

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ENGENHARIA QUÍMICA
BACHARELADO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

MAIRA ELOISA BATISTA

**INFLUÊNCIA DOS TIPOS DE SUBSTRATOS NA CINÉTICA MÁSSICA
DE PRODUÇÃO DA PELÍCULA CELULÓSICA DO KOMBUCHA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**PONTA GROSSA
2019**

MAIRA ELOISA BATISTA

**INFLUÊNCIA DOS TIPOS DE SUBSTRATOS NA CINÉTICA MÁSSICA
DE PRODUÇÃO DA PELÍCULA CELULÓSICA DO KOMBUCHA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química, do Departamento Acadêmico de Engenharia Química, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Orientador: Prof^o. Dr. César Augusto Canciam

PONTA GROSSA

2019



TERMO DE APROVAÇÃO

Influência dos tipos de substratos na cinética mássica de produção da película
celulósica do Kombucha

por

Maira Eloisa Batista

Monografia apresentada no dia 04 de dezembro de 2019 ao Curso de Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Ponta Grossa. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

M.Sc. Luciano Moro Tozetto
(UTFPR)

Prof. M.Sc. Luis Alberto Chavez Ayala
(UTFPR)

Prof. Dr. César Augusto Canciam
(UTFPR)
Orientador

Profa. Dra. Juliana de Paula Martins
Responsável pelo TCC do Curso de Engenharia Química

O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Curso.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que nos possibilita viver nesse universo incrível, conhecer pessoas maravilhosas e fazer coisas que nós mesmos muitas vezes duvidamos que seja possível.

Agradeço a minha mãe Eva, meus irmãos Maicon e Carlos, meu Vô Saul, minhas tias Helena e Tereza, meu tio Luciano, meus primos Guilherme, Michele, Tiago, Pamela, Bruna, Gabriel e Lucas por acreditarem em mim e apoiarem as minhas escolhas. Também agradeço a minha vó Tereza, ao meu tio Sergio e ao seu Mário que mesmo não estando mais aqui me ensinaram muito.

Aos meus amigos, Rosana, Guilherme, Alexandre Malu e Jedi que mesmo longe sempre estiveram comigo, compartilhando momentos bons e ruins e que me ajudaram a superar cada obstáculo. Em especial a Rosana que sempre me ouvia e me aconselhava.

E também aos amigos que estiveram ao meu lado dia a dia nessa trajetória, Felipe, Sabrina, Thais, Valesca e todos os outros que foram parceiros de estudos (muitos estudos), PET, almoços no RU e lanches na tia do uno, almoços de domingos e muito mais.

A todos os meus professores, em especial ao meu orientador Canciam, por toda a sua paciência e apoio durante o TCC, a Juliana e a Elis que foram minhas tutoras no PET, ao Luciano vizinho de sala que dividia café, experiências e conselhos, ao Ayala pelas aulas e contribuição como banca, com certeza um dos meus melhores professores. E a UTFPR por todos os serviços prestados ao longo dessa caminhada, a Marcia e ao Albari do NUAPE, ao Carlinhos e o pessoal da portaria, ao Boaventura e pessoal do DERDI e todos os outros que fizeram tudo isso possível.

Por fim, agradeço a ong Em Ação, prof Marcelo e todos os outros professores e voluntários que me inspiram e dão forças para buscar não apenas a graduação, mas todos os nossos sonhos.

“Aqueles que sonham de dia são conscientes das muitas coisas que escapam daqueles que sonham apenas à noite.”

(Edgar Allan Poe)

RESUMO

BATISTA, Maira Eloisa (2019). **Influência dos tipos de substratos na cinética mássica de produção da película celulósica do Kombucha**. 2019. 39 p. Trabalho de Conclusão de Curso - Departamento de Engenharia Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2019.

O Kombucha é uma bebida milenar, descoberta na China obtida por meio da fermentação de chá adoçado empregando uma película celulósica constituída de leveduras e bactérias. A película celulósica também conhecida como SCOBY (abreviação do inglês, Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts, em português, Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras) é a responsável pela fermentação dando origem a bebida e a uma nova película. Constituído principalmente por celulose, leveduras e bactérias. Além da produção da bebida, outras alternativas estão sendo desenvolvidas para o uso da película celulósica. Alguns estudos utilizam essa matriz para tratamentos