibilidades de alimentação da população do semiárido, explorando a vegetação nativa do bioma da caatinga. Os frutos do maracujá-do-mato possuem um sabor exótico, um elevado valor nutricional e uma boa aceitabilidade para consumo, o que compõe uma alternativa para produção de novos produtos de kombucha, favorecendo a exploração da vegetação nativa do bioma do semiárido (Araújo *et al.*, 2019).

O maracujá-do-mato serve como um suprimento de vitamina C. Alguns estudos indicaram a presença de componentes funcionais como compostos fenólicos (Zeraik; Yariwake, 2010), fibras (Córdoba *et al.*, 2005), vitaminas, carotenoides, cálcio, ferro, fósforo, flavonoides e ácidos graxos poli-insaturados no maracujá-do-mato, substâncias que ajudam a prevenir determinadas doenças, bem como auxiliam na recuperação delas,

demonstrando o potencial do maracujá na produção de alimentos funcionais (Gadioli *et al.*, 2018; Costa, 2017).

Os trabalhos realizados com maracujá-do-mato são direcionados ao melhoramento genético, havendo pouca exploração do potencial de utilização do fruto dessa espécie. O maracujá-do-mato surge, assim, como uma alternativa de saborização da kombucha. A adição de frutas tem sido uma opção interessante para melhorar as propriedades nutricionais e funcionais da kombucha, além de permitir uma maior aceitação devido à diversificação de sabores da bebida (Kim; Adhikari, 2020).

4.5. Atividades biológicas da kombucha

Segundo Becchi *et al.* (2023), a kombucha teve seu consumo aumentado em todo o mundo devido às suas propriedades profiláticas e aos benefícios terapêuticos (Khazi *et al.*, 2024), como efeito antimicrobiano (Cardoso *et al.*, 2020) e antioxidante (Nyiew *et al.*, 2022), redução da aterosclerose pela regeneração da parede celular e dos níveis de colesterol (Cardoso *et al.*, 2021), desintoxicação do sangue e hepática (Cardoso *et al.*, 2021), alívio dos sintomas da gota, da artrite e do reumatismo, equilíbrio da flora intestinal, proteção contra o diabetes, tratamento de úlceras gástricas (Dimidi *et al.*, 2019), alívio de dores de cabeça, asma e bronquite e melhora do sistema imunológico (Wang *et al.*, 2022). Durante a Primeira Guerra Mundial, os russos afirmaram que o remédio caseiro secreto, como era chamada a kombucha, auxiliava na regulação do trânsito intestinal, bem como nas dores de cabeça e gástricas (Ferreira *et al.*, 2020).

Nos últimos anos, a kombucha tem chamado atenção devido aos seus possíveis efeitos benéficos para a saúde (Healy *et al.*, 2024). Devido aos vários efeitos positivos nas funções biorregulatórias, a kombucha tem sido considerada uma bebida funcional. Com o aumento do consumo da kombucha, novas pesquisas investigaram suas propriedades antimicrobianas, probióticas e antioxidantes, bem como os benefícios que essa bebida pode proporcionar na redução das doenças crônicas (Vargas *et al.*, 2021; Zanette; Etgeton, 2020). As suas propriedades farmacológicas estão associadas aos compostos formados durante a fermentação microbiana, tais como, ácido glicurônico, ácido acético, polifenóis, flavonoides, catequinas, enzimas, proteínas e bacteriocinas (Shahazi *et al.*, 2018).

A atividade antioxidante é um dos benefícios da kombucha que está sendo bastante estudado. Os antioxidantes têm a capacidade de inibir a oxidação de diversos substratos, através da inibição da formação de radicais livres e da eliminação de radicais importantes

na etapa de propagação, como a alcoxila e preoxila, através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia (Soares, 2021). As catequinas presentes na kombucha são derivadas dos polifenóis e agem como antioxidantes protegendo o nosso corpo contra o desenvolvimento de doenças (Antolak *et al.*, 2021). O ácido glicurônico no corpo humano é produzido pelo fígado e apresenta efeitos desintoxicantes, pois se liga aos xenobióticos e a fenóis presentes no fígado, permitindo que essas substâncias sejam excretadas pelos rins de forma mais eficiente (Paludo, 2017).

Segundo Becchi *et al.* (2023), a kombucha tornou-se popular devido às suas propriedades funcionais, como: efeito antimicrobiano (Cardoso *et al.*, 2020) e antioxidante (Nyiew *et al.*, 2022), redução da aterosclerose pela regeneração da parede celular e dos níveis de colesterol (Cardoso *et al.*, 2021), desintoxicação do sangue e hepática (Cardoso *et al.*, 2021), alívio dos sintomas da gota, da artrite e do reumatismo, equilíbrio da flora intestinal, proteção contra o diabetes, tratamento de úlceras gástricas (Dimidi *et al.*, 2019), alívio de dores de cabeça, asma e bronquite e melhora do sistema imunológico (Wang *et al.*, 2022).

4.5.1. Atividade antioxidante

Antioxidantes são compostos capazes de reagir com os radicais livres presentes em excesso no organismo, ajudando, assim, na reparação e na prevenção de prejuízos causados pelo estresse oxidativo. Os antioxidantes podem influenciar a regulação de genes envolvidos em mecanismos de reparação ou defesa do material genético (DNA) (Vieira *et al.*, 2021).

A atividade antioxidante da kombucha está relacionada com o efeito benéfico da eliminação de radicais livres, a prevenção de câncer, a atividade anti-inflamatória e o aumento da imunidade, atribuída à presença de polifenóis, ácido ascórbico, catequinas e ácido D-sacárico-1, 4-lactona (DSL) (Vieira *et al.*, 2021).

O nível de atividade antioxidante depende do tipo de chá, do tempo de fermentação e da microbiota da cultura simbiótica (Jayabalan *et al.*, 2014). As propriedades de eliminação de radicais livres da kombucha dependem do tempo, mas a fermentação prolongada não é adequada devido ao acúmulo de ácidos orgânicos e à acidificação da bebida, que pode prejudicar o consumo direto (Leal *et al.*, 2018).

Os compostos fenólicos são antioxidantes pelo fato de terem a capacidade de doar um átomo de hidrogênio para as estruturas de radicais livres como peróxido de hidrogênio,

superóxido e hidroxila, que são liberados nas mitocôndrias durante a respiração celular através da cadeia transportadora de elétrons (Podsdek, 2007; Kyungmi; Ebeler, 2008).

As catequinas, que são substâncias derivadas dos polifenóis, atuam como potentes antioxidantes, pelo fato de serem moléculas com alta capacidade de inibir a ação dos radicais livres e de se ligar a metais, diminuindo a sua capacidade de danificar moléculas vitais que participam de processos fisiológicos. Quando os metais, como cobre e ferro, são encontrados em um estado livre no organismo ou não ligado a proteínas plasmáticas, eles podem danificar as proteínas, os ácidos nucleicos e os lipídios, quando oxidados (Leal *et al.*, 2018).

Bhattacharya *et al.* (2011) testaram a atividade antioxidante da kombucha contra a citotoxicidade induzida por hidroperóxido de ter-butila (TBHP) em hepatócitos de murino. A kombucha neutralizou as mudanças induzidas pelo TBHP e evitou a morte celular. Além disso, os polifenóis da kombucha demonstraram grande potencial de proteção contra o desenvolvimento de alguns tipos de câncer, exibindo enzimas e interrompendo processos que resultam no crescimento de células cancerígenas (Leal *et al.*, 2018).

Jayabalan *et al.* (2014) observaram que a kombucha tem maior atividade antioxidante do que o chá preto tradicional não fermentado. Um estudo realizado por Srihari *et al.* (2013) demonstrou que a quantidade de flavonoides e compostos fenólicos aumentou em 75% na kombucha após a fermentação pelo SCOBY, devido à degradação dos polifenóis complexos em pequenas moléculas, atividade das bactérias e leveduras durante o processo de fermentação. Isso resultou em um aumento dos flavonoides e compostos fenólicos totais (Srihari *et al.*, 2013).

4.5.2. Atividade hepatoprotetora

A kombucha foi avaliada quanto à sua propriedade hepatoprotetora contra vários poluentes ambientais em modelos animais e sua função em prevenir hepatotoxicidade induzida por vários poluentes. Foi identificado que a kombucha pode atenuar as alterações fisiológicas causadas por alguns tóxicos hepáticos, como paracetamol (Abshenas *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2014), aflatoxina B (Jayabalan *et al.*, 2010), TBHP (Bhattacharya *et al.*, 2011), tetracloreto de carbono (Murugesan *et al.*, 2009) e cloreto de cádmio (Ibrahim, 2011).

Os estudos concluíram que a kombucha possui efeitos benéficos nas doenças do fígado ocasionadas pelo estresse oxidativo. A sua eficácia foi avaliada medindo os

marcadores de toxicidade hepática, como alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), glutatona, fosfatase alcalina, gama glutamil transferase (GGT), creatinina, ureia, óxido nítrico e superóxido dismutase, através de análise histopatológica de tecido hepático, apoptose, alteração no potencial da membrana mitocondrial, geração de espécies reativas de oxigênio, liberação de citocromo C, ativação de caspases (3 e 9) e Apaf 1 contra o hidróperóxido de terc-butil (TBHP) (Vieira *et al.*, 2021; Martinez *et al.*, 2018).

Os polifenóis produzidos na kombucha durante o processo de fermentação auxiliam na fase II da desintoxicação hepática dos xenobióticos, através do aumento da expressão das enzimas glutatona-S-transferases que são conjugadas com o tripeptídeo glutatona, um antioxidante endógeno com alto potencial de eliminação de xenobióticos. Com isso, ocorre o aumento da glutatona, que auxiliará o fígado na eliminação dos xenobióticos (Leal *et al.*, 2018).

As bactérias presentes no SCOBY produzem o ácido glicurônico durante a fermentação, que também é fabricado pelo fígado e apresenta efeitos desintoxicantes, pois se liga aos xenobióticos e aos fenóis presentes no órgão, permitindo que essas substâncias sejam excretadas pelos rins de forma mais eficiente. Sendo assim, ele é um dos ácidos mais importantes para a saúde, além de ser um precursor de vitamina C (Paludo, 2017).

4.5.3. Atividade antimicrobiana

As doenças infecciosas são a segunda causa mais importante de morte humana em todo o mundo (Guo *et al.*, 2020). Com isso, a kombucha tem sido estudada quanto a potencial atividade inibitória sobre microrganismos patogênicos (Villarreal-Soto *et al.*, 2020). A atividade antimicrobiana da kombucha está associada à presença de catequinas e de ácidos orgânicos, principalmente o ácido acético, durante o processo fermentativo, que são capazes de inibir o crescimento de microrganismos gram-negativos e gram-positivos (Sreeramulu *et al.*, 2000).

Jayabalan *et al.* (2014) demonstraram a ação antimicrobiana da kombucha em bactérias gram-positivas e gram-negativas. Sreeramulu *et al.* (2000, 2001) avaliaram a atividade antimicrobiana da kombucha preparada com chá verde (0,5% p/v) e suplementado com sacarose (10% p/v) contra as bactérias *Entamoeba cloacae*, *Staphylococcus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus epidermis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Yersinia enterocolítica*, *Staphylococcus aureus*,

Campylobacter jejuni, *Helicobacter pylori* e *Candida albicans*. A kombucha demonstrou exercer atividade antimicrobiana contra as bactérias *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis* e *Campylobacter jejuni*.

Bebidas de kombucha de erva-cidreira, com diferentes tipos de acidez e de concentração de ácido acético, e bebidas desnaturadas pelo calor mostraram atividades antibacterianas contra diversas cepas selvagens testadas, no estudo de Lynch *et al.* (2019). Esse trabalho demonstrou a atividade bactericida do ácido acético presente na kombucha contra as cepas bacterianas gram-negativas e gram-positivas, como *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Bacillus sp.* e *Listeria*. A concentração do ácido acético na bebida kombucha influenciou diretamente no potencial antimicrobiano e alguns componentes não ácidos contribuíram para essa bioatividade (Lynch *et al.*, 2019).

4.5.4. Atividade anticancerígena

As propriedades anticancerígenas da kombucha podem estar associadas à presença de polifenóis no chá e seus produtos de degradação formados durante o processo de fermentação (Becchi *et al.*, 2021). Os polifenóis apresentam grande potencial na proteção contra o desenvolvimento de alguns tipos de câncer, através da inibição de enzimas que levam à interrupção de processos que resultam no crescimento de células cancerígenas. Os mecanismos de ação dos polifenóis contra o câncer são: inibição da proliferação de células cancerígenas, indução da apoptose de células cancerígenas e inibição da mutação genética (Vieira *et al.*, 2021).

4.6. Viabilidade econômica

De acordo com Almeida *et al.* (2018), o desenvolvimento do estudo de viabilidade econômica é uma ferramenta importante para as empresas novas, pois concede a oportunidade de o gestor tomar a decisão antecipada de investir ou não em uma produção, de acordo com a rentabilidade desse novo negócio. Padoveze (2011) diz que “um investimento se caracteriza por ser um gasto não consumido imediatamente cujos resultados virão dos benefícios futuros desses gastos

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Matéria-prima utilizada para a preparação da kombucha

5.1.1. Chá preto

O chá utilizado nos experimentos foi o preto da marca Maratá, adquirido em sachês.

5.1.2. Água

A água utilizada foi adquirida no mercado local em galões de 20 litros.

5.1.3. Açúcar

Os açúcares utilizados foram o cristal da marca Agrovale e o demerara da marca União, comprados no supermercado local São Roque.

5.1.4. SCOBY

O SCOBY utilizado (Figura 2) foi comprado no site kombuchabr.com, sendo composto pelas seguintes bactérias: *Bacillus sp. licheniformis* (99%), *Bacillus sp.* (99%), *Bacillus sp. Pumillus erophilus safensis altitudinis*, *Acetobacter tropicalis* (99%), *Bacillus sp. Aerophilus* (96%), *Bacillus sp. Aryabhattai* (98%), *Gluconacetobacter saccharivorans* (99%), *Micrococcus sp.*, *Gluconacetobacter rhaeticus* (98%), *Paenibacillus taichungensis* (97%) e *Bacillus subtilis* (99%); e pelas leveduras *Brettanomyces bruxellensis* (99%), *Saccharomyces cerevisiae* (92%), *Zygosaccharomyces sp.* (97%) e *Candida sp* (97%).



Figura 2 - Cultura simbiótica (SCOBY).
Fonte: Magalhães, 2024.

5.1.5. Maracujá-do-mato

Os maracujás do mato (Figura 3) foram adquiridos em feiras livres locais da cidade de Feira de Santana, Bahia, higienizados e processados em despulpadeira (Macanuda, modelo DBM-73 NR12), para obtenção da polpa de acordo com o fluxograma da Figura 4.



Figura 3: Fruto do maracujá-do-mato.
Fonte: Oliveira, 2016.

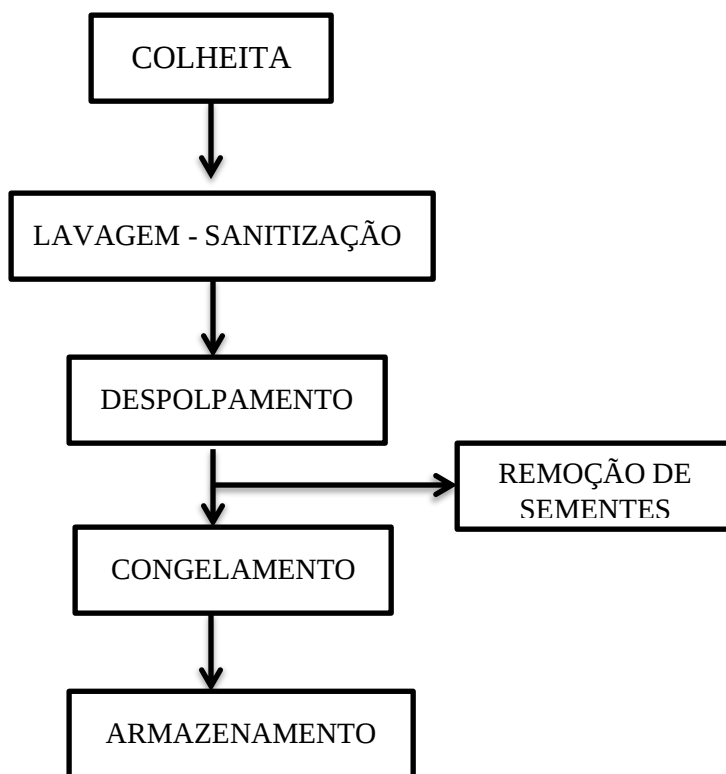


Figura 4 - Fluxograma do processamento para obtenção da polpa do maracujá-do-mato.

Fonte: Magalhães, 2024.

5.2. Fermentação do chá preto

Inicialmente, 1 L de água mineral Indaiá foi fervida por 15 minutos, depois foram adicionados 7g de chá preto comercial (Maráta, figura 2, e em seguida foi deixado para esfriar à temperatura ambiente. Após resfriamento completo, a mistura foi filtrada com uma peneira de inox e transferida para frascos de vidro de 3,5 L, previamente esterilizados a 121 °C por 20 min. Foram adicionados 60 g de açúcar cristal em um frasco de vidro e 60 g de açúcar demerara em outro frasco, previamente esterilizados a 121 °C por 20 min. Essa solução foi inoculada com SCOBY na primeira fermentação e os frascos de vidro foram cobertos com pano limpo e fixado com elástico (Figura 5). Os frascos foram incubados a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, durante 7 dias.



Figura 5 - Fermentação do chá preto com açúcar para obtenção da kombucha.

Fonte: Magalhães, 2024.

A segunda etapa da produção da kombucha foi realizada retirando o SCOBY, permanecendo as leveduras e as bactérias na bebida. Nessa etapa, foram adicionados 44 g da polpa de fruta do maracujá-do-mato para saborização; as kombuchas foram, então, armazenadas a 4 °C por 24 horas. Após esse tempo, a polpa do maracujá foi retirada e a infusão foi transferida para garrafas PET de 250 mL, com condições anaeróbias, a 25 ± 1 °C, para fermentar o substrato disponível, aumentando o gás carbônico da bebida por 8 dias (Figura 6).



Figura 6 – Kombucha saborizada com maracujá-do-mato.

Fonte: Magalhães, 2024.

5.3. Análises físico-químicas

Aa análises físico-químicas das kombuchas foram realizadas no laboratório de fermentação (Labotec2) da Universidade Estadual de Feira de Santana.

5.3.1. Determinação do pH

As análises de pH foram realizadas de acordo com a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008). As leituras foram determinadas em pHmetro digital previamente calibrado da marca Instrutherm, modelo PH-1700.

5.3.2. Determinação do teor de sólidos solúveis totais

O teor dos sólidos solúveis totais (°Brix) das amostras foi determinado por leitura no refratômetro Reichert, modelo AR200, de acordo com a metodologia definida pela AOAC - Association of Official Analytical Chemists (2000). Um volume de 1 mL da amostra de kombucha com açúcar cristal e um daquela feita com açúcar demerara foram adicionados em tubo tipo eppendorf e centrifugados por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado e realizada a leitura do °Brix no refratômetro.

5.3.3. Determinação de açúcares redutores

A determinação dos açúcares redutores foi realizada de acordo com a metodologia de Miler (1959). Foram adicionados 400 µL de amostra no balão de 100 mL, completando-se o volume com água destilada. Então, foram retirados 500 µL dessa diluição e adicionados, em um tubo de ensaio, 500 µL de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), agitando-se e levando-se a aquecimento em banho-maria a 100 °C (em ebulição) por 5 minutos; depois resfriou-se o tubo de ensaio em banho de gelo por 3 minutos. Foi adicionado 500 µL de água destilada a absorvância foi determinada em espectrofotômetro (SHIMADZU UV mini-1240) a 540 nm, utilizando-se uma curva analítica linear de glicose, sendo os resultados expressos em mg de glicose/mL de kombucha.

5.3.4 Determinação de açúcares totais

Os açúcares totais foram quantificados pelo método Fenol Sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956). Em um tubo, foi adicionado 1 mL da amostra de kombucha e 1 mL de fenol. Logo após foi adicionado rapidamente, 5 mL de ácido sulfúrico. Os tubos foram agitados e mantidos em repouso por 15 minutos, para esfriar em temperatura ambiente. A leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro (SHIMADZU UV mini-1240) a um comprimento de onda de 490 nm, com uma curva padrão de glicose de 0 - 160 µg/mL, com concentração de 5µg/mL de intervalo.

5.3.5. Determinação de compostos fenólicos

A quantificação dos compostos fenólicos das kombuchas foi realizada pelo método de Folin Ciocalteau (Singleton; Rossi, 1965). Foram utilizados 125 µL da amostra de kombucha, 125 µL do reagente de Folin Ciocalteau (50% com água deionizada) e 2250 µL de carbonato de sódio (Na₂CO₃). As amostras foram deixadas em repouso por 30 minutos no escuro, então a leitura foi realizada em espectrofotômetro (SHIMADZU UV mini-1240) a 725 nm. O branco foi preparado da mesma maneira substituindo a kombucha pelo solvente (água). Os resultados foram expressos em µg equivalente de ácido gálico/mL de kombucha).

5.3.6. Determinação acidez total titulável

A acidez total titulável foi determinada seguindo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). Um mL da amostra foi transferida para um Erlenmeyer contendo 10 mL de água destilada. Logo após, foram adicionadas 3 gotas do indicador fenolftaleína 1%, sendo a amostra titulada com uma solução de NaOH 0,1 mol/L, até obter a coloração rósea. A acidez total titulável foi calculada através da equação 1 (Eq 1):

$$\text{Acidez total titulável (A\%)} = \left[\frac{V \times F \times M \times PM}{10 \times m \times n} \right] \times 10$$

Onde:

A = Acidez total titulável (%), em g de ácido orgânico por cento (m/v)

V = Volume gasto de NaOH na titulação (mL)

F = Fator de correção da solução de NaOH

M = Molaridade da solução de NaOH

PM = Peso molecular do ácido correspondente (g)

m = Massa da amostra (g)

n = Número de hidrogênios ionizáveis

5.3.7. Avaliação da atividade antioxidante da kombucha

O método de determinação da atividade de DPPH é o mais indicado quando se pretende avaliar a ação antioxidante, pois determina a massa necessária desse para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH. Para avaliação da atividade antioxidante da kombucha pela técnica do radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), foi utilizada a técnica descrito por Brand-Williams *et al.* (1995). Foi adicionado 200 µL das amostras, 1680 µL de água e 120 µL de DPPH 0,5 µL. A mistura foi agitada em vórtex e após uma hora realizou-se a leitura em espectrofotômetro (SHIMADZU UV mini-1240) a 517 nm. Para o controle foi utilizado 1880 µL de água e 120 µL de DPPH. Todas as leituras foram realizadas em triplicata e com a média obtida foi calculado o percentual da atividade antioxidante das kombuchas através da fórmula:

$$\% \text{ inibição} = \left[\frac{Ac - Aa}{Ac} \right] \times 100$$

Onde:

% inibição = porcentagem de atividade antioxidante

Ac = absorbância do controle

Aa = absorbância da amostra

5.3.8. Determinação de Flavonoides

A determinação dos flavonoides totais foi realizada pela técnica descrita por Woisky e Salatino (1998). Alíquotas de 500 µL de amostra e de cloreto de alumínio (AlCl₃) (Fórmula?) 5% foram adicionadas a tubos de ensaio, agitadas e, após repouso de 15 minutos, realizou-se a leitura em espectrofotômetro (SHIMADZU UV mini-1240) a 420 nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata. O conteúdo de flavonoides totais foi determinado usando uma curva padrão de quercetina nas concentrações 10, 20, 30, 40, 50,

60, 70 e 80 µg/mL, a partir da equação da reta obtida na curva do gráfico padrão. Os resultados foram expressos em mg de quercetina por 100 g de kombucha.

5.3.9. Umidade

A umidade foi obtida conforme a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), por meio do método de secagem das amostras em estufa de circulação (Tecnal TE-394/2, Brasil) a 105°C até peso constante.

5.3.10. Cinzas

A determinação do valor total de cinzas presente nas amostras foi realizada de acordo com a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). As amostras foram incineradas em forno mufla (Quimis 318M, Brasil) a 550 °C, até o momento em que se observou a obtenção de um resíduo isento de carvão, com coloração branca acinzentada e peso constante.

5.3.11. Determinação de Proteínas

A determinação das proteínas foi realizada de acordo com a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). As alíquotas de 5 mL de amostra foram pesadas em papel de filtro e adicionadas ao tubo de Kjeldahl, juntamente com 0,55 mL de Na₂SO₄ e CuSO₄.5H₂O (mistura catalítica 10:1). Em seguida, 5 mL de H₂SO₄ concentrado foram adicionados ao tubo (D = 1,84). O tubo de Kjeldahl foi colocado no digestor de proteínas a 450° C, até que todo o conteúdo do tubo adquirisse uma cor azul/esverdeada clara e transparente. Os resultados foram expressos em g.

5.3.12. Determinação de Vitamina C

A determinação da vitamina C foi realizada de acordo com a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). As alíquotas de 1 mL de amostra foram adicionadas em um Erlenmeyer com 10 mL de ácido sulfúrico a 20% e 1 mL de solução de amido a 1%. Em seguida, foram titulados com iodeto de potássio 0,02 M até atingirem coloração azul.

5.4. Análise da atividade antimicrobiana

Para a análise da atividade antimicrobiana, foram utilizadas as bactérias *Salmonella* sp (CCMB281), *Staphylococcus aureus* (CCMB263) e *Escherichia coli* (CCMB261), obtidas da Coleção de Cultura de Microrganismos da Bahia, Universidade Estadual de Feira de Santana (CCMB/UEFS), do laboratório de Biologia (LABIO).

5.4.1. Padronização dos microrganismos

Inicialmente foi realizada a padronização dos microrganismos através do método de suspensão direta de colônias, no qual 3 a 5 colônias de cada microrganismo foram retiradas das culturas em placa de Petri com meio Ágar Müeller-Hinton (AMH) e transferidas para um tubo Falcon com 20 mL de solução salina estéril (0,85%), seguindo as recomendações do Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (CLSI, 2018). A suspensão foi padronizada para as bactérias através da leitura em espectrofotômetro (625 nm), atingindo o nível de turvação 0,5 da escala de McFarland, que corresponde a 10^8 unidades formadoras de colônia, cuja absorbância deve estar entre 0,08 - 0,10.

5.4.2. Teste de susceptibilidade de difusão em disco

O teste de susceptibilidade de difusão em disco seguiu os protocolos propostos pelo Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais (CLSI, 2021). O meio ágar Mueller Hinton foi preparado para 24 placas de Petri; a semeadura das bactérias obtida na concentração de 0,5 McFarland foi feita com o auxílio de um swab sobre o ágar, rodando na posição de ida e volta de 60°, sendo repetida três vezes para garantir a inoculação do microrganismo em toda a superfície. Cinco discos de papel-filtro autoclavados, com 6 mm de diâmetro impregnados com a bebida kombucha e com os antibióticos gentamicina (40µg/mL) e cloranfenicol (100µg/mL), controle positivo, e água destilada autoclavada, como controle negativo foram dispostos sobre o ágar. As placas foram incubadas na estufa a 37 °C por 24 horas. O efeito inibitório foi avaliado medindo o halo formado ao redor do disco. A escala de referência utilizada para a classificação foi de Duraffourd (1983):

1. Nulo (-) se for menor ou igual a 8 mm.
2. Sensível (= +), de 9 a 14 mm.
3. Muito sensível (= ++), de 15 a 19 mm.
4. Extremamente sensível (= +++), se for igual ou maior que 20 mm.

5.4.3. Teste de susceptibilidade de difusão em poço

O teste de susceptibilidade de difusão em poço seguiu os protocolos propostos pelo CLSI (2009; 2018). A suspensão bacteriana foi espalhada sobre a superfície do ágar da mesma forma descrita anteriormente. O meio de cultura foi retirado com o auxílio de um cilindro de vidro de 6 mm de diâmetro, formando os poços. Em cada poço foi adicionado 50 µL da kombucha e os controles positivos, gentamicina 40mg/mL e cloranfenicol 100 mg/mL, e negativo, água destilada autoclavada. Os testes foram realizados em triplicatas e as placas incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C por 24 horas.

A atividade antimicrobiana foi avaliada medindo os halos de inibição formados, incluindo o diâmetro do poço (6 mm). Os resultados foram calculados através da média final da triplicata.

5.4.4. Concentração inibitória mínima (CIM)

Inicialmente, foi realizada a suspensão bacteriana obtida na concentração 0,5 McFarland seguindo os protocolos propostos pelo CLSI (2009; 2018). Depois, em uma microplaca de titulação contendo 96 poços e fundo em formato de “U” (kasvi), foram adicionados 100 µL de caldo Müller-Hinton e 100 µL de kombucha, realizando logo após uma diluição seriada em quatro concentrações (100%, 50%, 25% e 12,5%). Após a diluição, aplicaram-se 20 µL da suspensão bacteriana nas placas que foram homogeneizadas e levadas à estufa a 37 °C por 24 horas. Após a incubação, foram acrescentados 10 µL do revelador (resazurina) em cada poço, esperando 3 horas para a leitura do resultado, em que a cor azul caracteriza a inexistência de crescimento bacteriano, e a cor lilás/rosa, o crescimento bacteriano.

No controle positivo, para o crescimento bacteriano foram utilizados 100 µL do meio de cultura e 20 µL da suspensão bacteriana; já no controle negativo, 100 µL do meio de cultura e 20 µL dos antibióticos cloranfenicol 100 mg/mL e gentamicina 40 mg/mL e 20 µL da suspensão bacteriana. As análises foram realizadas em triplicatas.

5.4.5. Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Antes da adição do revelador no experimento da concentração inibitória mínima, nos poços em que visualmente não foi observado crescimento bacteriano (turvação no poço), foi retirado 20 µL de kombucha e semeadas diretamente em placa de Petri com Ágar

Müller-Hinton. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas; após esse período foi verificado se houve crescimento bacteriano.

5.5. Análise cinética do processo fermentativo da kombucha

De acordo com Hiss (2001), o estudo cinético de um processo fermentativo analisa a evolução dos valores experimentais da concentração de consumo do substrato (S), o crescimento de microrganismo ou biomassa (X) e a formação de produtos do metabolismo (P), em função do tempo de fermentação.

As leveduras *Saccharomyces cerevisiae* tem a capacidade de ajustar-se em condições tanto de aerobiose como de anaerobiose para conversão do substrato em etanol e dióxido de carbono, tornando-se os microrganismos mais utilizados nos processos fermentativos (Pereira *et al.*, 2020). A concentração adequada de nutriente no chá é de extrema importância, pois afeta a velocidade de multiplicação das leveduras. A falta de nutrientes compromete o metabolismo celular e consequentemente a eficiência da fermentação (Crum *et al.*, 2016).

Os estudos cinéticos possibilitam as comparações quantitativas entre as condições de cultivo, a partir de variáveis como fatores de conversão e velocidade de transformação obtidos através de curvas de ajuste. As representações gráficas da análise cinética foram produzidas através do programa BioLab - Software de Análise e Otimização de Processos Biológicos, Figura 7, utilizando os dados obtidos dos valores de pH, compostos fenólicos, flavonoides e DPHH em função do tempo.



Figura 7 - Página inicial do Software Biolab.

Fonte: Magalhães, 2024.

O fator de conversão do substrato em células permite calcular a quantidade de massa celular produzida por gramas de substrato consumido ($Y_{x/s}$). E o fator de conversão do produto é definido como a quantidade de produto produzido por gramas de substrato consumido ($Y_{p/s}$) (Ribeiro *et al.*, 2021). A eficiência do processo fermentativo depende da temperatura, oxigenação, pH, nutriente e tipo de SCOBY. E a produtividade calcula a velocidade de transformação do substrato em produto e $\mu_{\max}$ a velocidade específica máxima de crescimento celular.

5.6. Tratamento estatístico

A análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey foram realizados utilizando o programa SISVAR (5,0), para identificar diferenças significativas entre as médias dos resultados. Diferenças entre as médias ao nível de 5% ($p < 0,05$) foram consideradas significativas.

5.7. Viabilidade Econômica

Com a finalidade de mensurar o potencial de retorno da implantação de uma fábrica de kombucha com maracujá-do-mato, foram realizadas cotações de valores em empresas fornecedoras de matérias-primas, equipamentos, reagentes, vidrarias, EPIs e material de limpeza. Além disso, foi realizado um levantamento sobre os valores de impostos, salário base, encargos, energia, água, depreciação e análise dos experimentos físico-químicos para produção da kombucha com maracujá-do-mato.

5.7.1. Cálculo de VLP, TIR e Payback

Como resultado de indicador econômico foram utilizados o valor presente líquido (VPL), a taxa interna de retorno (TIR) e o método *payback* considerando um tempo de 10 anos ($T=10$).

O valor presente líquido, ou VPL, é um instrumento que traz para a data zero os fluxos de caixa (positivos e negativos) de um projeto de investimento. Soma-se, então, o valor investido inicial com a taxa mínima de atratividade (TMA). O VPL é uma análise do investimento e, através dele, pode-se descobrir se o projeto de investimento é viável.

A Taxa Interna de Retorno (TIR), é um percentual que pode ser usado por uma empresa ou por um investidor para avaliar se vale a pena investir em determinado projeto

ou ativo. A TIR é uma taxa de desconto hipotética, calculada a partir de uma projeção de fluxo de caixa (previsão de receitas geradas por um investimento ao longo de determinado período) quando consideramos que seu Valor Presente Líquido (VPL) é igual a zero.

Payback (“retorno”) é um cálculo que permite saber quanto tempo um investimento leva para se pagar. Enquanto o *payback* simples não considera o valor do dinheiro no tempo, o *payback* descontado adiciona uma taxa de desconto aos lucros, trazendo um cenário mais real para o investidor. Por existirem os descontos, o prazo para recuperar o investimento será superior ao do *payback* simples.

Tanto para o cálculo do VPL como para descobrir o *payback* descontado, precisamos definir a Taxa mínima de atratividade (TMA). A TMA é usada como parâmetro para definir a rentabilidade mínima que se espera obter com o investimento. Utilizaremos como referência a TMA de 18%.

Para o cálculo desses indicadores, foi utilizado o Excel.

As seguintes fórmulas foram utilizadas para determinar os fatores de viabilidade econômica (TIR, VPL, *Payback* simples e *Payback* descontado).

$$VPL = \sum_{j=1}^n \frac{FC_j}{(1 + TMA)^j}$$

Onde: j= período de cada fluxo; FC= fluxo de caixa; TMA= taxa mínima de atratividade e n= período de tempo.

$$\sum_{i=1}^n \frac{FC_i}{(1 + TIR)^i} - I_0 = 0$$

Onde: FC= fluxos de caixa, n= período final do investimento; i= período de cada investimento; e I_0 = investimento inicial.

$$Payback \text{ simples} = \frac{Payback \text{ simples}}{Geração \text{ de Caixa}}$$

$$Payback \text{ descontado} = \frac{Investimento}{Saldo \text{ Descontado}}$$

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Caracterização físico-química da polpa de maracujá-do-mato

Os resultados das análises físico-químicas da polpa do maracujá-do-mato se encontram na Tabela 1. Estes valores foram comparados com o Regulamento Técnico para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) estabelecidos para polpa de maracujá (*Passiflora spp.*) (Brasil, 2000) e com dados relatados por autores que estudaram o maracujá-do-mato. Segundo Santos (2006), é muito importante o conhecimento das características físicas e químicas do maracujá, pois essas informações permitem que sejam avaliadas as propriedades organolépticas e de sabor dos frutos, garantindo a sua qualidade para a indústria e para o mercado *in natura*.

Tabela 1 - Caracterização físico-químicas da polpa *in natura* do maracujá-do-mato.

Parâmetros	Análises	PIQ
pH	2,75±0,01	2,7 a 3,8
Sólidos solúveis (°Brix), a 20 °C (SST)	11,33±0,15	11,00*
Açúcares redutores (mg/mL)	37,36±0,33	-
Açúcares não redutores (mg/ml)	10,51±0,23	-
Açúcares totais (mg/ml)	47,87±1,07	-
Acidez titulável expressa em ácido acético (%) (ATT)	3,93±0,25	2,5*
Proteínas (g)	0,67±0,03	0,8
Umidade (%)	89,98±0,02	-
Cinzas totais (%)	0,83±0,01	-
Vitamina C (mg/100mL)	17,61±1,04	-

*valores mínimos aceitáveis. PIQ: Padrões de Identidade e Qualidade.

Fonte: Magalhães, 2024.

Como pode ser observado na Tabela 1, o valor médio do pH da polpa de maracujá-do-mato neste trabalho foi de 2,75, estando dentro do limite exigido pelo PIQ, que estabelece o valor mínimo de 2,70 e o valor máximo de 3,80. Esse valor está próximo ao valor de pH = 3,0 encontrado por Santos *et al.* (2021).

A determinação do pH é muito importante para verificar se os microrganismos utilizados no processo fermentativo conseguirão sobreviver ao pH do alimento. O pH da polpa do maracujá-do-mato apresentou um resultado compatível com os trabalhos dos autores Alves *et al.* (2020), que encontraram um pH variando de 2,7 a 3,2 e de Guedes *et al.* (2017), que encontraram o valor médio de pH = 2,8 na caracterização química do maracujá-do-mato cultivado em sistema orgânico.

O teor de sólidos solúveis totais (SST) é utilizado para indicar o grau de maturação da fruta: quanto maior esse índice, maior a quantidade de açúcares presente na polpa da

fruta, que ajudará no processo fermentativo. A média do teor de sólidos solúveis totais neste estudo foi de 11,33 °Brix nos frutos de *Passiflora cincinnata* Mast. Oliveira *et al.* (2008), Barbosa *et al.* (2012) e Guedes *et al.* (2017), estudando o maracujá-do-mato, encontraram valores de sólidos solúveis totais de 10,22 °Brix, 10,22 a 14,04 °Brix e 11,2 °Brix, respectivamente. Alves *et al.* (2019), através da caracterização físico-química dos frutos *Passiflora cincinnata*, constatou que o teor de SST foi de 11,23 °Brix. Os valores encontrados por esses autores foram próximos ao do presente estudo.

A quantidade de açúcar presente na fruta do maracujá-do-mato depende do genótipo, do grau de maturação da fruta e das condições climáticas do local em que foi cultivada. Conforme apresentado no estudo em questão e em comparação com os achados de Cafieiro *et al.* (2022), destaca diferenças significativas nas concentrações medidas de açúcares totais, redutores e não redutores. No estudo atual, a concentração de açúcares totais foi identificada como 47,87 mg/mL, subdividida em 37,36 mg/mL para açúcares redutores e 10,51 mg/mL para açúcares não redutores. Este perfil sugere uma predominância de açúcares redutores na composição. Em contraste, o estudo de Cafieiro *et al.* (2022) reportou concentrações consideravelmente mais elevadas de açúcares totais em licor de maracujá do mato, alcançando 39,76 g/100 mL, com uma divisão de 23,20 g/100 mL para açúcares redutores e 16,51 g/100 mL para não redutores. A conversão das unidades para uma base comparável revela que o estudo de Cafieiro *et al.* (2022) demonstrou uma quantidade significativamente maior de açúcares, tanto totais quanto subdivididos, quando comparado ao presente estudo.

A polpa de maracujá-do-mato apresentou o teor de acidez em ácido acético de 3,93%, maior do que encontrado por Nagato *et al.* (2003), com acidez variando de 2,7 a 3,90 %, ao avaliarem os parâmetros físicos e químicos e a aceitabilidade sensorial de sucos de frutas integrais, maracujá e uva, de diferentes marcas comerciais brasileiras. Araujo *et al.* (2002), pesquisando frutos de maracujá-do-mato cultivados em condições de sequeiro, obtiveram resultado de 3,91% expresso em ácido acético, semelhante ao valor médio do estudo atual. Segundo Nagato *et al.* (2003), sucos de maracujá com acidez entre 2,7 e 3,9% apresentam uma maior aceitabilidade sensorial.

A concentração de proteínas da polpa do maracujá-do-mato foi 0,67 g/100g, valores superiores ao estabelecido pela tabela PIQ (2000), que são de 0,8 para *Passiflora sp.*

O teor de umidade e de cinzas da polpa do maracujá-do-mato foram de 89,98 % e 0,83 %, respectivamente. Esses valores estão próximos ao encontrado por Araújo *et al.* (2009), 88 % para umidade e 0,81 % para cinzas.

O maracujá é conhecido por ser uma fruta rica em vitaminas, principalmente a vitamina C. Observando a análise de vitamina C, a polpa de maracujá-do-mato apresentou uma média maior, com 17,61 mg/100 g, do que a quantidade determinada por Araújo *et al.* (2009), de 10,73 mg/100 g. De acordo com a tabela de composição química da polpa de maracujá-do-mato de Franco (2007), encontram-se valores iguais a 15,16 mg de vitamina C/100 g e de 19,8 mg/100g na TACO (2011), valores próximos ao apresentado no presente estudo.

Os resultados encontrados na caracterização físico-química da polpa do maracujá-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.) foram compatíveis com o PIQ (2000) e com a TACO (2011), demonstrando ser uma ótima opção para produção de uma kombucha com sabor exótico, para uso industrial e para consumo *in natura*, além de apresentar um elevado potencial antioxidante, podendo auxiliar na proteção contra danos oxidativos (Leal *et al.*, 2021).

6.2. Caracterização físico-química das kombuchas com açúcar cristal e demerara

O pH do chá de kombucha antes da inoculação foi de 5,02 para o chá com açúcar demerara e de 5,34 para o chá com açúcar cristal. Após a adição do starter, que apresenta um pH ácido, no tempo zero, os valores de pH foram 4,01, 4,03, 4,06 e 4,01, para kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1), kombucha com açúcar demerara e sem maracujá-do-mato (Dm 0), kombucha com açúcar cristal e com maracujá-do-mato (Cr 1) e kombucha com açúcar cristal e sem maracujá-do-mato (Cr 0), respectivamente (Figura 8). Após 360 h, pode ser observada a diminuição do pH nas amostras, devido ao consumo dos açúcares presentes no meio e ao aumento da concentração dos ácidos orgânicos, produzidos pelo metabolismo das bactérias acéticas presente no SCOBY (Rodrigues *et al.*, 2018).

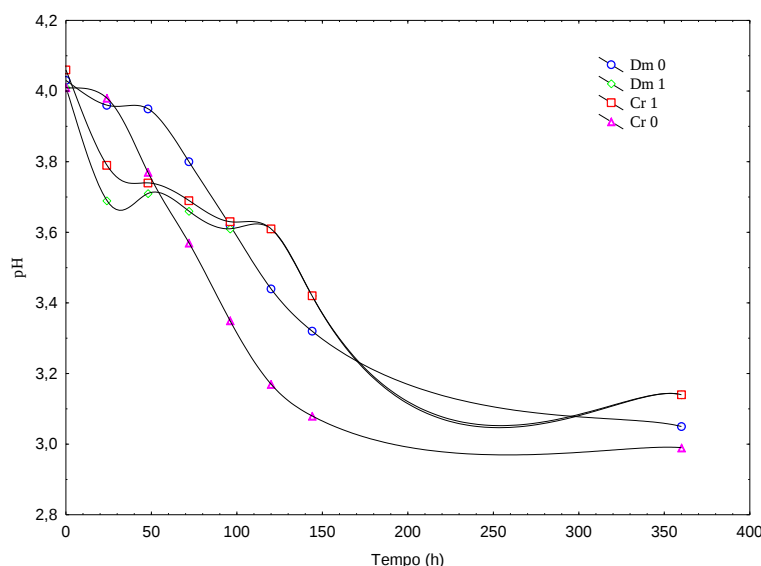


Figura 8 - pH das kombuchas durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

Ao término da saborização com maracujá-do-mato e fermentação, tanto a kombucha com açúcar demerara quanto a adicionada de açúcar cristal, apresentaram pH 3,14 (Tabela 2). Nascimento e Lima (2019) estudaram a influência de diferentes fontes de açúcar sobre as propriedades físico-químicas da kombucha, e encontraram um valor de pH 3,36 em kombuchas com açúcar cristal, valor próximo ao encontrado no presente trabalho. Pezzini (2021) analisou uma kombucha de maracujá produzida industrialmente e obteve o pH = 3,2. Miranda *et al.* (2022) ao avaliarem a atividade antibacteriana de kombuchas produzidas e comercializadas no Brasil, a kombucha saborizada com maracujá apresentou pH = 3,0, resultado que está de acordo com o registrado pelo presente estudo.

Tabela 2 - pH ao final da fermentação das kombuchas.

Amostra	pH
kombucha com açúcar demerara	3,05 ^a ± 0,04
kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato	3,14 ^b ± 0,04
kombucha com açúcar cristal	2,99 ^a ± 0,04
kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato	3,14 ^b ± 0,04

Nota: Dados apresentados como médias ± desvio padrão (n=3). Valores com letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Magalhães, 2024.

Na tabela 2, observar-se que o pH das kombuchas com açúcar demerara e cristal sem maracujá-do-mato foram 3,05 e 2,99. Bruini (2019), ao analisar os parâmetros físico-químicos da kombucha com chá preto de uva, encontrou um pH 3,19. Os resultados do

presente trabalho estão também bem próximos dos registrados por Barbosa *et al.* (2022), que observou pH 3,5 após 15 dias de fermentação da kombucha com chá preto.

O valor de pH baixo é um parâmetro importante e desejado na produção da kombucha, pois age como um protetor, propiciando um ambiente favorável para o crescimento das bactérias e leveduras do SCOBY e impede o crescimento de microrganismos patogênicos (Santos *et al.*, 2019). Brandão e Maciel (2021) encontraram em seu estudo na produção da kombucha uma faixa de pH final entre 2,72 e 4,44 e associaram a diminuição do pH do meio à produção de ácidos orgânicos como o ácido acético e ácido lático.

A Instrução Normativa nº 41/2019 (Brasil, 2019) estabelece que os valores de pH para a bebida kombucha podem variar de 2,5 a 4,2. Todos os valores de pH encontrados neste estudo estão dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação para kombucha, variando de 2,99 a 3,14 (Tabela 2). Valores de pH abaixo de 2,5 contêm uma alta concentração de ácido acético, colocando em risco a saúde do consumidor, uma vez que pode ocasionar problemas dentários e gastrointestinais. Da mesma forma, um pH acima de 4,2 pode indicar contaminação e comprometer a segurança biológica da bebida (Mukherjee *et al.*, 2022).

Na tabela 2, observar-se que, após 15 dias de fermentação, houve diferença significativa no valor de pH entre as kombuchas com açúcar demerara e cristal.

O teor de sólidos solúveis totais são os compostos solúveis presentes no chá somados ao açúcar adicionado para a fermentação. O teor de sólidos solúveis da kombucha no início da fermentação foi maior na amostra com açúcar cristal 6,8 °Brix, do que na kombucha com açúcar demerara 6,3 °Brix, como pode-se verificar na Figura 9.

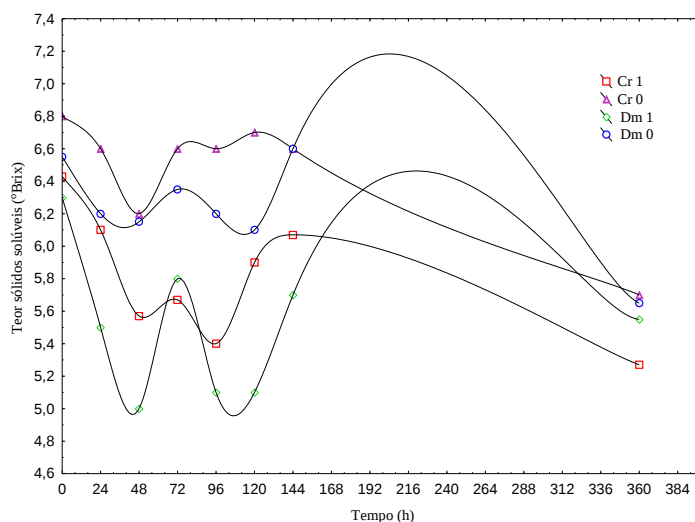


Figura 9 - Teor de sólidos solúveis durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

Os valores de °Brix diminuíram em todas as amostras; a kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato apresentou o menor valor, 5,3 °Brix, enquanto as kombuchas com açúcar demerara e cristal sem maracujá-do-mato apresentaram o maior valor, 5,7 °Brix. De acordo com Silva (2019), a diminuição do °Brix demonstra que o SCOBY está sadio. O comportamento cinético da fermentação está de acordo com o observado por Santos *et al.* (2018), em que, durante o processo fermentativo, houve redução do pH e do teor de sólidos solúveis totais. O consumo de açúcares pelas leveduras e pelas bactérias presentes na kombucha faz com que os sólidos solúveis reduzam.

Pereg *et al.* (2021) observaram o aumento do teor de sólidos solúveis totais durante a fermentação, assim como no presente trabalho, e associaram esse aumento à produção de novos compostos, como o de celulose flutuante. Algumas cepas de *Acetobacter* são capazes de produzir uma matriz de celulose durante a fermentação. Essa matriz contribuir para o aumento dos SST devido à sua capacidade de reter água e outros compostos solúveis do meio.

Kluz *et al.* (2022) analisaram a composição microbiológica e físico-química de 6 amostras de kombuchas caseiras usando diferentes tipos de açúcares e apresentaram, após 14 dias de fermentação, um brix de 5,6, na amostra de kombucha com chá preto e açúcar cristal. Kayisoglu *et al.* (2021), ao avaliarem as propriedades físicas e químicas de kombucha preparadas com diferentes tipos de chás, obtiveram SST = 5,45 °Brix para kombucha preparada com chá preto, valor próximo do encontrado neste estudo, SSP = 5,7 °Brix.

Na Tabela 3, pode-se observar que houve uma diferença significativa no teor de sólidos solúveis nas duas amostras analisadas de kombucha com açúcar cristal e com maracujá-do-mato e de kombucha com açúcar demerara e com maracujá-do-mato, sendo 5,3° Brix para com o açúcar cristal e 5,6 °Brix para com o açúcar demerara.

Tabela 3 - Sólidos solúveis totais (°Brix) ao final da fermentação das amostras de kombucha, t = 360 h.

Amostra	SSP
kombucha com açúcar demerara	5,7 ^a ± 0,02
kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato	5,6 ^a ± 0,02
kombucha com açúcar cristal	5,7 ^a ± 0,02
kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato	5,3 ^b ± 0,02

Nota: Dados apresentados como médias ± desvio padrão (n=3). Valores com letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Magalhães, 2024.

A concentração de açúcar redutor aumentou em todas as amostras de kombucha (Figura 12). Segundo Periotto *et al.* (2022) e Santos *et al.* (2018), o aumento na concentração de açúcar redutor indica que, durante o processo fermentativo as leveduras e as bactérias acéticas hidrolisaram a sacarose presente no chá, convertendo-a em frutose e glicose. As quais serão utilizadas como fonte de energia, na síntese de biomassa microbiana e formação de celulose (Zubaidah *et al.*, 2017).

Neste estudo pode-se observar um aumento no conteúdo de açúcares redutores de 1,71 g/L para 6,16 g/L, na kombucha Cr 0, de 2,40 g/L para 6,05 g/L, na kombucha Cr 1, de 2,40 g/L para 6,09, na kombucha Dm 0 e de 3,82 g/L para 5,93 g/L, na kombucha Dm 1 (Figura 10). De Souza (2022), ao caracterizar uma kombucha a base de chá verde, reportou um acréscimo no conteúdo de açúcares redutores de 1,70 g/L para 10,04 g/L, após 7 dias de fermentação, valor maior do que encontrado neste estudo.

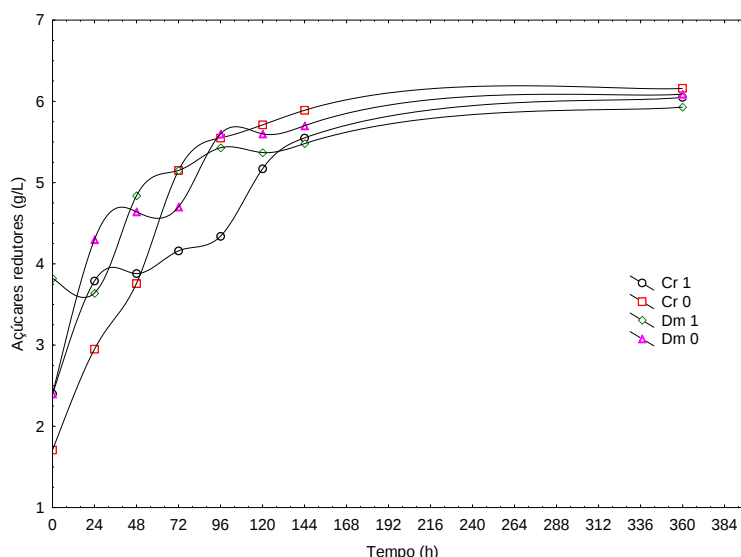


Figura 10 - Concentração de açúcares redutores (g/L) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

Santos *et al.* (2017) ao realizarem a caracterização de uma kombucha com chá preto encontraram o valor de açúcar redutor de 3,17 g/L, valor menor quando comparado com as kombuchas Cr 0, Cr 1, Dm 1 e Dm 0. Assim como Bruini (2019), ao avaliar os aspectos físico-químicos no processo de fabricação da kombucha, encontrou um valor menor 4,31 g/100mL de açúcar redutor. Tu *et al.* (2024) também avaliaram o teor de açúcares redutores durante a fermentação da kombucha com *Sargassum fusiforme* e os resultados demonstraram que o teor de açúcar redutor estabilizou em 5,45 mg/ml com 8 dias de fermentação, valor próximo ao da kombucha Dm 1 de 5,93 g/L.

Santos *et al.* (2018), ao estudarem kombuchas à base de chá preto e hibisco, verificaram que a kombucha de chá preto apresentou 13,90 µg de quercetina/mL de flavonoides, valor bem próximo ao encontrado no presente estudo para kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato, 13,80 µg de quercetina/mL (Figura 11). O chá preto contém uma alta quantidade de flavonoides que são responsáveis pelo desenvolvimento de sabor e cor da kombucha.

As kombuchas com açúcar cristal e demerara e com maracujá-do-mato apresentaram as maiores concentrações de flavonoides, 13,80 e 14,10 µg de quercetina/mL, respectivamente, Figura 11. Isso pode ser devido à presença de compostos fenólicos existentes na polpa do maracujá-do-mato que foi utilizado na segunda fermentação para saborização da bebida. Esses flavonoides presentes no maracujá-do-mato e no chá preto têm capacidade antioxidante, bem como atuam como agentes redutores e sequestradores

de radicais livres, podendo ajudar na prevenção de doenças, com ação anti-inflamatória, antiviral, antialérgica, anticarcinogênica e anti-hipertensiva (Araújo *et al.*, 2019; Costa, 2017; Gadioli *et al.*, 2018; Olba; Lima, 2022). Os flavonoides também possuem efeito antibacteriano contra *E. coli* e *S. aureus* (Herwin; Siska, 2022). As kombuchas com açúcar demerara e cristal sem maracujá-do-mato apresentaram as menores concentrações de flavonoides, 10,62 µg de quercetina/mL e 10,70 µg de quercetina/mL, respectivamente.

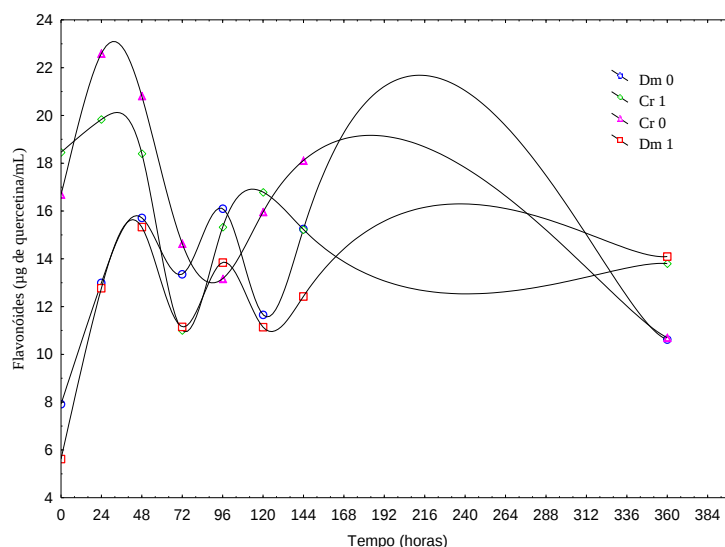


Figura 11 - Concentração de flavonoides durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

Um dos principais constituintes das folhas do chá *Camelia sinensis* são os compostos fenólicos, em especial os flavonoides (quercetina, miricetina, canferol, teaflavinas e catequinas), os taninos (ácido gálico) e as teaflavinas. As teaflavinas são as substâncias responsáveis por parte da cor alaranjada e do sabor adstringente da infusão de chá preto. A atividade antioxidante da kombucha é derivada dos compostos fenólicos produzidos durante o processo de fermentação (Santos *et al.*, 2019). Os compostos fenólicos são formados por estruturas químicas que apresentam anéis aromáticos e hidroxilas e denominados antioxidantes de alto nível, pois conseguem eliminar espécies de radicais livres e ativos de oxigênio, sendo os responsáveis pelas propriedades funcionais da bebida (Souza *et al.*, 2022). A variação dos compostos fenólicos ocorre devido à época da colheita e ao local de armazenamento, além das condições de crescimento e processamento das folhas do chá de *Camelia sinensis*.

Pode-se observar, na tabela 4, que a quantidade de compostos fenólicos aumentou no decorrer da fermentação para todas as condições empregadas nas kombuchas analisadas. Segundo Sun *et al.* (2015) e ZANDONAI *et al.* (2020), o aumento dos compostos fenólicos é atribuído à degradação dos polifenóis em moléculas pequenas por enzimas liberadas pelas bactérias acéticas e leveduras presentes na kombucha.

Tabela 4 - Concentração de compostos fenólicos totais (μg equivalente de ácido gálico/mL de kombucha).
Compostos fenólicos totais

Amostra	0 h	96h	360h
kombucha com açúcar demerara	257,07 $\pm$ 0,7	585,4 $\pm$ 0,7	848,4 $\pm$ 0,7 ^a
kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato	391,07 $\pm$ 0,7	489,73 $\pm$ 0,7	853,73 $\pm$ 0,7 ^a
kombucha com açúcar cristal	298,4 $\pm$ 0,8	467,4 $\pm$ 0,8	904,4 $\pm$ 0,8 ^b
kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato	269,07 $\pm$ 0,8	369,73 $\pm$ 0,8	919,4 $\pm$ 0,8 ^b

Nota: Dados apresentados como médias $\pm$ desvio padrão (n=3). Valores com letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Magalhães, 2024.

As kombuchas de chá preto adicionadas de açúcares cristal ou demerara com maracujá-do-mato apresentaram as maiores concentrações de compostos fenólicos no final da fermentação, 919,4 e 853,73 $\mu\text{gEAG/mL}$, respectivamente.

Santos *et al.* (2019), ao analisarem a composição da kombucha à base de chá preto e chá verde com açúcar cristal, encontraram um resultado de compostos fenólicos de 1.116 $\mu\text{gEAG/mL}$. Cardoso *et al.* (2020), ao avaliarem o perfil fenólico da kombucha de chá preto, encontraram uma concentração de compostos fenólicos totais de 1.009 $\mu\text{gEAG/mL}$. Por sua vez, Kallel *et al.* (2012) obtiveram uma concentração de compostos fenólicos totais igual a 1.080 $\mu\text{gEAG/mL}$, durante duas semanas de fermentação da kombucha com chá preto, valores próximos ao do presente estudo para a kombucha com açúcar cristal, que foi de 904,4 $\mu\text{gEAG/mL}$.

Já o valor dos compostos fenólicos da kombucha com açúcar demerara observado neste trabalho foi superior (848,4 $\mu\text{gEAG/mL}$) ao encontrado por Santos *et al.* (2019), que obtiveram o valor de 270 $\mu\text{gEAG/mL}$. Observamos que nesse trabalho o conteúdo de compostos fenólicos das kombuchas foi maior do que o encontrado por Santos *et al.* (2018) de 813,10 $\mu\text{gEAG/mL}$.

Não houve diferença significativa nas concentrações de compostos fenólicos quando se empregou o açúcar demerara sem ou com maracujá-do-mato. As kombuchas com açúcar cristal também não apresentaram diferença significativa na produção de

compostos fenólicos. Por outro lado, foi possível observar que a kombucha com açúcar demerara e a com açúcar cristal apresentaram diferenças significativas. Isso demonstra a importância da escolha do substrato para melhor obtenção de compostos fenólicos que exercem um papel importante nas propriedades funcionais da kombucha as quais propiciam benefícios à saúde.

A presença de compostos fenólicos e flavonoides na kombucha tem sido associada às suas propriedades terapêuticas, como antimicrobianas, anti-inflamatórias e antioxidantes. Essas propriedades funcionais da kombucha têm contribuído para o aumento do consumo e da produção em escala industrial da bebida (Soares *et al.*, 2021; Dutta; Paul, 2019).

O método de determinação da atividade de DPPH é o mais indicado quando se pretende avaliar a ação antioxidante, pois determina a massa necessária desse para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH. A atividade de redução de radicais DPPH é uma estimativa sobre a porcentagem de inibição de radicais livres. É um método usado para determinar a capacidade antioxidante de substratos biológicos. A atividade antioxidante das kombuchas está associada à presença de compostos fenólicos. Durante o processo de fermentação, os compostos fenólicos, tais como ácido gálico, catequinas, ácido cafeico, rutina e ácido clorogênico, aumentam em razão da degradação de compostos maiores em menores por ação das enzimas produzidas (Sun *et al.*, 2015). Os compostos fenólicos doam facilmente o hidrogênio (hidroxil) em virtude da estabilização de ressonância. Essa possibilidade de doar hidrogênio confere aos compostos fenólicos uma excelente capacidade de eliminação de radicais livres, como o DPPH (Cassiano *et al.*, 2024).

Jayabalan *et al.* (2008) demonstraram a capacidade da kombucha, preparada a partir do chá preto e verde, de eliminar radicais livres. Eles relataram que os compostos fenólicos totais e a atividade de eliminação no radical DPPH e no radical hidroxila aumentaram com o tempo de fermentação, assim como no presente estudo. Malbasa *et al.* (2011) também relatou a presença de atividade antioxidante em kombuchas preparadas com chá preto e verde, com culturas mistas de bactérias acéticas.

A análise do potencial antioxidante das amostras estudadas, através da redução de radicais livres DPPH, demonstrou que o teor de compostos oxidantes está na faixa de 48,67% e 55,25% de inibição de DPPH (Tabela 5). As maiores taxa de eliminação de DPPH foram das kombuchas maracujá-do-mato, sendo que com açúcar cristal, a redução foi de 55,25% e com açúcar demerara foi de 53,55%; sem maracuja do mato, as taxas de eliminação de DPPH foram ligeiramente menores, ou seja, 48,67% com demerara e 51,45%

com cristal. O estudo apresentou taxa de eliminação de radicais DPPH como demonstrado anteriormente, maior do que a de Fu *et al.* (2014), que avaliaram a atividade antioxidante de kombuchas preparadas a partir de três substratos e obtiveram apenas 38,7% de taxa de eliminação.

Tabela 5 - DPPH (IC 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) da fermentação das amostras de kombuchas nos tempos 0h, 96h e 360h.

Amostra	0 h	96 h	360 h
kombucha com açúcar demerara	30,77 $\pm$ 0,01%	40,83 $\pm$ 0,02%	48,67 $\pm$ 0,01%
kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato	31,50 $\pm$ 0,02%	40,83 $\pm$ 0,02%	53,55 $\pm$ 0,02%
kombucha com açúcar cristal	25,36 $\pm$ 0,01%	31,88 $\pm$ 0,00%	51,45 $\pm$ 0,01%
kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato	29,71 $\pm$ 0,01%	36,78 $\pm$ 0,01%	55,25 $\pm$ 0,01%

Nota: Dados apresentados como médias $\pm$ desvio padrão (n=3).

Fonte: Magalhães, 2024.

Os valores encontrados por Ziemlewska *et al.* (2021), ao avaliarem o efeito do tempo de fermentação sobre a concentração de compostos bioativos com propriedades cosméticas e dermatológicas em extratos de Kombucha Erva-Mate, foi de 44,8% a 61,7%, valores próximos aos do presente estudo. Os resultados também estão compatíveis com os encontrados por Chu e Chen (2006), que analisaram 8 kombuchas e encontraram atividade de DPPH variando de 30% a 50%.

Pode-se verificar que as quatro amostras apresentaram atividade antioxidante com correlação positiva entre a atividade antioxidante e as variáveis flavonoides e compostos fenólicos. À medida que as concentrações de compostos fenólicos e flavonoides aumentam, houve aumento percentual da atividade antioxidante, com o aumento do DPPH (Silva *et al.*, 2016).

6.3. Análise da atividade antibacteriana

Não se obteve inibição bacteriana no teste de difusão em disco, com as amostras Cr 0, Cr 1, Dm 0 e Dm 1, para as bactérias *Salmonella sp* (CCMB281), *Staphylococcus aureus* (CCMB263) e *Escherichia coli* (CCMB261). Segundo Brandão (2021), a falta de inibição bacteriana pode estar associada ao fato de as bebidas fermentadas não serem uma substância pura, sendo constituídas por várias moléculas complexas de difícil difusão no meio. No estudo de Hohmann (2020) não houve formação de halos no método de difusão em disco, pode ter sido devido a uma possível evaporação dos compostos ao serem colocados na estufa ou pela baixa quantidade de kombucha impregnada nos discos, sendo usado apenas 10 μL .

Na tabela 6 são mostrados os resultados dos halos de inibição no teste difusão em poço dos diferentes tipos de kombucha contra as bactérias *Salmonella sp* (CCMB281), *Staphylococcus aureus* (CCMB263) e *Escherichia coli* (CCMB261). A kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato proporcionou maior inibição da bactéria *Salmonella sp*, com halo de 11,30 mm, e inibição igual das bactérias *Escherichia coli* (CCMB261) e *Staphylococcus aureus* (CCMB263), com halo de inibição de 11,05 mm. Pesquisas realizadas por Santos *et al.* (2009) demonstraram a eficiência do caldo fermentado de kombucha contra as bactérias *Salmonella typhi* (CCT -1511), com halo de inibição de 32 mm, e *Escherichia coli* (CCT - 0355), com halo de inibição de 16 mm, valores de inibição superiores aos encontrados no presente estudo.

Tabela 6 - Atividade antimicrobiana, pelo teste difusão em poço, das kombuchas.

	<i>Salmonella</i> CCMB281	<i>E. coli</i> CCMB261	<i>S. aureus</i> CCMB263
kombucha com açúcar demerara	0,0	0,0	0,0
kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato	0,0	0,0	0,0
kombucha com açúcar cristal	10,37±0,55 ^a	8,0±0,14 ^c	8,5±0,07 ^e
kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato	11,30±0,06 ^b	11,05±0,07 ^d	11,05±0,07 ^f
Cloranfenicol 100 mg/mL	33,0±1,31	32,0±1,12	34,0±1,41
Gentamicina 40 mg/mL	37,0±0,61	39,5±0,43	40,5±0,71

Nota: Dados apresentados como médias ± desvio padrão (n=3). Valores com letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Magalhães, 2024.

Sreeramulu *et al.* (2000) apontaram a atividade antimicrobiana da kombucha contra *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311) e *Escherichia coli* (ATCC 8739), com halo de inibição 20 - 25 mm e 15 - 20 mm, respectivamente, e resistência ao *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228). O autor sugere que o ácido acético gerado durante o processo fermentativo é o responsável pelo efeito inibitório da kombucha. Os ácidos orgânicos podem exercer a atividade antimicrobiana através de diferentes mecanismos, como a desestabilização da membrana, a degradação de ácidos nucleicos, a lise celular e a inibição da síntese proteica.

O diâmetro da zona de inibição para as kombuchas preparada apenas com açúcar cristal foram menores, variando de 9,87 mm a 10,92 mm para bactéria *Salmonella sp* (CCMB281), de 7,86 mm a 8,14 para bactéria *Escherichia coli* (CCMB261) e de 8,43 mm a 8,57 mm para bactéria *Staphylococcus aureus* (CCMB263). Barbosa *et al.* (2022), na análise de kombucha de chá preto com açúcar cristal no teste de difusão em disco,

apresentou um halo de inibição de 15,75 mm para *Escherichia coli* (ATTC 25922). As bactérias *Escherichia coli* (CCMB261), *Staphylococcus aureus* (CCMB263) e *Salmonella* sp (CCMB281) mostraram resistência para as bebidas kombucha com açúcar demerara e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato.

Battikh *et al.* (2012) testaram a atividade antimicrobiana contra os microrganismos *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (CIP106510), *Salmonella typhimurium* (LT2) e *Escherichia coli* (ATCC35218) da kombucha com chá preto e da kombucha neutralizada com Hidróxido de Sódio (1 mol/L). Através da neutralização, os resultados sugeriram que a atividade antimicrobiana da kombucha não se deve apenas aos ácidos orgânicos, mas também a outros ativos biológicos, como enzimas, proteínas e metabólitos, o que implica que sua eficácia se deve à ação sinérgica de diferentes compostos. Esses, por serem sensíveis ao calor, sofreram desnaturação ou inibição durante o processo de neutralização, reduzindo assim a atividade antimicrobiana da kombucha observada inicialmente.

A zona de inibição para *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) foi 14,5 mm, *Staphylococcus epidermidis* (CIP106510) 18,5mm, *Salmonella typhimurium* (LT2) 14,0 mm e *Escherichia coli* (ATCC35218) 11,0 mm no estudo de Battikh *et al.* (2012). Os valores de inibição para *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (CIP106510) e *Salmonella typhimurium* (LT2) foram superiores ao encontrado no presente estudo, mas o valor de inibição para a bactéria *Escherichia coli* (ATCC35218) (11,0 mm) foi próximo ao encontrado aqui para kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (11,05 mm).

As bactérias *Salmonella*, *E. coli* e *S. aureus* apresentaram maior sensibilidade para a kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato, com halo de inibição de $11,30 \pm 0,06$ mm, $11,05 \pm 0,07$ mm e $11,05 \pm 0,07$ mm, respectivamente, e menor sensibilidade para a kombucha com açúcar cristal, com halos $10,37 \pm 0,55$ mm, $8,0 \pm 0,14$ mm e $8,5 \pm 0,07$ mm, respectivamente.

Kumar e Joshi (2016) relataram que as leveduras e bactérias presentes na kombucha podem produzir moléculas de defesa antimicrobianas e os ácidos acéticos produzidos durante o processo fermentativo são os responsáveis pela atividade antimicrobiana contra uma variedade de bactérias. Hermin e Siska (2022) demonstraram que a kombucha tem uma notável potência antimicrobiana contra bactérias patogênicas como a *E. coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteria*, *Vibrio cholerae* e *Bacillus subtilis*. Essa atividade ocorreu devido à presença de ácidos orgânicos (ácido glucônico, ácido glicurônico, ácido

ascórbico e ácido acético) produzidos durante o processo de fermentação. O ácido acético danifica a estrutura da bicamada lipídica das bactérias e introduz prótons no seu citoplasma. A grande quantidade de prótons no citoplasma torna o citoplasma ácido, causando a desnaturação das proteínas plasmáticas e a perda de energia.

A concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) dos diferentes tipos de kombucha são observadas na Tabela 7. A kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato apresentou a maior eficácia, com concentração inibitória mínima de 0,375 mg/mL contra as bactérias *Salmonella sp* (CCMB281), *Staphylococcus aureus* (CCMB263) e *Escherichia coli* (CCMB261). A diferença no potencial de inibição das bactérias está relacionada ao tipo de chá, açúcar e saborização utilizada durante o processo de produção da kombucha (VALIYAN, *et al.* 2021).

Tabela 7 - Concentrações inibitórias mínimas e concentrações bactericidas mínimas da kombucha com açúcar cristal, demerara e maracujá-do-mato.

Kombucha	Bactéria <i>Salmonella sp.</i>		Bactéria <i>E. coli</i>		Bactéria <i>S. aureus</i>	
	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
kombucha com açúcar demerara	0,75 ^a	nb	0,75 ^a	nb	0,75 ^a	nb
kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato	0,75 ^a	1,5 ^b	0,75 ^a	1,5 ^b	0,75 ^a	1,5 ^b
kombucha com açúcar cristal	0,75 ^a	nb	0,75 ^a	nb	0,75 ^a	nb
kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato	0,375 ^c	1,5 ^b	0,375 ^c	1,5 ^b	0,375 ^c	1,5 ^b

nb: não houve atividade bactericida

Nota: Dados apresentados como médias $\pm$ desvio padrão (n=3). Valores com letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Magalhães, 2024.

As inibições dessas bactérias são muito importantes. Algumas cepas de *Escherichia coli* são enteropatogênicas, ao produzir a toxina Shiga, responsável por causar síndrome hemolítica urêmica, insuficiência renal e diarreia hemorrágica, que é um dos problemas mais prevalentes e importantes em países em desenvolvimento, causando principalmente morte em crianças de até 5 anos de idade (Kim *et al.*, 2018). Já a *Staphylococcus aureus* é um microrganismo patogênico muito comum capaz de desenvolver uma variedade de doenças infecciosas, como infecção de pele e tecidos moles (Guo *et al.*, 2020). E as bactérias *Salmonella sp* infectam e colonizam os humanos e animais causando uma série de infecções clínicas como gastroenterite, febre entérica e bacteremia (Knodler; Elfenbein 2019). Portanto, levando em conta a importância desses patógenos na saúde pública, o

desenvolvimento de produtos com atividade inibitória e bactericida são de suma importância para sociedade.

As kombuchas com açúcar demerara, com açúcar demerara e maracujá-do-mato e com açúcar cristal apresentaram CIM de 0,75 mg/mL. Rosseto e Mikcha (2018), encontraram 25% de concentrações inibitórias mínimas da kombucha e 50% de concentração bactericida mínima frente às bactérias *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

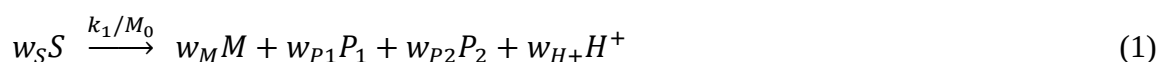
Silva *et al.* (2021) também, ao compararem kombuchas feitas por *Malvaviscus arboreus* e *Camellia sinensis*, observaram que a kombucha com o chá verde da *Camellia sinensis* foi a única que apresentou atividade antimicrobiana contra a bactéria *Staphylococcus aureus*.

As kombuchas com açúcar demerara, com açúcar demerara e maracujá-do-mato e com açúcar cristal apresentaram CIM de 0,75 mg/mL. Rosseto *et al.* (2018), encontraram as concentrações inibitórias mínimas da kombucha de 25 %, frente às bactérias *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella Typhimurium* (ATCC 14028), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Os resultados deste estudo estão de acordo com os obtidos por Coelho *et al.* (2022), em que foram encontradas as concentrações inibitórias mínimas de extrato de kombucha entre 1,56 a 6,25 mg/mL para as cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

A kombucha com açúcar cristal e a kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato apresentaram atividade bactericida na concentração de 1,5 mg/mL. Cardoso *et al.* (2018) também encontraram uma alta atividade bactericida quando os SCOBYs foram adicionados a diferentes tipos de açúcares e os fermentados foram inoculados em placas de petri contendo *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Salmonella sp.* (ATCC 4598) e *Escherichia coli* (ATCC 3328), não houve crescimento microbiano em nenhuma amostra analisada. Souza e Espósito (2009) também, ao analisarem a utilização de diferentes açúcares na preparação do kombucha, encontraram ação bactericida semelhante às encontradas no estudo para as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichea coli* e *Salmonella sp.* Os ácidos produzidos durante a fermentação especialmente pela hidrólise da sacarose possuem ação bactericida, conforme apresentado pelos estudos de Dufresne e Farnworth, que demonstraram a atividade antibactericida do ácido acético na fermentação contra as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Helicobater pylori*.

6.4. Avaliação do processo cinético da produção das kombuchas

O processo fermentativo de produção da Kombucha com maracujá-do-mato foi analisado segundo as propostas cinéticas desenvolvidas por Willibaldo (1983) para a conversão de substrato em produtos e biomassa. Dessa forma, a partir do consumo de substrato (S) por um meio de cultura inicial composto por leveduras e bactérias (M_0), observou-se a geração de dois tipos de produtos P1 (compostos fenólicos) e P2 (flavonoides), com consequente acidificação do meio (liberação de H^+) e aumento da biomassa do meio de cultura inicial. A partir dos resultados obtidos, observou-se que o processo fermentativo da kombucha pode ser descrito pela seguinte relação fisioquímica:



Segundo esta proposta (Eq. 1) o substrato é convertido em biomassa (M: leveduras e bactérias) e demais produtos da fermentação, P₁, P₂ e H^+ , por meio de um processo irreversível coordenado pela constante da taxa de reação (k_1). Assume-se, nesse caso, que este processo se inicia a partir de uma concentração inicial de substrato e biomassa, S_0 e M_0 , respectivamente. Nesta equação “w” corresponde aos coeficientes estequiométricos de cada produto da fermentação. Assim, a partir do conceito de grau de avanço ou de extensão, x , e das concentrações iniciais de cada composto no início da fermentação ($t=0$), a concentração destes componentes em um tempo t qualquer pode ser obtida através das seguintes relações;

$$C_S(t) = s_0 - w_S x_1(t) \quad (2)$$

$$C_M(t) = M_0 + w_M x_1(t) \quad (3)$$

$$C_{P_1}(t) = p_{1,0} + w_{P1} x_1(t) \quad (4)$$

$$C_{P_2}(t) = p_{2,0} + w_{P2} x_1(t) \quad (5)$$

$$C_{H^+}(t) = c_{H^+,0} + w_{H^+} x_1(t) \quad (6)$$

Derivando-se as Eqs. (2) a (6) em relação ao tempo pode-se obter as velocidades de formação e consumo de cada um destes componente como segue:

$$v_S(t) = -\frac{dC_S(t)}{dt} \quad (7)$$

$$v_M(t) = \frac{dC_M(t)}{dt} \quad (8)$$

$$v_{P1}(t) = \frac{dC_{P1}(t)}{dt} \quad (9)$$

$$v_{P2}(t) = \frac{dC_{P2}(t)}{dt} \quad (10)$$

$$v_{H+}(t) = \frac{dC_{H+}(t)}{dt} \quad (11)$$

Segundo Willibaldo (1983, Eq. 6.31 dessa referência) a velocidade total de variação da concentração de substrato pode ser dada pela soma das velocidades locais de variação da concentração de substrato relativas a cada componente ($v_{S/M}(t)$, $v_{S/P1}(t)$, $v_{S/P2}(t)$, $v_{S/H+}(t)$), acrescida da variação da concentração de substrato que se destina a processos de manutenção das atividades metabólicas dos microrganismos ($v_{S/m}(t)$). Estas variações, por sua vez, são quantificadas por meio das frações parciais (Y) que coordenam cada processo e pelo coeficiente de manutenção (m) como segue:

$$Y_{M/S} = \frac{C_M(i) - C_M(i-1)}{C_S(i-1) - C_S(i)} ; Y_{P1/S} = \frac{C_{P1}(i) - C_{P1}(i-1)}{C_S(i-1) - C_S(i)} ; Y_{P2/S} = \frac{C_{P2}(i) - C_{P2}(i-1)}{C_S(i-1) - C_S(i)} ; Y_{H+/S} = \frac{C_{H+}(i) - C_{H+}(i-1)}{C_S(i-1) - C_S(i)}$$

$$v_{S/M}(t) = \frac{v_M(t)}{Y_{M/S}} \quad (12)$$

$$v_{S/P1}(t) = \frac{v_{P1}(t)}{Y_{P1/S}} \quad (13)$$

$$v_{S/P2}(t) = \frac{v_{P2}(t)}{Y_{P2/S}} \quad (14)$$

$$v_{S/H+}(t) = \frac{v_{H+}(t)}{Y_{H+/S}} \quad (15)$$

$$v_{S/m}(t) = mC_M(t) \quad (16)$$

Desta forma, ainda segundo Willibaldo (1983), pode-se obter a seguinte relação:

$$v_S(t) = v_{S/M}(t) + v_{S/P1}(t) + v_{S/P2}(t) + v_{S/H+}(t) + v_{S/m}(t) \quad (17)$$

Introduzindo-se as Eqs. (12) à (16) na Eq. (17) chega-se a:

$$v_S(t) = \frac{v_M(t)}{Y_{M/S}} + \frac{v_{P1}(t)}{Y_{P1/S}} + \frac{v_{P2}(t)}{Y_{P2/S}} + \frac{v_{H+}(t)}{Y_{H+/S}} + mC_M(t) \quad (18)$$

Segundo essa proposta, a partir dos resultados experimentais obtidos para $C_S(t)$, $C_M(t)$, $C_{P1}(t)$, $C_{P2}(t)$ e $C_{H+}(t)$, é possível, para este caso, derivar estes dados

experimentais em relação ao tempo e fazer um ajuste não linear de cinco dimensões ($v_M(t)$, $v_{P1}(t)$, $v_{P2}(t)$, $v_{H+}(t)$ e $C_M(t)$), o que, por sua vez, possibilitaria estimar os valores de $Y_{M/S}$, $Y_{P1/S}$, $Y_{P2/S}$, $Y_{H+/S}$ e m . Uma dificuldade adicional que ocorre no processo fermentativo da Kombucha é que, uma vez que tanto as leveduras como as bactérias tendem a se associar à massa celulósica que fica na superfície, dado a baixa densidade tanto da massa como dos microrganismos presentes nesse processo, a determinação das variações de $C_M(t)$ apresentam problemas técnicos de execução. No entanto, tal dificuldade, uma vez validada hipótese cinética adotada, pode ser contornada por meio das Eqs. (2) e (3). Assim, considerando a Eq. (2) e (3) bem como a derivada de (3) em relação ao tempo, temos:

$$C_S(t) = s_0 - w_S x_1(t)$$

logo,

$$x_1(t) = (s_0 - C_S(t))/w_S \quad (19)$$

$$C_M(t) = M_0 + v_M x_1(t)$$

logo,

$$v_M(t) = w_M v_{x1}(t) \quad (20)$$

Uma vez que é possível obter tanto $x_1(t)$ como a sua derivada em relação ao tempo ($v_{x1}(t)$) a partir dos dados experimentais disponíveis, pode-se inserir as Eqs (3) e (20) na Eq. (18) para obtermos a seguinte relação:

$$v_S(t) = \frac{w_M v_{x1}(t)}{Y_{M/S}} + \frac{v_{P1}(t)}{Y_{P1/S}} + \frac{v_{P2}(t)}{Y_{P2/S}} + \frac{v_{H+}(t)}{Y_{H+/S}} + m(M_0 + w_M v_{x1}(t)) \quad (21)$$

Da análise da Eq. (21) nota-se que é possível, a partir dos dados experimentais obtidos, calcular o grau de avanço experimental e as demais variações de cada componente em relação ao tempo. Isto por sua vez possibilita, sob esta perspectiva, um ajuste não linear de $v_S(t)$ em relação às cinco variáveis ou dimensões de processo ($v_M(t)$, $v_{P1}(t)$, $v_{P2}(t)$, $v_{H+}(t)$ e $x_1(t)$), o que, por sua vez, possibilita a obtenção dos parâmetros que coordenam esse processo ($Y_{M/S}$, $Y_{P1/S}$, $Y_{P2/S}$, $Y_{H+/S}$, w_M e m). Este processo foi realizado no presente trabalho e os resultados podem ser observados a seguir. Cabe ainda ressaltar alguns parâmetros de análise cinética e de produtividade que também são abordados aqui devido a sua relevância na análise e otimização de processos biotecnológicos que envolvem a

participação de microrganismos. São eles; a velocidade específica de conversão, μ , e a produtividade ($\mathcal{P}$) definidas como segue:

$$\mu_M(t) = \frac{v_M(t)}{C_M(t)} \quad (22)$$

$$\mu_{P1}(t) = \frac{v_{P1}(t)}{C_M(t)} \quad (23)$$

$$\mu_{P2}(t) = \frac{v_{P2}(t)}{C_M(t)} \quad (24)$$

$$\mu_{H+}(t) = \frac{v_{H+}(t)}{C_M(t)} \quad (25)$$

e;

$$\mathcal{P}_M(t) = \frac{dC_M(t)}{t_f(t)} \quad (26)$$

$$\mathcal{P}_{P1}(t) = \frac{dC_{P1}(t)}{t_f(t)} \quad (27)$$

$$\mathcal{P}_{P2}(t) = \frac{dC_{P2}(t)}{t_f(t)} \quad (28)$$

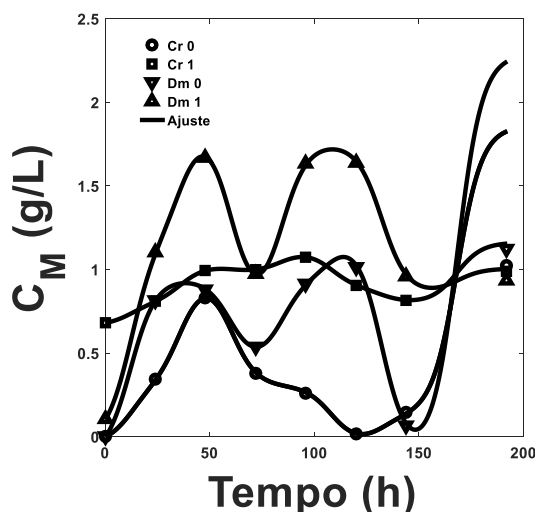
$$\mathcal{P}_{H+}(t) = \frac{dC_{H+}(t)}{t_f(t)} \quad (29)$$

Nas Eqs. (22) a (29) o subscrito refere-se à velocidade específica (μ) de variação do componente especificado em (h^{-1}) e à produtividade ($\mathcal{P}$) em relação à formação desse componente no decorrer do processo fermentativo. Neste caso, $t_f(t)$, se refere ao tempo médio decorrido da fermentação no qual a variação $dC(t)$ foi observada. Os resultados provenientes destas análises estão discutidos a seguir.

A fermentação das kombuchas foi iniciada com apenas uma película de celulose, mas, com o decorrer do processo fermentativo, pode-se observar na representação gráfica (Figura 12), obtida através do programa Biolab, que ao terceiro dia todas as amostras apresentaram aumento da biomassa e a formação de uma película fina na superfície do meio de cultura. De acordo com a Figura 12, a concentração da biomassa foi maior na amostra Dm 1, com $C_M = 1,67 \text{ g/L}$, do que nas kombuchas Dm 0, Cr 0 e Cr 1, que apresentaram $C_M = 1,13 \text{ g/L}$, $C_M = 1,02 \text{ g/L}$ e $C_M = 1,07 \text{ g/L}$, respectivamente. As bactérias acéticas utilizam a sacarose como fonte de carbono para produzir mais biomassa, formando um novo SCOBY. Os nutrientes presentes no chá são essenciais para o crescimento dos

microrganismos e o aumento da concentração da biomassa (SHARMA e BHARDWAJ, 2019).

Figura 12 - Perfil da concentração de biomassa (C_M) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).



Fonte: Magalhães (2024).

De Filipis *et al.* (2018) avaliaram o crescimento das bactérias acéticas em função da temperatura e do tempo; o resultado foi o aumento da produção de celulose pelas bactérias acéticas e, conseqüentemente, o aumento da massa da película celulósica, assim como o observado neste estudo.

Os produtos do processo fermentativo das kombuchas são gerados por duas vias metabólicas: a via anaeróbia, para formação de etanol e CO_2 pelas leveduras presentes no meio, e a via aeróbia, em que as bactérias promovem a oxidação do etanol produzido pelas leveduras em ácido acético. As leveduras também utilizam a frutose para produção de ácido acético e, conseqüentemente, diminuição do pH e aumento das concentrações dos íons H^+ , dos flavonoides e dos compostos fenólicos, que podem ser observados nas Figuras 13, 14 e 15.

As concentrações dos compostos fenólicos aumentaram durante toda a fermentação, atingindo o valor máximo em torno de 192 horas de fermentação, com $C_{P1} = 0,92$ g/L, na kombucha Cr 1, $C_{P1} = 0,90$ g/L, na kombucha Cr 0, $C_{P1} = 0,85$ g/L, na kombucha Dm 1 e $C_{P1} = 0,85$ g/L, na kombucha Dm 0 (Figura 15). Estes resultados corroboram com Jayabalan *et al.* (2008), Villarreal-Soto *et al.* (2019) e Cardoso *et al.*

(2020) observaram que a kombucha produzida com folhas de chá preto contém alta concentração de compostos fenólicos totais.

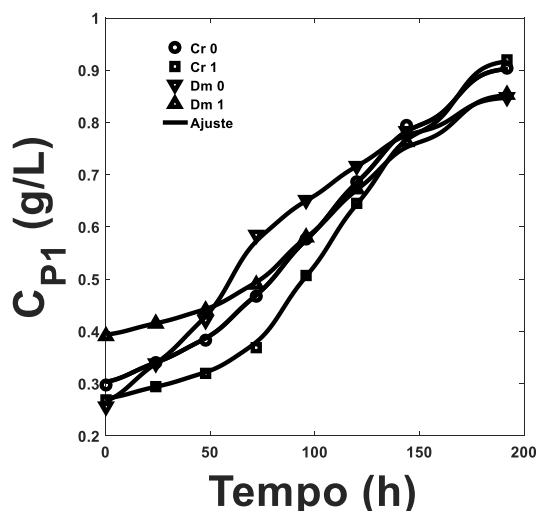


Figura 13 - Concentração de compostos fenólicos (C_{P1}) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

O aumento da concentração de compostos fenólicos totais durante a fermentação ocorre por meio da biotransformação de alguns compostos fenólicos da classe das catequinas que estão presentes nas folhas da *Camelia sinensis* (Jayabalan *et al.*, 2008). As catequinas liberadas pelas células microbianas no meio ácido sofrem ação das enzimas excretadas pelas bactérias e leveduras presente no SCOBY; essas bactérias e leveduras hidrolisam as cadeias longas dos polifenóis e flavonoides, resultando em novas moléculas de menor peso que ajudam no aumento da concentração dos polifenóis totais durante a fermentação (Chakravorty *et al.*, (2016) Jayabalan *et al.*, 2007; La Torre, *et al.*, 2021).

A capacidade da kombucha de combater eficazmente os radicais livres pode ser explicada pela alta concentração de compostos fenólicos, especialmente os flavonoides, presentes nos substratos utilizados em sua produção. Os flavonoides têm a capacidade de atuar como doadores de elétrons para inibir a oxidação de radicais livres e espécies ativas de oxigênio (Miranda *et al.*, 2022; Dwiputri; Feroniasanti, 2019).

A concentração de flavonoides sofreu oscilações no decorrer do processo fermentativo, como pode ser observado na Figura 14. O conteúdo de flavonoides começou a aumentar após 30 horas de fermentação; a maior concentração encontrada foi de $C_{P2} = 26,9 \cdot 10^{-2}$ g/L na kombucha Dm 1, $C_{P2} = 15,7 \cdot 10^{-2}$ g/L na kombucha Dm 0, $C_{P2} = 19,8 \cdot 10^{-2}$ g/L na kombucha Cr 0 e $C_{P2} = 20,8 \cdot 10^{-2}$ g/L na kombucha Cr 1. Em torno de 50-70 horas

de fermentação houve diminuição da concentração de flavonoides, que pode ser devido à degradação dos flavonoides, em razão do aumento de ácidos fenólicos como ácido gálico e ácido cinâmico, como descrito por Noronha *et al.* (2022).

A concentração final de flavonoides presente nas kombuchas é o resultado da soma das concentrações de flavonoides presentes na polpa de maracujá-do-mato, adicionado para saborização, e das concentrações de flavonoides sintetizados pelos microrganismos durante a fermentação.

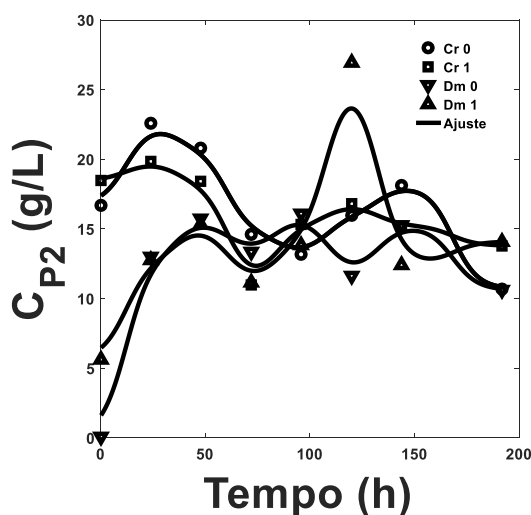


Figura 14 - Concentração de flavonoides (V_{P2}) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

Neste estudo, verificou-se que as concentrações de íons hidrogênio (H^+) de todas as amostras de kombucha aumentou durante todo o período da fermentação, atingindo sua concentração máxima em 192 horas de fermentação (Figura 15). A kombucha Cr 0 obteve a maior concentração de íons H^+ , $C_{H^+} = 10,2 \cdot 10^{-4}$ g/L, seguida pelas kombuchas Dm 0, $C_{H^+} = 9 \cdot 10^{-4}$ g/L, e as kombuchas Dm 1 e Cr 1, $C_{H^+} = 7,2 \cdot 10^{-4}$ g/L. A concentração de íons H^+ é um fator que pode ativar ou inibir o desenvolvimento de espécies de microrganismos nos alimentos (Skocińska *et al.*, 2017). Então, o aumento da concentração dos íons H^+ reflete na diminuição do pH do meio, proporcionando um efeito protetor contra agentes contaminantes do processo fermentativo da kombucha.

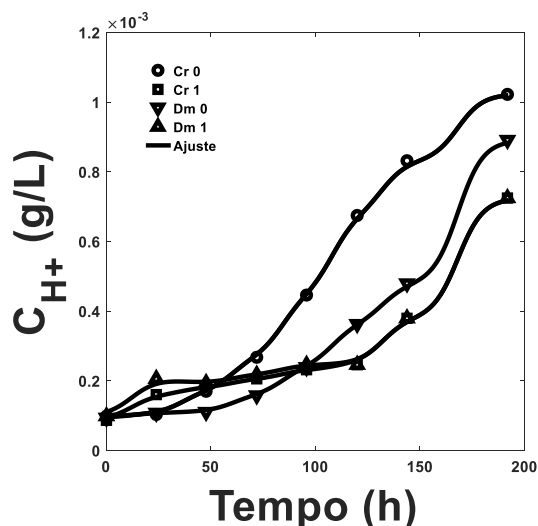


Figura 15 - Perfil da concentração de íons H^+ (C_{H^+}) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

De acordo com Tsuru *et al.* (2021), seria esperado apenas redução da concentração de substrato (C_S), uma vez que os açúcares são, neste caso, a principal fonte de carbono para manutenção e multiplicação celular. Na Figura 16, observa-se o aumento da concentração de substrato durante a fermentação, que pode estar associado à produção de outros compostos, como vestígios flutuantes de celulose, e ao processo de glicólise da sacarose pelas enzimas produzidas pelas bactérias e leveduras, que quebram as moléculas de sacarose em glicose e frutose.

A concentração do substrato nas amostras de kombucha aumenta novamente próximo ao final da primeira fermentação (Figura 16), quando houve a formação da nova película de celulose na superfície do recipiente de fermentação. As bactérias acéticas são as responsáveis pela produção do novo biofilme, que é composto por celulose pura, com grande capacidade de retenção de água e alta estabilidade (Emiljanowicz; Malinowska-Panczyk, 2020).

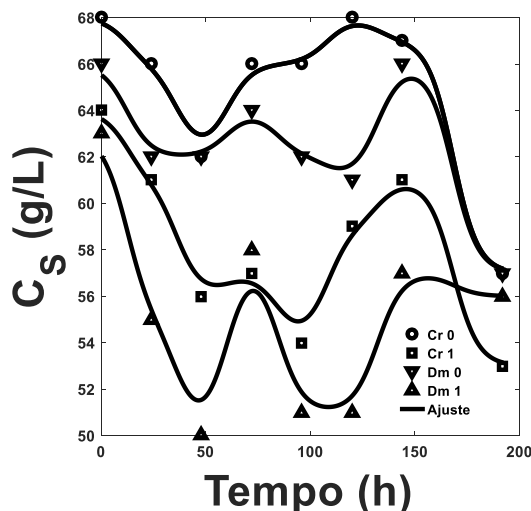


Figura 16 - Concentração de substrato (C_S) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

Nas Figuras 17, 18, 19 e 20 observam-se as velocidades de formação da biomassa (V_M), velocidade de formação dos compostos fenólicos (V_{P1}), velocidade de formação dos flavonoides (V_{P2}), velocidade de formação de íons H^+ (V_{H^+}) e velocidade de consumo do substrato (V_S), respectivamente. A velocidade do processo fermentativo depende da disponibilidade do substrato, de um pH ótimo para atividade catalítica das enzimas e do crescimento das leveduras e bactérias presentes no meio (Magalhães *et al.*, 2019).

As maiores velocidades de formação de biomassa ocorreram em 10, 90 e 170 horas de fermentação, quando o sistema atingiu uma alta eficiência do processo fermentativo. No início da fermentação há uma maior disponibilidade do substrato que será utilizado pelas bactérias acéticas para formação de uma nova camada de celulose (SCOBY). Em 168 horas foram adicionadas as polpas de maracujá-do-mato, que aumentaram a disponibilidade de substrato para as bactérias.

As maiores velocidades de formação de biomassa foram $v_M = 0,015$ g/L/h, kombucha Cr 1, $v_M = 0,02$ g/L/h, kombucha Cr 0, $v_M = 0,04$ g/L/h, kombucha Dm 1 e kombucha Dm 0, Figura 17.

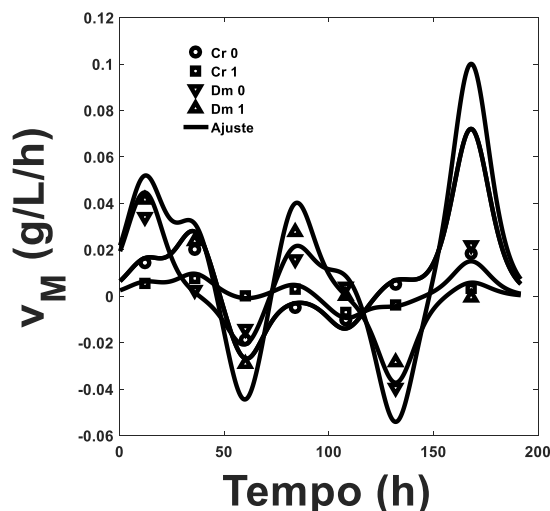


Figura 17 – Velocidade de formação da biomassa (V_M) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

Observou-se uma variação na velocidade de formação dos compostos fenólicos durante o decorrer da fermentação. O aumento da velocidade de formação dos compostos fenólicos ocorre devido à maior disponibilidade de açúcar no meio, que potencializa a fermentação e, consequentemente, aumenta a velocidade das reações de formação desses compostos.

O aumento da velocidade de formação dos compostos fenólicos (V_{P1}) das quatro fermentações da kombucha ocorreu entre 60 e 170 horas de fermentação (Figura 18). As velocidades máximas durante o processo fermentativo foram de $V_{P1} = 6,5 \cdot 10^{-3}$ g/l/h, na kombucha Cr 1, $V_{P1} = 5,0 \cdot 10^{-3}$ g/l/h, na kombucha Cr 0, $V_{P1} = 4,3 \cdot 10^{-3}$ g/l/h, na kombucha Dm 1, em torno de 120 horas de fermentação e de $V_{P1} = 7,2 \cdot 10^{-3}$ g/l/h, na kombucha Dm 0, em 60 horas de fermentação. O aumento da velocidade em torno de 170 horas demonstra que o substrato presente na polpa do maracujá-do-mato foi utilizado pelos microrganismos presentes na fermentação para produção de compostos fenólicos.

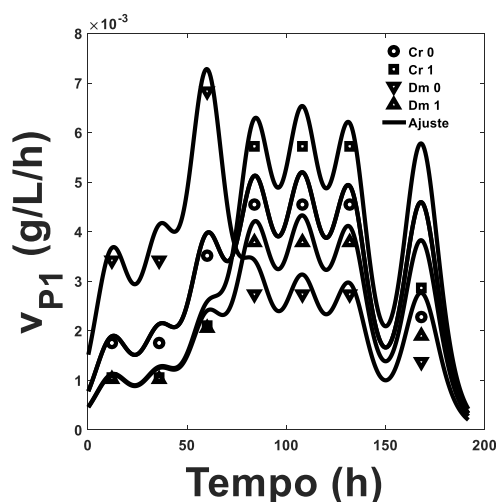


Figura 18 – Velocidade de formação dos compostos fenólicos (V_{P1}) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

A velocidade de formação dos flavonoides oscilou durante todo o período do processo fermentativo. Na figura 19, pode-se observar que a maior velocidade de formação dos flavonoides foi de $V_{P2} = 0,50$ g/L/h para kombucha Dm 1, seguida de $V_{P2} = 0,54$ g/L/h, kombucha Dm 0, $V_{P2} = 0,17$ g/L/h, kombucha Cr 1 e $V_{P2} = 0,24$ g/L/h, kombucha Cr 0.

A velocidade durante o processo fermentativo das kombuchas foi negativo para a produção de flavonoides. Nesse período não houve consumo significativo do açúcar pelas leveduras e bactérias do SCOBY, o que pode ser devido à utilização de outros compostos, como a cafeína, para formação de compostos fenólicos. A diminuição da velocidade de formação dos flavonoides também pode estar associada à degradação dos flavonoides em alguma via metabólica.

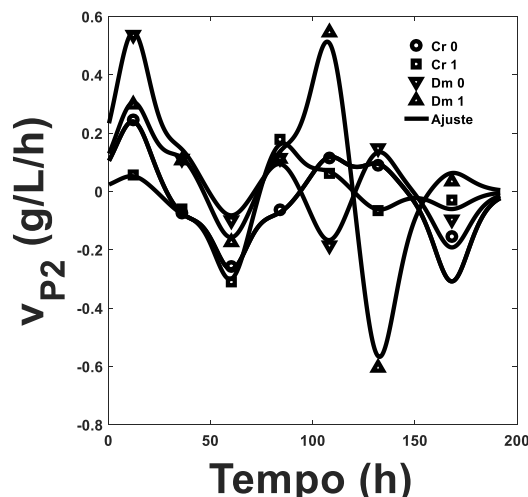


Figura 19 - Velocidade de formação dos flavonoides (V_{P2}) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

As amostras apresentaram maior velocidade de produção dos íons H^+ , em torno de 192 horas de fermentação, com $V_{H^+} = 17.10^{-6}$ g/L/h, $V_{H^+} = 14.10^{-6}$ g/L/h e $V_{H^+} = 14.10^{-6}$ g/L/h, nas amostras Dm 0, Dm 1 e Cr 1, respectivamente (Figura 20). Já a amostra Cr 0 apresentou a maior velocidade de produção dos íons H^+ em 100 horas de fermentação, com $V_{H^+} = 11.10^{-6}$ g/L/h.

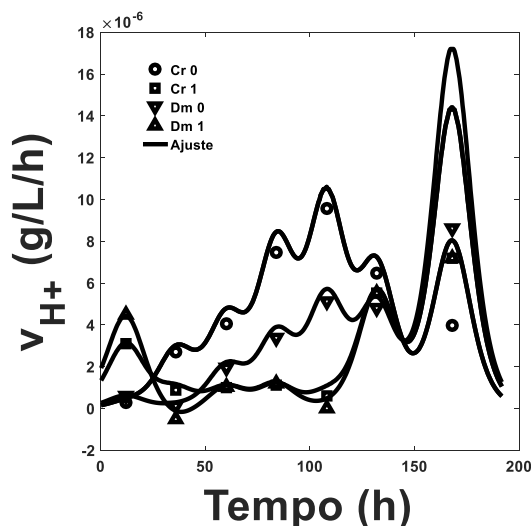


Figura 20 - Velocidade de formação de íons H^+ (V_{H^+}) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

As kombuchas Dm 0, Cr 0 e Cr 1 apresentaram maior velocidade de consumo do substrato em torno de 180 horas de fermentação, com velocidade de $V_S = 0,39$ g/L/h, $V_S = 0,41$ g/L/h e $V_S = 0,32$ g/L/h (Figura 21). Já a kombucha Dm 1 apresentou a maior velocidade em torno de 24 horas de fermentação, com velocidade de $V_S = 0,35$ g/L/h. Fletcher e Baetz (2020)

identificaram que altas concentrações de compostos fenólicos podem inibir a atividade das enzimas liberadas pelas leveduras e bactérias, resultando na diminuição da velocidade de consumo dos açúcares disponíveis no meio fermentativo.

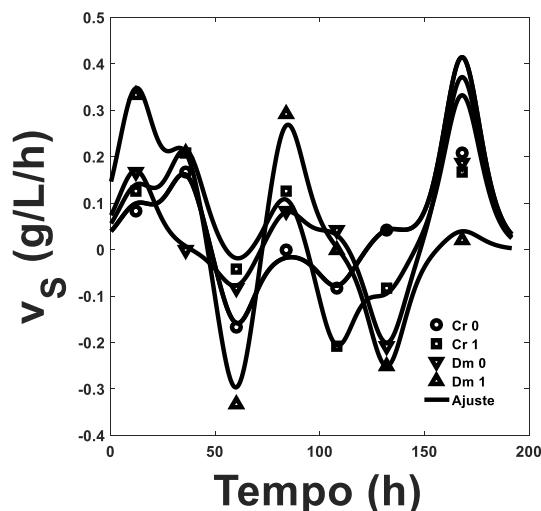


Figura 21 - Velocidade de consumo do substrato (V_s) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

Como pode ser observado no gráfico da produtividade de biomassa, de flavonoide e de substrato (Figura 22), as fermentações apresentaram produtividade com valor máximo em torno de 20 a 50 horas de fermentação, com $P_S = 0,3$ g/L/h, $P_{P2} = 0,23$ g/L/h e $P_M = 0,04$ g/L/h, na kombucha Dm 1, $P_S = 0,14$ g/L/h, $P_{P2} = 0,17$ g/L/h e $P_M = 0,03$ g/L/h, na kombucha Dm 0, $P_S = 0,15$ g/L/h, $P_{P2} = 0,04$ g/L/h e $P_M = 0,007$ g/L/h, na kombucha Cr 1, $P_S = 0,11$ g/L/h, $P_{P2} = 0,20$ g/L/h e $P_M = 0,05$ g/L/h, na kombucha Cr 0. Diante desses dados, o processo fermentativo depois das 50 horas de fermentação não evoluiu de forma significativa para esses parâmetros, até a adição do maracujá-do-mato, podendo assim ser interrompido após 50 horas de fermentação e dar início à saborização da kombucha com maracujá-do-mato, reduzindo o tempo de fermentação e consequentemente gerando uma redução dos gastos na produção da kombucha.

Observando a Figura 22, a produtividade dos compostos fenólicos alcançou o seu máximo em 80 e 140 horas de fermentação, com valores de $P_{P1} = 4,5 \cdot 10^{-3}$, para kombucha Dm 0, $P_{P1} = 2,5 \cdot 10^{-3}$ g/L/h, para kombucha Dm 1, $P_{P1} = 3,1 \cdot 10^{-3}$ g/L/h, para kombucha Cr 0 e $P_{P1} = 3,2 \cdot 10^{-3}$ g/L/h, para kombucha Cr 1. Enquanto isso, a produtividade dos íons H^+ aumentou em 20 e 140 horas de fermentação, com máximo de $P_{H+} = 3,2 \cdot 10^{-6}$ g/L/h, $P_{H+} = 3,5 \cdot 10^{-6}$ g/L/h, $P_{H+} = 4,3 \cdot 10^{-6}$ g/L/h e $P_{H+} = 5,0 \cdot 10^{-6}$ g/L/h para as kombuchas Cr 1, Dm 1, Dm 0 e Cr 0, respectivamente.

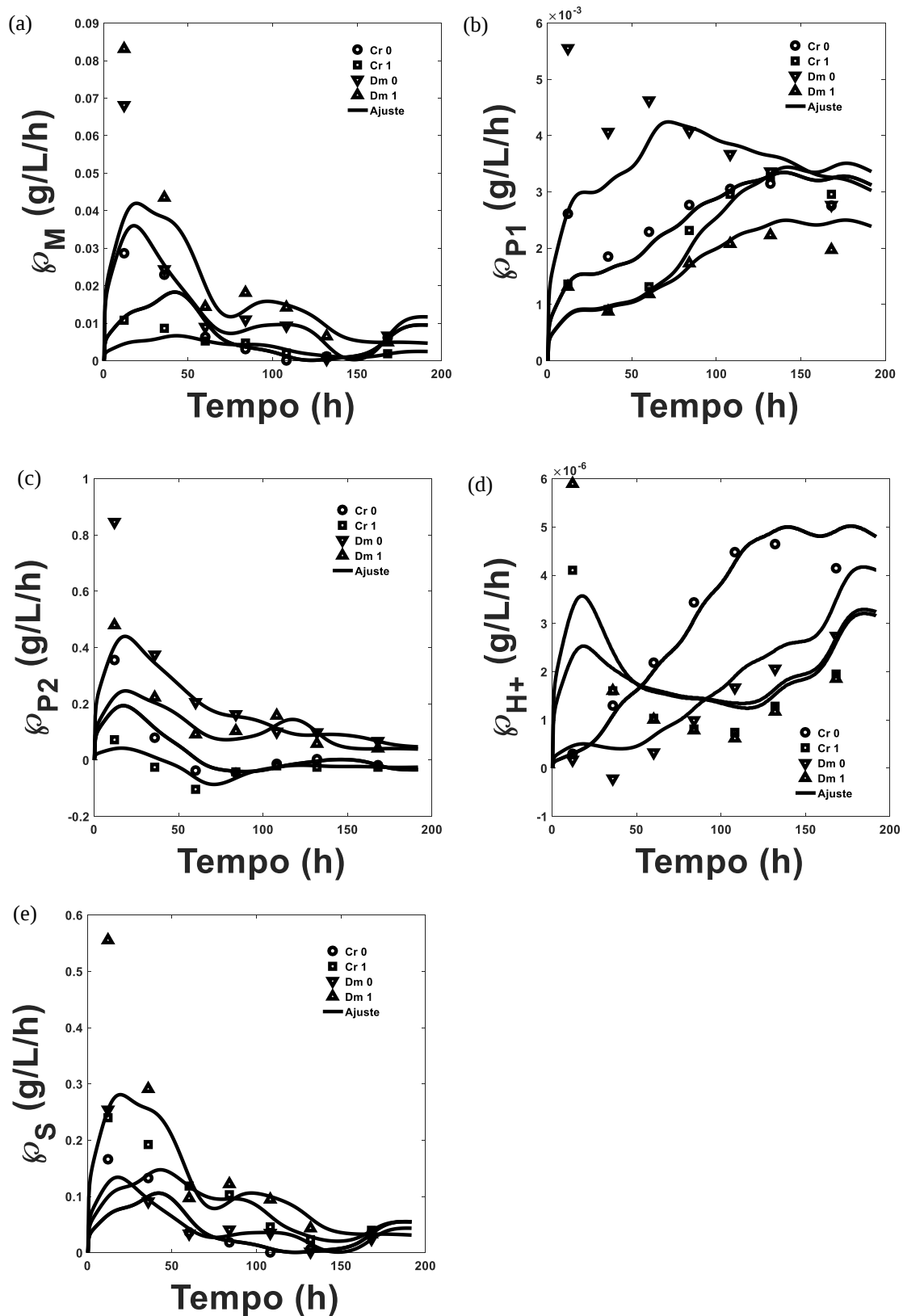


Figura 22 - Produtividade de biomassa (P_M), de compostos fenólicos (P_{P1}), de flavonoides (P_{P2}), de íons H^+ (P_{H+}) e do substrato (P_S) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

Nas figuras 23, 24, 25, 26 e 27, apresentam-se as análises das velocidades específicas de formação da biomassa, dos compostos fenólicos, dos flavonoides, dos íons H^+ e do consumo do substrato durante o processo fermentativo. O comportamento oscilatório das velocidades específicas no período fermentativo pode ser associado à forma de atuação do metabolismo dos microrganismos presentes no SCOBY.

No início da fermentação e em torno de 168 horas, quando foi adicionado o maracujá-do-mato, as leveduras e bactérias foram mais eficientes na formação de biomassa, com $\mu_M = 7.10^{-3} h^{-1}$, na kombucha Cr 1, $\mu_M = 0,12 h^{-1}$, na kombucha Cr 0, $\mu_M = 0,12 h^{-1}$, na kombucha Dm 1 e $\mu_M = 0,45.10^{-2} h^{-1}$, na kombucha Dm 0 (Figura 25).

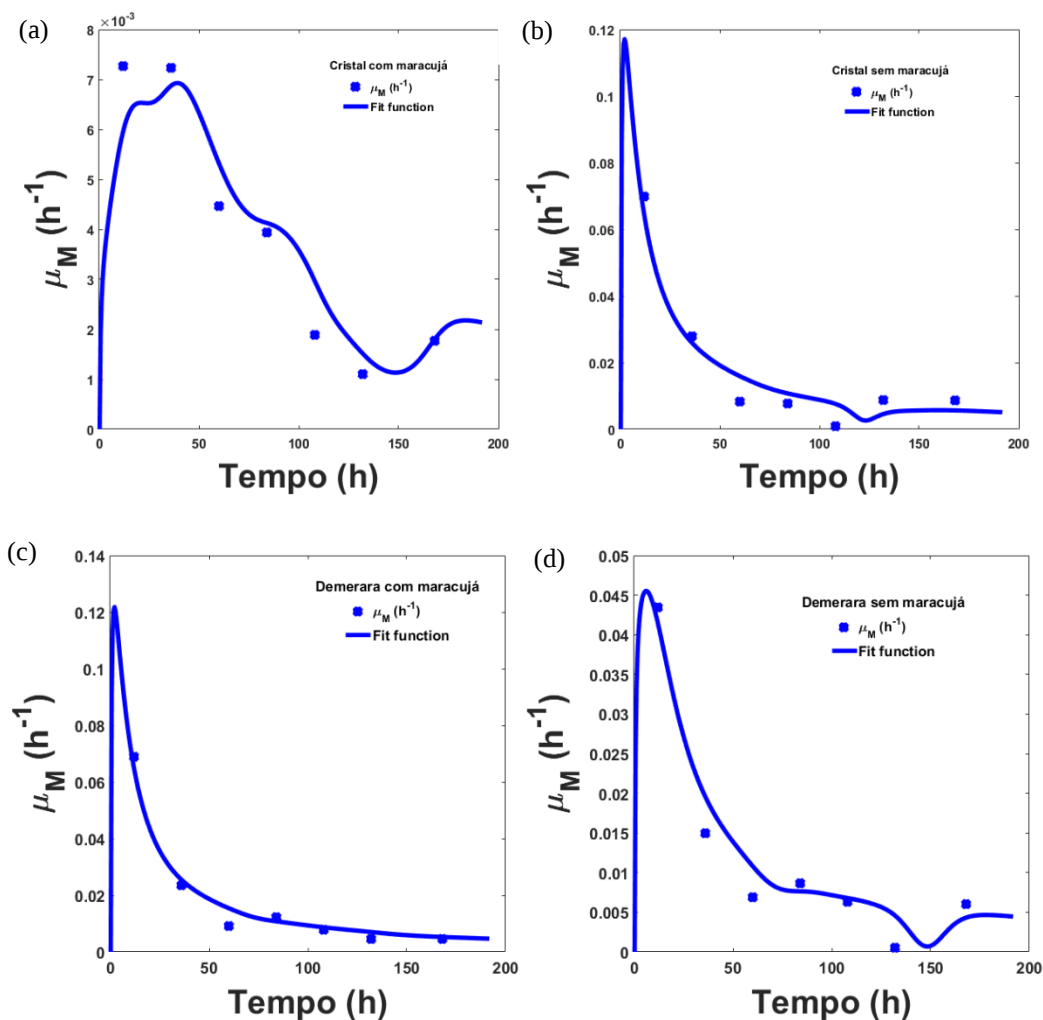


Figura 23 - Velocidade específica de formação da biomassa (μ_M) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

As velocidades específicas foram similares nas quatro amostras de kombucha para formação dos compostos fenólicos, dos flavonoides e dos íons H^+ , mantendo-se com

poucas alterações até 168 horas, quando foi adicionado o maracujá-do-mato, que contribuiu para o aumento das velocidades de formação dos compostos fenólicos, com $\mu_{P1} = 4,3 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$, na kombucha Cr 1 (Figura 24a), $\mu_{P1} = 2,5 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$, na kombucha Cr 0 (Figura 24b), $\mu_{P1} = 2,7 \cdot 10^{-3}$, na kombucha Dm 1 (Figura 24c) e $\mu_{P1} = 1,1 \cdot 10^{-2}$, na kombucha Dm 1 (Figura 24d).

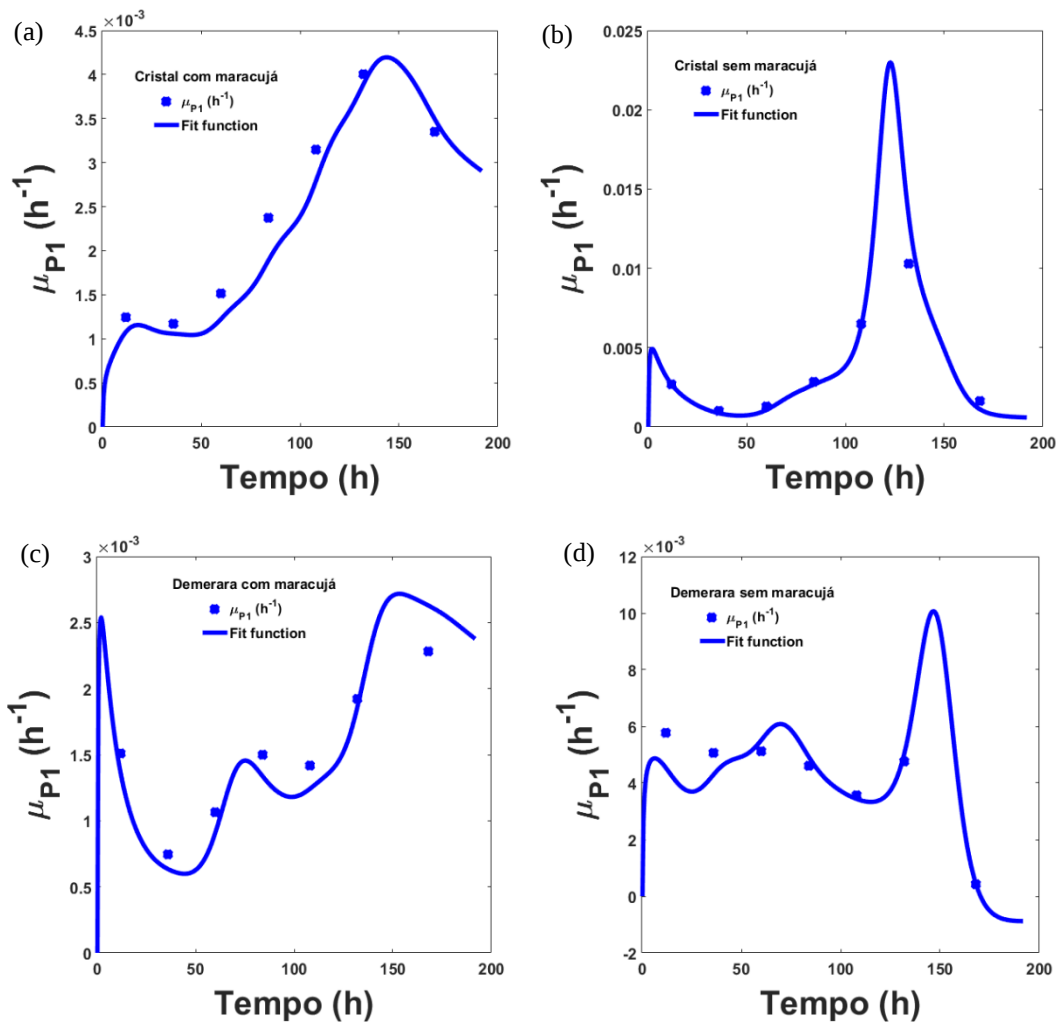


Figura 24 - Velocidade específica de formação dos compostos fenólicos (μ_{P1}) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

A análise das velocidades específicas de formação dos flavonoides demonstra que a maior eficiência do SCOBY ocorreu no início do processo fermentativo, com $\mu_{P2} = 0,69 \text{ h}^{-1}$, $\mu_{P2} = 0,60 \text{ h}^{-1}$, $\mu_{P2} = 0,73 \cdot 10^{-1} \text{ h}^{-1}$ e $\mu_{P2} = 0,29 \text{ h}^{-1}$, nas amostras Cr 0, Cr 1, Dm 1 e Dm 0, respectivamente, Figura 25.

Nas figuras 25(a) e 25(d), observa-se que o tipo de açúcar influenciou na velocidade específica de formação dos flavonoides das kombuchas, a amostra Cr 0 fermentada com

açúcar demerara levou a uma duplicação da eficiência na produção dos flavonoides pelo SCOBY, com $\mu_{P2} = 0,69 \text{ h}^{-1}$, comparado a $\mu_{P2} = 0,29 \text{ h}^{-1}$ para kombucha Dm 0.

A presença do maracujá-do-mato nas amostras Cr 0, Cr 1, Dm 0 e Dm 1 não influenciou na velocidade específica de formação dos flavonoides.

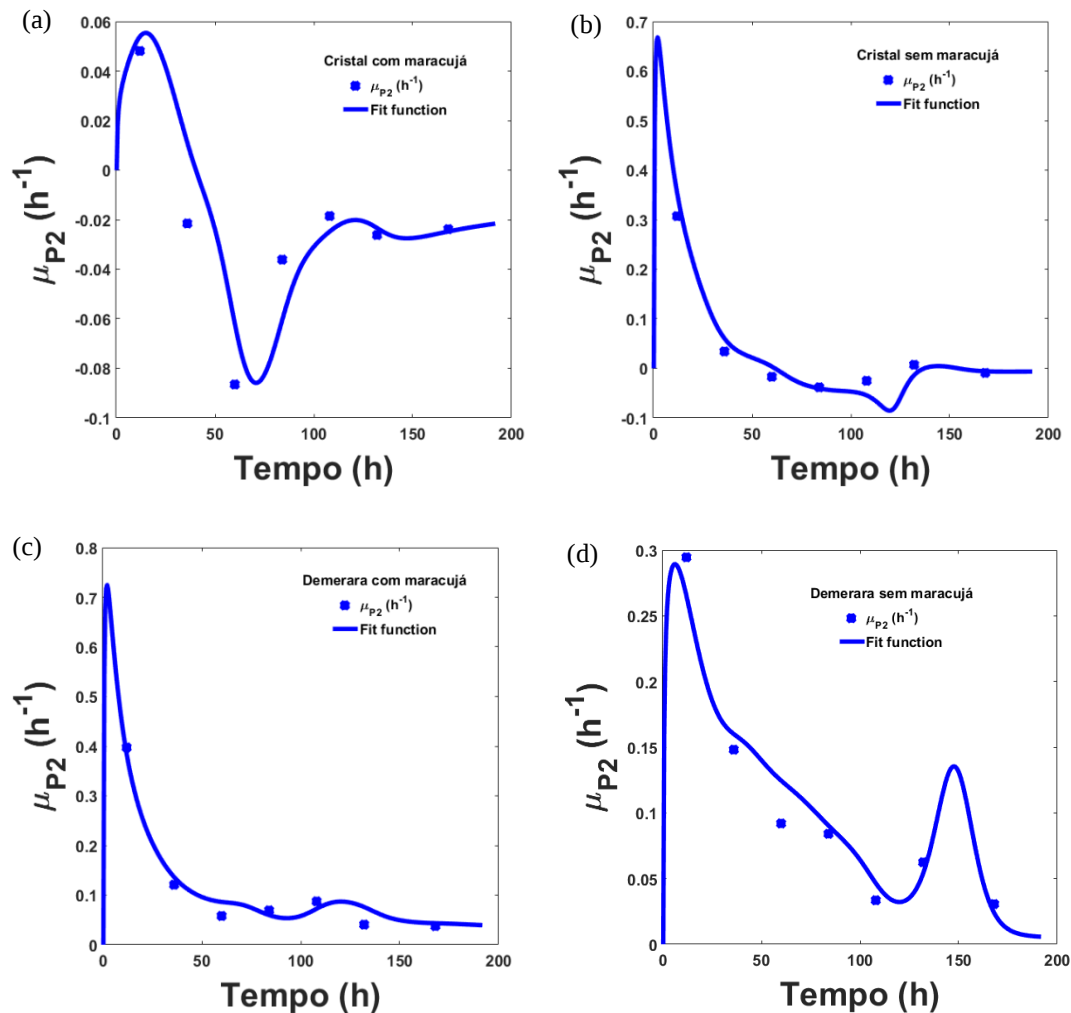


Figura 25 - Velocidade específica de formação dos flavonoides (μ_{P2}) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

As quatro kombuchas apresentaram aumento da velocidade específica de formação dos íons H^+ no primeiro dia de fermentação, seguido por um decréscimo entre 40 e 100 horas de fermentação nas kombuchas Cr 1 e Dm 1, com posterior aumento em 110 horas até o último dia de fermentação (Figura 26a e 26c). Já a kombucha Cr 0 e Dm 0 apresentaram um período estacionário da μ_{H^+} entre 20 e 50 horas de fermentação, voltando a aumentar entre 50 e 120 horas (Figuras 26(a) e 26(c)). Os valores máximos das

velocidades específicas de formação dos íons H^+ foram $\mu_{H^+} = 3,5 \cdot 10^{-5} h^{-1}$, $\mu_{H^+} = 3,5 \cdot 10^{-6} h^{-1}$, $\mu_{H^+} = 9,1 \cdot 10^{-6} h^{-1}$ e $\mu_{H^+} = 1,1 \cdot 10^{-5} h^{-1}$, nas amostras Cr 0, Cr 1, Dm 0 e Dm1, respectivamente.

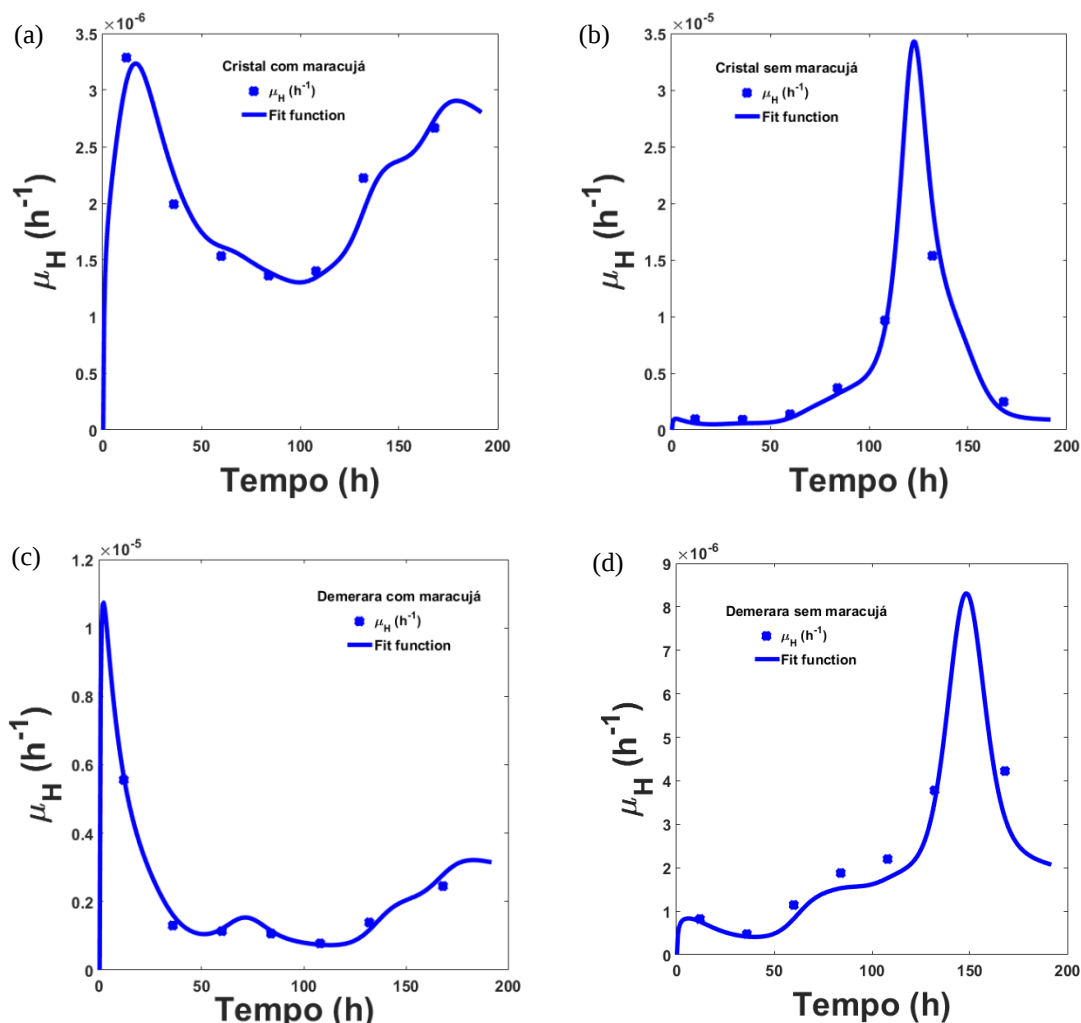


Figura 26 - Velocidade específica de formação dos íons H^+ (μ_{H^+}) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

O aumento da concentração de leveduras e bactérias, em torno de 40 e 168 horas de fermentação, aumentou os valores das velocidades específicas de consumo do substrato, com $\mu_S = 0,15 h^{-1}$, na kombucha Cr 1, $\mu_S = 0,24 h^{-1}$, na kombucha Cr 0, $\mu_S = 0,8 h^{-1}$, na kombucha Dm 1 e $\mu_S = 0,23 h^{-1}$, na kombucha Dm 0, em 40 horas de fermentação (Figura 27).

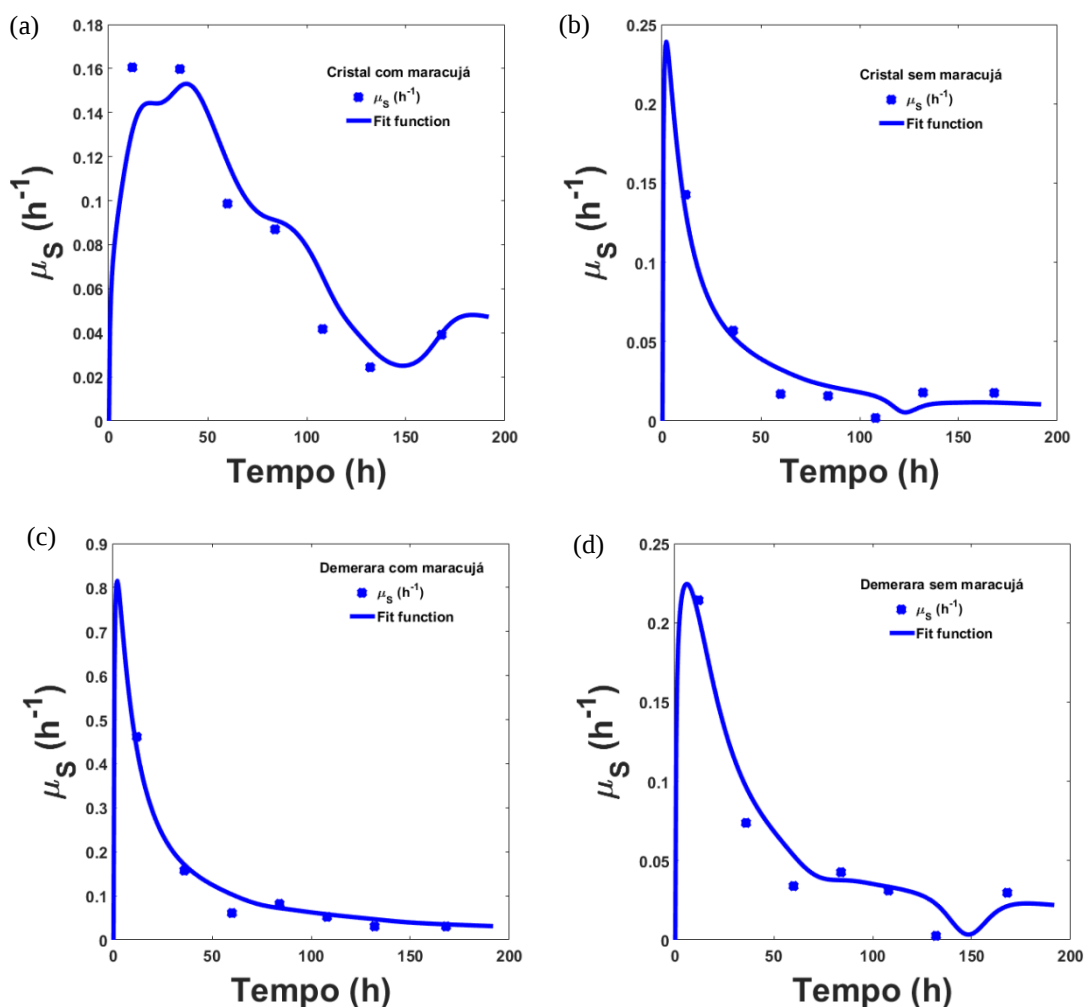


Figura 27 - Velocidade específica de consumo do substrato (μ_s) durante a fermentação da kombucha com açúcar cristal (Cr 0), kombucha com açúcar cristal e maracujá-do-mato (Cr 1), kombucha com açúcar demerara (Dm 0) e kombucha com açúcar demerara e maracujá-do-mato (Dm 1).

Fonte: Magalhães, 2024.

Na Tabela 8, apresentam-se os valores dos ajustes calculados pelo software Biolab para o coeficiente de manutenção (m), meio de cultura inicial do SCOBY (M_0), coeficiente estequiométrico da biomassa (w_M), os fatores de conversão de biomassa ($Y_{M/s}$), fatores de conversão dos compostos fenólicos ($Y_{P1/s}$), fatores de conversão dos flavonoides ($Y_{P2/s}$) e fatores de conversão dos íons H^+ ($Y_{\text{H}^+/s}$) durante a fermentação, para as amostras de kombucha Dm 0, Dm 1, Cr 0 e Cr 1.

Tabela 8 - Valores dos ajustes calculados pelo programa Biolab.

Resultados Ajuste				
Coefficiente	Dm 0	Dm 1	Cr 0	Cr 1
m	3,43E-08	1,39E-14	0,0015	9,85E-07
M ₀ (g/L)	2,46E-05	0,1046	4,02E-14	0.6810
w _M	0,2685	0,1494	0,1729	0,0453
Y _{M/S}	0,2685	0,1503	0,1727	0,0453
Y _{P1/S}	51,9584	86,2982	9,1456	613,8850
Y _{P2/S}	136,4487	176,8912	62,6694	3093,2550
Y _{H+/S}	95,1663	92,6716	41,4490	76,7226

Fonte: Magalhães, 2024.

6.5. Análise da Viabilidade Econômica

6.5.1. Investimento Inicial

A Tabela 9 apresenta os principais itens do investimento inicial total para abertura de uma fábrica de kombucha com maracujá-do-mato, que são: utensílios, equipamentos, documentação, EPI, instalações administrativas e capital de giro.

Tabela 9 - Itens de investimento inicial para início da produção de bebida fermentada kombucha com maracujá-do-mato.

Item	Valor (R\$)
Aluguel Galpão Calção Trimestral	6.000,00
Reforma do espaço industrial	10.000,00
Equipamentos e Instalações Industriais	92.052,74
Equipamentos e Instalações Administrativas	12.110,59
Desenvolvimento de Embalagens e Marca	3.000,00
EPI	626,65
Material laboratório	1.409,80
Documentação de Abertura da Empresa	2.000,00
Capital de Giro	60.000,00
Subtotal	187.199,78

Fonte: Magalhães, 2024.

O investimento inicial é o recurso necessário para a aquisição dos ativos imobilizados da empresa que possibilitarão o seu funcionamento. O capital necessário para viabilizar o investimento inicial foi de R\$ 187.199,78, levantado através de um empréstimo bancário com garantia e taxa de juros mensal de 1,2%. O pagamento seria efetuado em 120 meses com parcelas fixas de R\$ 2.951,78. Destacamos o capital de giro, que consiste no

recurso financeiro mínimo para pagamento dos custos fixos e variáveis iniciais até o recebimento dos primeiros pagamentos relativos ao faturamento da empresa. No caso, foi incorporado ao fluxo de caixa o valor necessário para 2 meses de operação, em um montante de R\$ 60.000,00.

6.5.2. Custos fixos

Os custos fixos são imutáveis no tempo, independem da produtividade ou do faturamento da empresa. Devem ter uma atenção especial do gestor no sentido de serem controlados para atingir maior lucratividade do negócio. O total das despesas fixas mensais previstas para o empreendimento proposto soma R\$ 14.723,27. Os custos fixos estão separados em duas categorias, custo com pessoal e custo com patrimônio.

6.5.2.1. Custos com Pessoal

O cálculo do salário para os funcionários foi baseado em uma carga horária de 20 horas semanais, acrescidas de transporte, encargos, férias e décimo terceiro proporcionais. A equipe será composta por um engenheiro de alimentos, um técnico em alimentos, um auxiliar técnico e um auxiliar de serviços gerais. Os valores dos salários líquidos e custos totais estão descritos na Tabela 10.

Tabela 10 - Custo fixo mensal com funcionários.

Descrição	Quantidade	Salário básico (R\$)	Encargos (R\$)	Total (R\$)
Engenheiro de alimentos	1	4.859,77	1.115,25	5.975,02
Técnico em alimentos	1	2.069,17	924,21	3.010,21
Auxiliar técnico	1	1302,00	448,82	1750,82
Serviços Gerais	1	1302,00	448,82	1750,82
			Total	9.476,66

Fonte: Magalhães, 2024.

6.5.2.2. Custos com Patrimônio

A manutenção e o funcionamento da empresa geram custos recorrentes, os quais chamaremos despesas fixas mensais. Na Tabela 11 a seguir, descreveremos essas despesas:

Tabela 11 - Despesas fixas mensais.

Descrição	Quantidade	Total (R\$)
Aluguel	1	2.000,00
Parcela do Empréstimo	1	1.807,61
Sistema de informática	1	300,00
Contador	1	500,00
Tarifas Bancárias	1	89,00
Internet	1	50,00
Material de Limpeza e Escritório	1	500,00
Total		5.246,61

Fonte: Magalhães, 2024.

6.5.3. Custos Variáveis

6.5.3.1. Custos de produção

Os dados relacionados ao custo variável da produção da kombucha (Tabela 12) foram estimados através da média dos preços obtidos após levantamento junto a fornecedores. A produção descrita totaliza o volume mensal de 2.000 litros de kombucha, sendo necessária a realização de uma fermentação por semana em fermentadores de 500 litros.

Tabela 12 - Custo direto variável relacionado à produção mensal de kombucha com maracujá-do-mato.

1ª Etapa: Preparo do chá				
Descrição	Unidade	Quantidade	Valor unitário (R\$)	Valor total (R\$)
Água	m ³	122	24,79	3.024,38
Chá preto	Kg	10	42,44	446,07
Açúcar cristal	Kg	160	3,85	616,00
Subtotal				4.086,45
2ª Etapa: Fermentação e Análises (Físico-químicas)				
Descrição	Unidade	Quantidade	Valor unitário (R\$)	Valor total (R\$)
Maracujá-do-mato	Kg	88	4,12	362,56
SCOBY + Starter	L	90	320	960
Solução tampão (4) e (7)	L	1	106,79	106,79
Fenolftaleína	L	1	32,00	32,00
Hidróxido de sódio	L	1	22,74	22,74
Subtotal				1.484,09
3ª Etapa: Rotulagem e acondicionamento				
Descrição	Unidade	Quantidade	Valor unitário (R\$)	Valor total (R\$)
Garrafas com tampas (350 mL)	Unidades	5.715	1,20	10.858,50
Rótulos	Unidades	5.715	0,33	1.885,95
Subtotal				12.744,45
4ª Etapa: Gastos com Energia Elétrica				
Descrição	Unidade	Quantidade	Valor unitário (R\$)	Valor total (R\$)
Energia elétrica	KW.h	4.400	0,96	4.224,00
Subtotal				4.224,00
Total				22.538,99

Fonte: Magalhães, 2024.

Portanto, utilizando-se a capacidade máxima de fabricação instalada, é possível produzir mensalmente um total de 5.715 garrafas (350 mL) do produto, sendo necessário um investimento direto na ordem de R\$ 22.538,99.

6.5.3.2. Outros custos variáveis

Como resultado da venda do produto surgem outros custos variáveis que precisam ser considerados para o cálculo da margem de lucro líquida. Considerando a venda total da produção em modalidade a vista temos mais dois custos variáveis, vide a Tabela 13.

Tabela 13 - Outros Custos Variáveis.

Descrição	Alíquota	Base	Total
Simples Nacional	4,5%	46.863,00	2.108,84
Frete	5%	46.863,00	2.343,15
Total			4.451,99

Fonte: Magalhães, 2024.

O Simples Nacional tem alíquota de 4,5% no caso de faturamento anual acumulado de até R\$ 180.000,00. O frete varia de acordo com a localização geográfica da venda e o volume de aquisição de cada cliente, sendo o percentual de 5 % uma projeção.

6.5.4. Precificação

Para estabelecer o preço final de venda utilizaremos uma metodologia simples de rateio de custos e definição de *markup* de mercado. Vale ressaltar que a produção mensal total da capacidade instalada é de 5.715 garrafas, sendo assim devemos encontrar o custo unitário R\$ 7,29, somando todos os custos apresentados até aqui e dividindo pelo número total de garrafas produzidas, demonstrado na Tabela 14.

Tabela 14 - Formação de Preço.

Descrição	R\$	Por garrafa R\$
Custo fixo	14.723,27	2,57
Custo Variável	26.990,98	4,72
Total		7,29

Fonte: Magalhães, 2024.

A partir de pesquisas realizadas junto aos distribuidores de bebidas e outros pontos de venda, encontramos produtos semelhantes vendidos a preço final de R\$ 12,00 a R\$ 16,00. Considerando que o *markup* de varejo de bebidas é de 20 a 25%, definimos o preço de venda no atacado de R\$ 8,20. Com esse preço de venda no atacado, o produto poderia ser vendido nos mercados e distribuidoras por preços entre R\$ 9,84 e R\$ 10,25. Considerando o preço definido e a venda total das unidades produzidas chegamos a um faturamento de R\$ 46.863,00.

Faturamento = 5.715 Unidades do produto x R\$ 8,20

Faturamento = R\$ 46.863,00

6.5.5. Lucro Líquido

O Lucro líquido é o rendimento de uma empresa determinado por meio da diferença entre a receita total e o custo total. Diante de todos os dados apresentados, temos uma previsão de Lucro Líquido da operação seguindo a fórmula:

LL = Faturamento – (Custos fixos + Custos variáveis + Outros custos variáveis)

LL = 46.863,00 – (14.723,27 +22.538,99+4.451,99)

LL = 46.863,00 – (41.714,25)

LL = R\$ 5.148,75

A título de depreciação foi considerado o valor total do imobilizado depreciado a uma taxa fixa anual de 10%. Sobre o lucro incidiu uma taxa de Imposto de Renda Pessoa Jurídica de 0,54% conforme tabela IRPJ do Simples Nacional.

A Tabela 15 representa o fluxo de caixa para a microindústria de kombucha saborizada com maracujá-do-mato.

Tabela 15 - Fluxo de caixa para uma microindústria de kombucha com maracujá-do-mato.

Item (R\$)	Ano 0	Ano 1	Ano 2	Ano 3	Ano 4	Ano 5	Ano 6	Ano 7	Ano 8	Ano 9	Ano 10
Receita	0,00	562.356,00	562.356,00	562.356,00	562.356,00	562.356,00	562.356,00	562.356,00	562.356,00	562.356,00	562.356,00
Custos totais	0,00	499.267,92	499.267,92	499.267,92	499.267,92	499.267,92	499.267,92	499.267,92	499.267,92	499.267,92	499.267,92
Depreciação	0,00	10.416,33	10.416,33	10.416,33	10.416,33	10.416,33	10.416,33	10.416,33	10.416,33	10.416,33	10.416,33
Juros	0,00	16.701,38	16.701,38	16.701,38	16.701,38	16.701,38	16.701,38	16.701,38	16.701,38	16.701,38	16.701,38
Lucro tributável	0,00	35.970,36	35.970,36	35.970,36	35.970,36	35.970,36	35.970,36	35.970,36	35.970,36	35.970,36	35.970,36
Imposto de renda	0,00	194,94	194,94	194,94	194,94	194,94	194,94	194,94	194,94	194,94	194,94
Fluxo líquido	0,0	35.776,13	35.776,13	35.776,13	35.776,13	35.776,13	35.776,13	35.776,13	35.776,13	35.776,13	35.776,13
Amortização	0,00	18.719,98	18.719,98	18.719,98	18.719,98	18.719,98	18.719,98	18.719,98	18.719,98	18.719,98	18.719,98
Investimento	187.199,78										
Fluxo de caixa líquido	- 187.199,78	46.192,46	46.192,46	46.192,46	46.192,46	46.192,46	46.192,46	46.192,46	46.192,46	46.192,46	46.192,46
Fluxo Descontado	-187.199,78	39.146,15	33.174,70	28.114,16	23.825,56	20.191,15	17.111,14	14.500,97	12.288,96	10.414,37	8.825,74
Saldo	-187.199,78	-148.053,63	-114.878,92	-86.764,77	-62.939,21	-42.748,06	-25.636,92	-11.135,95	1.153,01	11.567,38	20.393,11
Saldo total	-187.199,78	- 141.007,32	- 94.814,86	- 48.622,41	- 2.429,95	43.762,51	89.954,97	136.147,43	182.339,88	228.532,34	274.724,80

Fonte: Magalhães, 2024.

Os indicadores de rentabilidade obtidos para a microindústria de kombucha com maracujá-do-mato estão representados na Tabela 16.

Tabela 16 - Indicadores de viabilidade econômica de uma microindústria de kombucha com maracujá-do-mato.

Descrição	Valor
TIR	21%
VPL (18%)	R\$ 17.282,30
<i>Payback</i> simples	4 anos
<i>Payback</i> descontado	7,5anos

Fonte: Magalhães, 2024.

O valor presente líquido (VPL) para a microindústria de kombucha com maracujá-do-mato foi de R\$ 17.282,30. O VPL positivo reflete que o projeto é economicamente viável e lucrativo, tornando possível o investimento.

A taxa interna de retorno (TIR) foi de 21%, sendo maior que a taxa mínima de atratividade (TAM), considerada 18,00%, reafirmando a possibilidade de realização do empreendimento. Com relação ao *payback* simples, o retorno do capital acontecerá em torno de 4 anos.

Usando como referência o fluxo de caixa construído e apresentado e as fórmulas citadas, chegamos aos índices de viabilidade econômica que atestam a exequibilidade do projeto microindústria de kombucha.

CONCLUSÃO

A fermentação da kombucha com maracujá-do-mato potencializou suas atividades biológicas, através do aumento da concentração de compostos fenólicos, flavonoides e da inibição de DPPH, demonstrando o seu potencial antioxidante. O maracujá-do-mato é uma alternativa para saborização da kombucha, conferindo um aroma e um sabor bem característico e melhorando as propriedades nutricionais e funcionais da bebida.

A kombucha saborizada com maracujá-do-mato apresentou a maior concentração de compostos fenólicos e flavonoides, e, conseqüentemente, a maior atividade antioxidante. A kombucha com maracujá-do-mato também inibiu o crescimento e promoveu a morte de bactérias patogênicas, demonstrando a sua capacidade antimicrobiana.

O projeto de abertura de uma microfábrica de kombucha com maracujá-do-mato foi considerado economicamente viável. Isso favorece a exploração e a valorização da vegetação nativa do bioma do semiárido e a agricultura familiar.

REFERÊNCIAS

- ABSHENAS, J.; DERA KHSHANFAR, U. M.; FERDOSI, M. H.; HASANZADEH, S. Protective effect of kombucha tea against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice: a biochemical and histopathological study. *Comparative Clinical Pathology*, v. 21, p. 1243-1238, 2012.
- AHMED, S.; STEPP J. R. *Green Tea: Plants, Processing, Manufacturing and Production. Tea in Health and Disease Prevention*, p. 19-31, 2013.
- ALEJANDRA, S. V. S.; BEAUFORT, S.; BOUAJILA, J.; PIERRE, J. S.; TAILLANDIER, P. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of Food Science*, v. 83, n. 3, 2018.
- ALMEIDA, L. S. B.; SANTOS, A. C. G. P.; HOLANDA, L. Ramos. Análise de viabilidade econômica de um pequeno produtor de maracujá em Boca da Mata, Alagoas. *Sistemas & Gestão*, v. 13, n. 3, p. 357-365, 2018.
- ALVES, A. C. D'ABADIA; COSTA, A. M.; GELAPE, F. F.; MALAQUIAS, J. V.; PINHEIRO, F. A. Physical-chemical and Chemical characterization of *Passiflora cincinnata* Mast. Fruits conducted in vertical shoot positioned trellis and horizontal trellises system. *Brazilian Fruit Growing Magazine*, v. 41, n. 6, 2019.
- ALVES, A. C. D'ABADIA; COSTA, A. M.; GELAPE, F. F.; MADALENA, M. R., LACERDA, L. O.; MALAQUIAS, J. V. Determination of the maturation stage and characteristics of the fruits of two populations of *Passiflora cincinnata* Mast. *Caatinga Magazine*, v. 33, n. 2, p. 49-360, 2020.
- ANTOLAK, H.; PIECHOTA, D.; KUCHARSKA, A. Kombucha tea-a double power of bioactive compounds from tea and symbiotic culture of bacteria and yeasts (SCOBY). *Antioxidants (Basel)*, v. 10, n. 10, p. 1541, 2021.
- AOAC. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Gaithersburg-USA: AOAC International, v. 2, p. 26-44, 2000.
- ARAÚJO, A. J. B.; SANTOS, N. C.; BARROS, S. L.; VILAR, S. B. O.; SCHMIDT, L.; ARAÚJO, F. P.; AZEVÊDO, L. C. Caracterização físico-química e perfil lipídico da semente de maracujá-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.) *Caderno de Pesquisa, Ciência e Inovação*, v.2, n.3, 2019.
- ARAÚJO, A. J. AZEVÊDO, L. C.; COSTA, F. F. P.; AZOUBEL, O. M. Caracterização físico-química da polpa de maracujá-do-mato. *Embrapa Semiárido*, 2009.
- ARAÚJO, F. P.; SILVA, N.; QUEIROZ, M. A. Divergências genéticas ente acessos de *Passiflora cincinnata* Mast. com base em descritores morfoagronômicos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 30, n. 3, p. 723-730, 2008.
- ARAÚJO, F. P.; SANTOS, C. A. F.; SILVA, G. C.; ASSIS, J. S. Caracterização de frutos de maracujá-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.) cultivado em condições de sequeiro.

In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 53.; REUNIÃO NORDESTINA DE BOTÂNICA, 25, 2002.

BARBOSA, C. D.; SANTOS, W. C. R.; COSTA, E. C.; COSTA, I. M.; ALVARENGA, V. O.; LACERDA, I. C. A. Evaluation of antibacterial activity of black and green tea kombucha. *Scientia Plena*, v. 18, n. 9, 2022.

BARBOSA, L. S.; MESQUITA, E. S.; FERREIRA, R. L. G.; CELIS, A. A. L.; VERAS, I. C. S. Genetic characterization and divergence of accesses of *Passiflora edulis* and *P. cincinnata* based on physical and Chemical characteristics of fruits. *Brazilian Journal of Fruit Culture*, v. 34, n. 3, p. 832-839, 2012.

BARBOSA, C. D.; RODRIGUES SANTOS, W. C.; DA COSTA, E. C.; COSTA, I. M.; ALVARENGA, V. O.; LACERDA, I. A. C. Evaluation of antibacterial activity of black and green tea kombucha. *Scientia Plena*, v. 18, n. 9, 2022.

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, 2011.

BATTIKH, H.; BAKHROUF, A.; AMMAR, E. Antimicrobial effect of kombucha analogues. *LWT – Food Science and Technology*, v. 47, n. 1, p. 71 -77, 2012.

BAUER, P. B., PETRUSHEVSKA, T. L. Mineral and water soluble vitamin content in the Kombucha drink. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 35, p. 201–205, 2000.

BECCHI, L. L.; MULLER, T.; BERGAMASCHI, L. L.; HEIDRICH, D.; SILVA, G. L.; MACIEL, M. J. Desenvolvimento e caracterização de kombucha produzida com ingredientes orgânicos e convencionais. *Revista Contexto & Saúde*, v. 23, n. 47, 2023.

BETTANI, S. R.; LAGO, C. E; FARIA, D. A. M.; BORGES, M. T. M. R.; VERRUMABERNARDI, M. R. avaliação físico-química e sensorial de açúcares orgânicos e convencionais. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v.16, n.2, p.155-162, 2014.

BHATTACHARYA, S.; MANNA, P.; GACHHUI, R.; SIL, P. C. Protective effect of Kombucha tea against tertiary butylhydroperoxide-induced cytotoxicity and cell death in murine hepatocytes. *Indian J Exp Biol*, v. 49, p. 511– 24, 2011.

BORTOLOMEDI, B. M.; PAGLARINI, C. S.; BROD, F. C. A. Bioactive compounds in kombucha: A review of substrate effect and fermentation conditions. *Food Chemistry*, v. 385, p. 1327, 2022.

BOTÂNICA, 25., 2002, Recife. Resumos...Recife: SBB – Seção Regional Pernambuco/UFRPE/UFPE., 2002. p. 10. Resumo 6.

BRAIABANTE F. E. M, SILVA, D., BRAIBANTE, H. T. S., SELVERO, M. P. A química dos chás. *Química e sociedade*. São Paulo, 2014.

BRANDÃO, S. S.; MACIEL, E. P. Inibitory activity of handcrafted fermented drinks by enteropathogenic bacteria. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n1, p. 6538 - 6553, 2021.

BRASIL, Instrução normativa nº1, de 7 de janeiro de 2000. Estabelece o Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para polpa de fruta. Diário oficial da República Federativa do Brasil, 2000.

BRASIL, Instrução normativa nº41, de 17 de setembro de 2019. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/instrucao-normativa-no-41-de-17-de-setembro-de-2019.pdf/view>. Acesso em: 12 março 2023.

BRUINI, B.; APARECIDA, J. C. B.; PRATES, J. B.; JOSÉ, C. T. Aspectos físico-químicos e microbiológicos no processo de fabricação da kombucha. *Revista Engenharia*, v. 11, n. 1, p. 48-67, 2019.

CAFIEIRO, C. S. P.; TAVARES, P. P. L. G.; SOUZA, C. O.; CRUZ, L. F. S. MAMEDE, M. E. O. Elaboration of wild passion fruit (*Passiflora cincinnata* Mast.) liqueur: a sensory and physicochemical study. *The Anais of Brazilian Academy of Sciences*, v. 94, suppl. 3, 2022.

CAILI, F. U.; FEN, F. U.; ZELI, C. A. O.; FANYING, X. I. E.; JUAN, L. I. N. Antioxidant activities of kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotics during storage. *Food Science and Technology*, v. 34, n. 1, p. 123-126, 2014.

CÂMARA, G. B.; PRADO, G. M. do; SOUSA, P. H. M. de.; LIMA, A. R. N.; OLIVEIRA, L. de S.; FURTADO, J. A.; SILVA, L. M. R. da. Potential applicability of fruit co-product in the development of kombucha fermented beverages: a review study. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 5, 2022.

CÂNDIDO, E. J. M. Estudo de viabilidade econômica da produção de xilitol a partir de hidrolisado hemicelulósico de palha de cevada. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) - Departamento de Biotecnologia, EEL-USP, Lorena, p. 157, 2008.

CARDOSO, R. R.; MOREIRA, L. P. D.; DE CAMPOS COSTA, M. A.; TOLEDO, R. C. L.; GRANCIERI, M.; NASCIMENTO, T. P.; FERREIRA, M. S. L.; MATTA, S. L. P.; ELLER, M. R.; MARTINO, H. S. D.; BARROS, F. A. R. Kombuchas from green and black teas reduce oxidative stress, liver steatosis and inflammation, and improve glucose metabolism in Wistar rats fed a high-fat high-fructose diet. *Food & Function*, n. 12, v. 21, 2021.

CARDOSO, R.; NETO, R. O.; D'ALMEIDA, C. T. S.; NASCIMENTO, T. P.; PRESSETE, C. G.; AZEVEDO, L.; MARTINO, H. S. D.; CAMERON, L. C.; FERREIRA, M. S. L.; BARROS, F. A. R. Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*, v. 128, 2020.

CARDOSO, S. B.; BUSFIELD, I. C.; STEINER, E.; OLIVERIA, T. R. S. Avaliação física, química e antimicrobiana da kombucha Probiótico (*Medusomyces gisevii lindau*) e análise

comparativa com outros probióticos comercializados no Brasil. *Nutrição Brasil*, n.17, v. 1, p. 2- 8, 2018.

CASSIANO, C. Z. C.; SOARES, K. L.; BATISTA, P. B.; MARQUES, S.; JÚNIOR, M. R. M.; JUNIOR, S. B.; NÚÑEZ, O.; FRONZA, M.; ENDRINGER, D. C.; SCHERER R. Nutritional composition and antioxidante and câncer chemopreventive activities of fruits os *Psidium myrtoides* (O. Berg). *Ciência Rural* v.54, n. 7, 2024.

CARVALHO, C. R. V.; MAPELI, A. M.; BARRONCAS, A. O. Anatomical characterization of *Passiflora cincinnata* Mast. Fruit subjected to refrigeration. *Brazilian Journal of Fruit Culture*, v.43, n. 2, 2021.

CHAKRAVORTY, S.; BHATTACHARYA, S.; BHATTACHARYA, D.; SARKA, S.; GACHHUI, R. Kombucha: a promising functional beverage prepared from tea non-alcoholic beverages, v. 6, p. 285-327, 2019.

CHAKRAVORTY, S.; BHATTACHARYA, S.; CHATZINOTAS, A.; CHAKRABORTY, W.; BHATTACHARYA, D.; GACHHUI, R. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, v. 220, p. 63-72, 2016.

CHU, S. C.; CHEN, C. Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chemistry*, v. 98, n. 3, p. 502-207, 2006.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Approved Standard – Thirty Second Edition. CLSI document M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2021.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard – Thirteenth Edition. CLSI document M02-A8. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.

CLSI. Métodos for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically: Approved Standard – Eleventh Edition. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.

CLSI. Métodos for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts. Approved Standard – Second Edition. CLSI document M44-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009.

COELHO, E. B.; SARAIVA, B. B.; RODRIGUES, B. M.; SILVA JÚNIOR, R. C. da., CAMPANHOLI, K. da S. S.; MARICATO, D. M. B.; PINTO, P. M.; POZZA, M. S. dos s. Antibacterial Activity of Kombucha Agains *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and Minas Frescal cheese production with SCOPY. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 2, 2022.

COELHO, R. M. D., ALMEIDA, A. L., AMARAL, R. Q. G., MOTA, R. N., SOUSA, P. H. M. KombuchA: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, v. 22, 2020.

CÓRDOVA, K. R. V.; GAMA, T. M. M. T. B.; WINTER, C. M. G.; NETO, G. K.; FREITAS, R. J. S. Características físico-químicas da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f *Flavicarpa Degener*) obtida por secagem. Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos, v. 23, p. 221-230, 2005.

COSTA, A. M. Propriedades das passifloras como medicamento e alimento funcional. In: JUNGHANS, T. G.; JESUS, O. N. (org.). Maracujá do cultivo à comercialização. Brasília, DF: Embrapa, 2017, p. 299-308.

COTON, M.; PAWTOWSKI, A.; TAMINIAU, B.; BURGAUD, G.; DENIEL, F.; COULLOUMME-LABARTHE.; FALL, A.; DAUBE, G.; COTON, E. Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. FEMS Microbiology Ecology, v. 93, n. 5, 2017.

CRUM, H.; LAGORY, A. The Big Book of Kombucha: Brewing, Flavoring, and Enjoying the Health Benefits of Fermented Tea. Storey Publishing: North Adams, MA, USA, 2016.

DARTORA, N. Avaliação dos polissacarídeos e metabolitos secundários das folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em diferentes estados fisiológicos e de processamento. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências – Bioquímica. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

De FILIPPIS F.; TROISE, A. D., VITAGLIONE, P., ERCOLINI, D. Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during Kombucha tea fermentation. Food Microbiology, v. 73, p. 11-16, 2018.

De SOUZA, J. S. Caracterização físico-química da bebida fermentada kombucha. 2022. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

DIMIDI, E.; COX, S. R.; ROSSI, M.; WHELAN, K. Fermented foods: Definitions and characteristics, impact on the gut microbiota and effects on gastrointestinal health and disease. Nutrients, n. 11, v. 8, p. 1806, 2019.

DUARTE, M.R.; MENARIM, D.O. Morfodiagnose da anatomia foliar e caular de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 16, n. 4, p. 545-551, 2006.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method form Determination of Sugars and Related Substances. Nature, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

DUFRESNE, C., FARNWORTH, E. Tea, Kombucha, and health: a review. Food Research International, v. 33, n. 6, p. 409-21, 2000.

DUTTA, D., GACHHUI, R. Nitrogen-fixing and cellulose-producing *Gluconacetobacter kombuchae* sp. nov., isolated from Kombucha tea. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 57, n. 2, p. 353-7, 2007.

DUTRA, H.; PAUL, S. K. Kombucha drink: production, quality, and safety aspects. Production and Management of Beverages, v. 1, p. 259-288, 2019.

DWIPUTRI, M. C.; FERONIASANTI, Y. L. Effect of fermentation to total titrable acids, flavonoid and antioxidant activity of butterfly pea kombucha. In *Journal of Physics: Conference Series*, v. 1241, n. 1, p. 012014, 2019.

EMILJANOWICZ, K. E.; & MALINOWSKA-PANCZYK, E. Kombucha from alternative raw materials – the review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 60, n. 19, p. 3185 – 3194, 2020.

ETGETON, S. A. P.; ZANETTE, C. M. Desenvolvimento de kombucha: caracterização microbiológica, físico-química e aspectos de mercado. *Brazilian Journal of Food Research*, Campo Mourão, v. 11 n. 4, p. 1-14, 2020.

FERREIRA, M. C. L.; LIMA, L. N.; COTA, L. H. L.; COSTA, M. B.; ORSI, P. M. E.; ESPÍNDOLA, R. P.; ALBANEZ, A. V.; ROSA, B. B.; CARVALHO, M. G. S.; GARCIA, J. A. D. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 53, n. 5, 2020.

FLETCHER, E. & BAETZ, K. Multi-Faceted Systems Biology Approaches Present a Cellular Landscape of Phenolic Compound Inhibition in *Saccharomyces cerevisiae*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v. 8, 2020.

FLORES, G. A.; MÁRQUEZ, M. R.; SALAS, E.; AYALA, SOTO, G.; SALMERÓN, I.; HERNÁNDEZ, O. L. Physicochemical and Sensory Characteristics of a Chagalapoli Fruit (*Ardisia compressa*) Beverage Fermented Using *Saccharomyces cerevisiae*. *International journal of food science*, 2019.

FRANCO, G. Tabela de composição química dos alimentos. 9ª edição. São Paulo: Editora Atheneu, 2007. P307.

FU, C., YAN, F., CAO, Z., XIE, F., & LIN, J. Antioxidant activities of Kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotics during storage. *Food Science and Technology*, v. 34, n. (1), p. 123–126, 2014.

GADIOLI, I. L.; CUNHA, M. S. B.; CARVALHO, M. V. O.; COSTA, A. M.; PINELI, L. L. O. A systematic review on phenolic compounds in *Passiflora* plants: Exploring biodiversity for food, nutrition, and popular medicine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 21, n.5, p. 785–807, 2018.

GUEDES, S. P.; ROCHA, M. S.; JESUS, M. O.; SOBRAL, R. R. S.; PARAIZO, E. A.; MIZOBUTSI, G. P.; SILVA, J. M. Caracterização de maracujá-do-mato cultivados em sistema orgânico. In FEPEG 2017. Montes Claros, MG. Anais (on-line). Montes Claros: Unimontes, 2017. Disponível em: <<http://www.fepeg2017.unimontes.br/anais/ver/2019>>. Acesso em: 06 nov. 2022.

GENEROSO, W.C.; BORGES, M.T.M.R.; CECCATO-ANTONINI, S.R.; MARINO, A.F.; SILVA, M.V.M.; NASSU, R.T.; VERRUMA-BERNARDI, M.R. Avaliação microbiológica e físico-química de açúcares mascavo comerciais. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v. 68, n. 2, p. 259-268, 2009.

GUO, Y; SONG, G.; SUN, M.; WANG, J.; WANG, Y. Prevalence and Therapies of Antibiotic – Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 10, p. 107, 2020.

HEALY, L.; ZHU, X.; DONG, G.; SELLI, S.; KELEBEK, H.; SULLIVAN, C.; TIWARI, B. K. Investigation into the use of novel pretreatments in the fermentation of *Alaria esculenta* by *Lactiplantibacillus plantarum* and kombucha SCOBY. *Food Chemistry*, v. 442, 2024.

HERWIN, F.; SISKI, N. Production of kombucha from *Muntingia calabura* L. leaves and evaluation of its antibacterial activity and total flavonoid conten. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, v. 12, n. 8, p. 187-192, 2022.

HISS, H. Cinética de Processos Fermentativos. In: ALMEIDA, L. U.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. *Biotecnologia Industrial*. São Paulo: Edgard Blucher, 2001. V. 2, p. 93-122.

HOHMANN, F.; DESPESSIANI, M. K.; FIORENTIN, D. V. Análise da atividade antibacteriana da kombucha em chá preto e verde. *Revista de Iniciação Científica e Extensão*, v.3, n. 2, p. 505-510, 2020.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção e área de produção de maracujá. 2020. Rio de Janeiro: IBGE. Disponível em: <www.ibge.gov.br>. Acesso em: 06 nov. 2022.

IBRAHIM, N. K. 2011. Possible protective effect of kombucha tea ferment on cadmium chloride-induced liver and kidney damage in irradiated rats. *World Acad Sci Eng Technol*, v. 55, p. 1097– 102.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4.ed. São Paulo: IAL, 2008.

JABEEN, S.; ALAM, S; SALEEM, M.; AHMAD, W.; BIBI, R.; HAMID, F. S.; SHAH, H. H. Withering timings affect the total free amino acids and mineral contents of tea leaves during black tea manufacturing. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 12, n. 8, p. 2411-2417, 2019.

JAYABALAN, R., MARIMUTHU, S., & SWAMINATHAN, K. Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha fermentation. *Food Chemistry*, v. 102, n. 1, p. 392-398, 2007.

JAYABALAN, R., MARIMUTHU, S., THANGARAJ, P., SATHISHKUMAR, M., BINUPRIYA, A. R., SWAMINATHAN, K., & SEI, E. Y. Preservation of Kombucha tea - effect of temperature on tea components and free radical scavenging properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, n. 19, p. 9064–9071, 2008.

JAYABALAN, R.; SUBATHRADEVI, P.; MARIMUTHU, S.; SATHISHKUMAR, M.; SWAMINATHAN, K. Changes in free radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chem*, n.109, p. 227– 34, 2008.

JAYABALAN R.; MALINI K.; SATHISHKUMAR M.; SWAMINATHAN K.; YUN S. E. Biochemical Characteristics of Tea Fungus Produced During Kombucha Fermentation. *Food Science and Biotechnology*, v. 19, n. 3, p. 843-7, 2010.

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. 19538-50, 2014.

JAYABALAN, R.; MALBAŠA R.V.; LONČAR E.S.; VITAS J.S.; SATHISHKUMAR M. A. Kombucha. *Reference Module in Food Science*, p. 1-8, 2016.

KALLEL, L. DESSEAUX, V.; MOKTARHAMDI, STOCKER, P. AJANDOUZ, E. 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, 226-232, 2012.

KAYISOGLU, S.; COSKUN, F. Determination of physical and chemical properties of kombucha teas prepared with different herbal teas. *Food Science and Technology*, v. 41, n. 1, 2021.

KAPP, J. M; SUMNER, W. Kombucha: a systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Annals of Epidemiology*, v. 30, p. 66-70, 2019.

KHAN, N.; MUKHTAR, H. Tea polyphenols for health promotion. *Life Science*, v. 81, n. 7, p. 519-533, 2007.

KHAZI, M. I.; LIAQAT, F.; LIU, X.; YAN, Y; ZHU, D. Fermentation, functional analysis, and biological activities of turmeric kombucha. *Journal of the Science of food and Agriculture*, n. 104, p. 759 - 768, 2024.

KIM, J.; ADHIKARI, K. Current trends in kombucha: marketing perspectives and the need for improved sensory research. **Beverages**, v. 6, n. 1, p. 15, 2020.

KIM, J. H.; GYU, J. Y.; SANG, J. H.; HWA, M. O. Direct Detection of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella* spp. in Animal – derived Foods Using a Magnetic Bead – based Immunoassay. *National Library of Medicine*, v. 38; n. 4, p. 727 – 736, 2018.

KLUZ, M.I.; PIETRZYK, K.; PASTUSZCZAK, M.; KACANIOVA, M.; KITA, A.; KAPUSTA, I.; ZAGUŁA, G.; ZAGROBELNA, E.; STRUŚ, K.; MARCINIAK-LUKASIAK, K.; STANEK-TARKOWSKA, J.; TIMAR, A.V.; PUCHALSKI, C. Composição microbiológica e físico-química de vários tipos de bebidas caseiras de kombucha usando tipos alternativos de açúcares. *Alimentos*, n. 11, v. 10, p. 1523, 2022.

KNODLER, L. A.; ELFENBEIN, J. R. *Salmonella* enterica. *Trends in microbiology*, v. 27, n. 11, p. 964 – 965, 2019.

KOHORI, C. N.; JORGE, N. Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 29, n. 5, p. 1008 – 1014, 2005.

KUMAR, V., JOSHI, V. K. Kombucha: Technology, microbiology, production, composition and therapeutic value. *International Journal of Food and Fermentation Technology*, v. 6, n 1, p. 13 - 24, 2016.

KUZU, K. T.; AYKUT, G.; TEK, S.; YATMAZ, E. Production and Characterization of Kombucha Beverage from Different Sources of Tea and Its Kinetic Modeling. *Preprints*, v. 1, 2023.

KYUNGMI, M, S.; EBELER, E. Flavonoid effects on DNA oxidation at low concentrations relevant to physiological levels. *Food and Chemical Toxicology*, v. 46, p. 96-104, 2008.

LAHAVANYA, D; SHIVANAND, S; BALASUBRAMANIAN, P. Current challenges, applications and future perspectives of SCOBY cellulose of Kombucha fermentation. *Journal of Cleaner Production*, v. 295, 2021.

LANDIS, E. A., FOGARTY, E.; EDWARDS, J. C., POPA, O.; EREN, A. M.; WOLFE, B. E. Microbial diversity and interaction specificity in kombucha tea fermentations. *mSystems*, v.7, p. 157, 2022.

LA TORRE, C., FAZIO, A., CAPUTO, P., PLASTINA, P., CAROLEO, M. C.; CANNATARO, R.; CIONE, E. Effects of Long-Term Storage on Radical Scavenging Properties and Phenolic Content of Kombucha from Black Tea. *Molecules*, v. 26, n. 18, p. 5474, 2021.

LEAL, L.; VIANA, M. E. B.; RIBEIRO, S. J.; SOUZA, C. E. C.; ZANUTO, M. E. Potencial nutricional e funcional do maracujá-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.). *Revista Brasileira De Agrotecnologia*, n. 11, v. 2, p. 1000 -1007, 2021.

LEAL, J. M.; SUÁREZ, L. V.; JAYABALAN, R. OROS, J. H.; ABURTO, A. E. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *Cyta – Journal Food*, v. 16, p. 390 -399, 2018.

LIMA, J.D.; MAZZAFERA, P.; MORAES, W.S.; SILVA, R.B. Chá: aspectos relacionados à qualidade e perspectivas. *Ciência Rural*, v. 39, n.4, p. 1270-1278, 2009.

LYNCH, K. M.; ZANNINI, E.; WILKINSON, S.; DAENEN, L.; ARENDT, E. K. Physiology of Acetic Acid Bacteria and Their Role in Vinegar and Fermented Beverages. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food*, v. 18, n. 3, p. 587-625, 2019.

LONCAR, E., DJURIĆ, M., MALBASA, R., KOLAROV, L. J., & KLASNJA, M. (2006). Influence of working conditions upon Kombucha conducted fermentation of black tea. *Food and Bioproducts Processing*, v. 84, n. (3), p. 186–192, 2006.

MACEDO, R. D. C.; ALMEIDA, A. L.; AMARAL, R. Q. G.; MOTA, R. N.; SOUSA, P. H. M. Kombucha: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, v. 22, 2020.

MAGALHÃES, C. C. A. Estudo da produção de kombucha utilizando maracujá-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.). Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Feira de Santana. Feira de Santana, Bahia, p. 101, 2024.

MAGALHÃES, C. C. A.; ROMÃO, J. A.; ARAÚJO, G. S.; SANTOS, D. T.; De CARVALHO, G. B. M. Evaluation of nutritional supplementation with Palm Oil in high-gravity beer production. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, v. 10, 2019.

MALATERRE, A. S.; REMIZE, F.; POUCHERET, P. Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation. *Food Research International*, v.104, p. 86-99, 2018.

MALBASA, R., LONCAR, E., DJURIC, M. Comparison of the products of Kombucha fermentation on sucrose and molasses. *Food Chemistry*, v. 106, n. 3, p. 1039-1045, 2008.

MALBASA, R.; LONCAR, E., VITAS, J., CANADANOVIC-BRUNET, J. M. Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. *Food Chemistry*, v. 127, n. 4, p. 1727-1731, 2011.

MARSH, A. J., 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. 171-8. 2014.

MARTÍNEZ, L. J.; SUÁREZ, L. V.; JAYABALAN, R.; OROS, J. H.; ESCALANTE-ABURTO, A. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *Journal of Food*, v. 16, p. 390-399, 2018.

MC GEE, H. *On Food and Cooking: The Science and Lore of the Kitchen*, p. 435-41. Scribner, Nova Iorque, 2004.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother. Res*, v. 15, n. 2, p. 127-130, 2001.

MILLER, G. L. Use of de Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MIRANDA, J. F.; RUIZ, L. F.; SILVA, C. B.; UEKANE, T. M. SILVA, A. K.; GONZALEZ, A. G. M.; FERNANDES, F. F.; LIMA, A. R. Kombucha: A review of substrates, regulations, composition, and biological Properties. *Journal of Food Sciences* , v. 87, p. 503–527, 2022.

MIRANDA, J. F.; FERNANDES, F. F.; LIMA, A., R. Atividade antibacteriana de kombuchas comerciais. In: 1º Congresso de Segurança e Qualidade dos Alimentos. 2022.

MONTERO, D. A. V.; MARQUES, M. O. M.; MELETTI, L. M. M.; KAMPEN, M. H. V.; POLOZZI, S. C. Floral scent of Brazilian *Passiflora*: five species analysed by dynamic headspace. *The Anais of the Brazilian Academy of Sciences*, v. 88, n.3, p. 1191-1200, 2016.

MORAIS, S. M.; CAVALCANTI, E. S. B.; COSTA, S. M. O.; AGUIAR, L. A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 19, p. 315-320, 2009.

MUKHERJEE, A.; GÓMEZ-SALA, B.; O'CONNOR, E. M.; KENNY, J. G.; COTTER, P. D. Global Regulatory Frameworks for Fermented Foods: A Review. *Frontiers in Nutrition*, v.9, 2022.

NAGATO, L. A. F.; RODAS, M. A. B.; DELLA TORRE, J. C. M.; CANO, C. B.; YOTSUYANAGY, K. Parâmetros físicos e químicos e aceitabilidade sensorial de sucos de frutas integrais, maracujá e uva, de diferentes marcas comerciais brasileiras. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 6, n. 1, p. 127-136, 2003.

NASCIMENTO¹, L. C.; LIMA, M. Influência de diferentes fontes de açúcar sobre as propriedades físicas da kombucha. Universidade Federal de Uberlândia – MG, Faculdade de Engenharia Química (FEQUI), Curso de Engenharia de Alimentos, 2019.

NGUYEN V.T., FLANAGAN B., GIDLEY M.J., DYKES G.A. Characterization of Cellulose Production by a *Gluconacetobacter xylinus* Strain from Kombucha. *Current Microbiology*, v. 57, n. 5, p. 449-53, 2008.

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. *LWT – Food Science and Technology*, v. 64, n. 2, p. 1149– 1155, 2015.

NORONHA, M. C.; CARDOSO, R. R.; D'ALMEIDA, C. T. S.; do CARMO, M. A. V.; AZEVEDO, L.; MALTAROLLO, V. G.; JÚNIOR, J. I. R.; ELLER, M. R.; CAMERON, L. C.; FERREIRA, M. S. L.; DE BARROS, F. A. R. Black tea kombucha: Physicochemical, microbiological and comprehensive phenolic profile changes during fermentation, and antimalarial activity, *Food Chemistry*, v. 384, 2022.

NYIEW, K. Y.; KWONG, P. J.; YOW, Y. Y. An overview of antimicrobial properties of Kombucha. *Comprehensive Reviews in Food Science and food Safety*, v. 21, n. 2, p. 1024-1053, 2022.

OFORI, J. A.; OCLOO, A.; OFORI, M.; DORLEKU, W.P.; GBEWONYO, W.S.K. Kombucha protects against arsenic-induced protein peroxidation in rats. *Journal of Ghana Science Association*, v. 16, n. 2, 2015.

OLBA DO COUTO, G.; DE LIMA, C. P. Determinação de compostos fenólicos totais do chá verde e chá preto não fermentados e suas respectivas kombuchas. *Cadernos da Escola de Saúde*, v. 20, n. 2, p. 21-30, 2022.

OLIVERIA, M. J. X. Caracterização dos frutos do maracujaeiro-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast.) e superação de dormência de sementes. 2008. 61 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2008.

OLIVEIRA, S. N. (2016). Liofilização de polpa de maracujá-do-mato (*passiflora cincinnata* mast.) para obtenção de produtos alimentícios. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola). Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande, Paraíba, Brasil.

PALUDO, N. Desenvolvimento e caracterização de Kombucha obtida a partir de chá verde e extrato de erva-mate: processo artesanal e escala 47 laboratorial. 2017. 46 f. TCC (Graduação em Engenharia dos Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. 2017.

PADOVEZE, C.L. Introdução à administração Financeira: Texto e exercícios. 2. Ed. São Paulo: Cengage Learning, 2011.

PARAMITHIOTIS, S.; PATRA, J. K.; KOTSERIDIS, Y.; DIMOPOULOU, M. Fermented beverages revisited: from terroir to customized functional products. *Fermentation*, v.10, n. 1, p. 57, 2024.

PEDERSEN J.A. Kombucha: a tasty Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts. Nordic Food Lab, 2013.

PEZZINI, D. C. Z. Estudo envolvendo kombuchas produzidas de forma industrialmente e artesanalmente. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

PEREG, P. T.; NOVAL, B.; VALENZUELA, S.; MARTINEZ, J.; PRADO, D.; PERISÉ, R. ARBOLEYA, J. C. Microbiological and sensory characterization of kombucha SCOBY for culinary applications. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, n. 2, 2021.

PEREIRA, D. A.; MACRI, R. C. V., GIMENEZ, A. Z. Fatores que afetam a fermentação alcoólica. *Revista Ciência & Tecnologia Fatec*, v. 12, n. 1, 2020.

PERIOTO, C. Z.; BRANDÃ, ÉRIKA C. T. DOS A.; MOREIRA, J. DE M.; PRADO, A. A. O. S.; NETA, M. T. S. L.; & NARAIN, N. Potencial antioxidante e caracterização físico-química e microbiológica do kombucha / Antioxidant potential and physicochemical and microbiological characterization of kombucha. *Brazilian Journal of Development*, v. 8, n. 1, p. 739 – 751, 2022.

PHUNG, L. T.; KITWETCHAROEN, H.; CHAMNIPA, N.; BOONCHOT, N.; THANONKEO, S.; TIPPAYAWAT, P.; KLANRIT, P.; YAMADA, M.; THANONKEO, P. Changes in the chemical compositions and biological properties of kombucha beverages made from black teas and pineapple peels and cores. *Scientific Reports*, v. 13, n. 1, p. 7859, 2023.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants capacity of brassica vegetables: a review. *LWT: Journal of Food Composition and Analysis*, v. 40, p.1-11, 2007.

RETO, M.; FIGUEIRA, E.; FILIPE, H.M.; ALMEIDA, C.M.M. Teor de fluoretos em infusões de chá verde (*Camellia sinensis*). *Química Nova*, v. 31, n. 2, p. 317-320, 2008.

RIBEIRO, D. S.; MOREIRA, K. A.; ELLER, M. R.; STRINGHETA, P. C. Perfil cinético de pigmentos produzidos por *Monascus ruber* em efluente proveniente do processamento da mandioca. *Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 4, 2021.

RODRIGUES, R.S.; MACHADO, M.R.G.; BARBOZA, G.G.R.; SOARES, L.S.; HEBERLE, T.; LEIVAS, Y.M. Características físicas e químicas de Kombucha à base de chá de hibisco (*Hibiscus sabdariffa*, L.) Universidade Federal de Pelotas, p. 1-6, 2018.

ROSSETO, F. G; MIKCHA, J. M. G. Potencial antibacteriano do chá kombucha e sua associação com sorbato de potássio sobre bactérias de interesse em alimentos. 27º Encontro Anual de Iniciação Científica. Anais da Universidade Estadual de Maringá, 2018. Disponível em: <http://www.eaic.uem.br/eaic2018/anais/artigos/2703.pdf>.

SAIGG, N. L.; SILVA, M. C. Efeitos da utilização do chá verde na saúde humana. *Universitas: Ciências da Saúde*, v. 7, n. 1, p. 69-89, 2009.

SANTOS, A. R. DOS. Avaliação cinética da fermentação de chá de erva-mate tostada por SCOBY de kombucha. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.

SANTOS, R. T. S.; BIASOTO, A. C. T.; RYBKA, A. C. P.; CASTRO, C. D. P. C.; AIDAR, S. T.; BORGES, G. S. C.; SILVA, F. L. H. Physicochemical characterization, bioactive compounds, in vitro antioxidant activity, sensory profile and consumer acceptability of fermented alcoholic beverage obtained from Caatinga passion fruit (*Passiflora cincinnata* Mast.). *LWT*, v. 148, 2021.

SANTOS, Y. M. A.; MOTA, M. M. A.; SANTIAGO, A. M.; GOUVEIA, D. S.; DANTAS, R. L.; MOREIRA, I. S. Avaliação da composição de kombucha à base de diferentes chás (verde e preto). *Revista Brasileira de Gestão Ambiental*, v. 13, n 3, p. 1-6, 2019.

SANTOS, Y. M. A.; MOTA, M. M. A.; SANTIAGO, A. M.; GOUVEIA, D. S.; DANTAS, R. L.; SILVA, M. J. S. Desenvolvimento e caracterização de kombucha a base de diferentes chás e adoçados com açúcar demerara. *Revista Brasileira de Gestão Ambiental*, v. 13, n. 02, p. 01-08, 2019.

SANTOS, Y. M. A.; MOTA, M. M. de A.; GOUVEIA, D. S.; DANTAS, R. L.; SILVA, M. J. S.; MOREIRA, I. S., CHINELATE, G. C. B. Caracterização química de Kombucha a base de chás de hibisco e preto. *Revista Brasileira de Agrotecnologia. Ipameri*, v. 8, n. 3, p. 32-37, 2018.

SANTOS, M. J. Kombucha: caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração. Dissertação (Mestrado em Ciências Gastronômicas) - Faculdade de ciências e tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal, 119 p., 2016.

SANTOS, R. J. J.; XAVIER, L. F.; ANDRADE, R. B.; ALVES, S. R. Antimicrobial Activity of Broth Fermented with Kombucha Colonies. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, v. 1, n. 1, p. 72 – 78, 2009.

SANTOS, F. C. Caracterização físico-química do fruto e micropropagação do maracujá-do-sono (*Passiflora setacea* DC). Dissertação (Mestrado em agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras: UFLA, p. 65, 2006.

SCHIMITZ, W.; SAITO, A. Y.; ESTEVÃO, D.; SARIDAKIS, H. O. O chá verde e suas ações como quimio protetor. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina, v. 26, n. 2, p. 119-130, 2005.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. Biotecnologia Industrial, São Paulo. Edgard Blucher, v. 2, 540 p., 2001.

SHARMA, C.; BHARDWAJ, N. K. Biotransformation of fermented black tea into bacterial nanocellulose via symbiotic interplay of microorganisms. International Journal of Biological Macromolecules, v. 132, p. 166-177, 2019.

SILVA, J. C. J.; MEIRELES, I. M.; LIMA, I. B.; TRIBUZY, A. M. M. C. Kombucha: formulation, Chemical composition, and therapeutic potentialities. Current Research in Food Science, v. 5, p. 360 - 365, 2022.

SILVA, K. A.; UEKANE, T. M.; MIRANDA, J. F.; RUIZ, L. F.; MOTTA, J. C. B.; SILVA, C. B.; PITANGUI, N. S.; GONZALEZ, A. G. M; FERNANDES, F. F.; LIMA, A. R. Kombucha beverage from non-conventional edible plant infusion and green tea: Characterization, toxicity, antioxidant activities and antimicrobial properties. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, v. 34, 2021

SILVA, N. S. L.; FERREIRA, N. S. S.; SILVA, B. Silva A.; RIBEIRO, K. M. Verificação de viabilidade em amostra de kombucha. Revista de Iniciação científica e extensão, v. 2, n. 2, 2019.

SILVA, J. B.; KIZZY, M. F. M.; COSTA, W. A. C.; COELHO, Kalliane A. R. Paiva. Quantificação de fenóis, flavonoides totais e atividades farmacológicas de geoprópolis de *Plebeia aff. flavocincta* do Rio Grande do Norte. Pesquisa Veterinária Brasileira, n. 36, v. 9, p. 874-880, 2016.

SINGLETON, V. L.; ROSSI J.R., J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, v. 16, n. 3, p. 144-158. 1965.

SKOCIŃSKA, K. N.; SIONEK, B.; ŚCIBISZ, I.; KRAJEWSKA, D. K. Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. Journal of Food, v. 15, n. 4, p. 601-607, 2017.

SOARES, M. G.; LIMA, M.; SCHMIDT, V. C. R. Technological aspects of kombucha, its applications and the symbiotic culture (SCOBY), and extraction of compounds of interest: A literature review. Trends in Food Science & Technology, v. 110, p. 539-550, 2021.

SOUZA, Caroliny de Almeida. Avaliação imunológica promovida pelo consumo de kombucha em camundongos diabéticos. 2019. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

SOUZA, L.; ESPÓSITO, E. Determinação da atividade antibacteriana de kombucha preparado com quatro diferentes açúcares comerciais. In: Anais do 7 Congresso de Iniciação Científica da Universidade de Mogi das Cruzes; p. 43, 2009.

SREERAMULU, G.; ZHU, Y.; KNOL, W. Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 48, n.6, p. 2589 - 2594, 2000.

SREERAMULU, G.; ZHU, Y.; KNOL, W. Characterization of antimicrobial activity in kombucha fermentation. *Acta Biotechnol*, v. 21, p. 49– 56, 2001.

SRIHARI, T.; KARTHIKESAN, K.; ASHOKKUMAR, N.; SATYANARAYANA, U. Antihyperglycemic efficacy of kombucha in streptozotocin-induced rats. *Journal of Functional Foods*, v. 5, n. 4, p. 1794-1802, 2013.

SU, J.; TAN, Q.; ABBAS, B.; YANG, M. Application of kombucha fermentation broth for antibacterial, antioxidant, and anti-inflammatory processes. *International Journal of Molecular Sciences*, n. 24, p18, 2023.

SUN, T.Y.; LI, J. S.; CHEN, C. Effects of blending wheatgrass juice on enhancing phenolic compounds and antioxidant activities of traditional kombucha beverage. *Journal of Food and Drug Analysis*, n.23, p. 709-718, 2015.

TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Versão 4, Quarta edição, 2011. Campinas – SP, 2011, 161p.

THORAT, M. N.; DASTAGER, S. G. High yield production of cellulose by a *Komagataeibacter rhaeticus* PG2 strain isolated from pomegranate as a new host. *RSC Advances*, v. 8, n. 52, p. 29797-29805, 2018.

TSURU, V. H.; GOMES, R. J.; SILVA, J. R.; PRUDENCIO, S. H.; COSTA, G. N.; SPINOSA, W. A. Physicochemical, antioxidant and sensory properties of Kombucha beverages obtained from *oolong* or yerba mate tea fermentation. *Research Society and Development*, v. 10, n. 1, 2021.

TU, C.; YU, T.; FENG, S.; XU, N.; MASSAWE, A.; SHUI, S.; ZHANG, B. Dynamics of microbial communities, flavor, and physicochemical properties of kombucha-fermented *Sargassum fusiforme* beverage during fermentation. *LWT*, v. 192, 2024.

VALIYAN, F.; KOOHSARI, H.; FADAVI, A. Use of response surface methodology to invstigate the effect of several fermentation conditions on the antibacterial. *Journal of Food Science Technology*, v. 58, p. 1877-1891, 2021.

VARGAS, B. K.; FABRICIO, M. F.; AYUB, M. A. Z. Health effects and probiotic and prebiotic potential of Kombucha: A bibliometric and systematic review. *Food Bioscience*, v. 44, Part A, 2021.

VIEIRA, E. P.; PINTO, O. G.; MORAIS, K. C.; SANTANA, E. S. Análise da ação da kombucha e suas propriedades. *Enciclopédia Biosfera*, v. 18, n. 38, p. 64, 2021.

VILLARREAL-SOTO, S. A.; BOUAJILA, J.; PACE, M.; LEECH, J.; COTTER, P. D.; SOUCHARD, J. P.; TAILLANDIER, P.; BEAUFORT, S. Metabolome- microbiome signatures in the fermented beverage, Kombucha. *Journal of Food Microbiology*, v. 16, n. 333, p. 108-178, 2020.

VILLARREAL-SOTO, S. A.; BEAUFORT, S.; BOUAJILA, J.; SOUCHARD, J.; TAILLANDIER, P. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of Food Science*, v. 83, n. 3, p. 580-588, 2018.

VILLAREAL-SOTO, S. A.; BEAUFORT, S.; BOUAJILA, J.; SOUCHARD, J. P.; RENARD, T.; ROLLAN, S.; TAILLANDIER, P. Impact of fermentation conditions on the production of bioactive compounds with an-ticancer, anti-inflammatory and antioxidant properties in kombucha tea extracts. *Process Biochemistry*, v. 83, p. 44-54, 2019.

VITAS, J. S.; CVETANOVIC, A. D.; MASKOVIC, P. Z.; SVARC-GAJIC, J. V.; MALBASA, R. V. Chemical composition and biological activity of novel types of kombucha beverages with yarrow. *Journal of Functional Foods*, v. 44, p. 95-102, 2018.

WANG Y, JI B, WU W, WANG R, YANG Z, ZHANG D, TIAN W. 2014. Hepatoprotective effects of kombucha tea: identification of functional strains and quantification of functional components. *J Sci Food Agric*, v. 94, p. 265– 72, 2014.

WANG, X.; WANG, D.; WANG, H.; JI AO, S.; WU, J.; HOU, Y.; SUN, J.; YUAN, J. Chemical Profile and Antioxidant Capacity of Kombucha Tea by the Pure Cultured Kombucha. *Food Science and Technology*, v. 168, 2022.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A. 1998. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of Apicultural Research*, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

WONGTHAI, N.; TANTICHARAKUNSIRI, W.; MANGMOOL, S.; OCHAIKUL, D. Characteristics and antioxidant activity of royal lotus pollen, butterfly pea flower, and oolong tea kombucha beverages. *Asia-Pacific Journal of Science and Technology*, v. 26, n. 04, p. 26, 2021.

ZANDONAI, J. C., CECCHIN, T., ARRUDA, P. V., CAMARGO, D.; AGUIAR, C. M (2020). Kombucha: Influência de diferentes fontes de carbono e chás sobre a concentração de compostos fenólicos. XXIV Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da UTFPR.

ZERAIK, M. L.; YARIWAKE, J. H. Quantification of isoorientin and total flavonoids in *Passiflora edulis* fruit pulp by HPLC-UV/DAD. *Microchemical Journal*, 2010.

ZIEMLEWSKA, A., NIZIOŁ-ŁUKASZEWSKA, Z., BUJAK, T. Efeito do tempo de fermentação sobre o teor de compostos bioativos com propriedades cosméticas e dermatológicas em extratos de Kombucha Yerba Mate. *Scientific reports*, v. 11, 2021.

ZUBAIDAH, E.; AFGANI, C.A.; KALSUM, U.; SRIANTA, I.; BLANC, P.J. Comparison of in vivo antidiabetes activity of snake fruit kombucha, black tea kombucha and metformin. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 17, p. 465 -469, 2018.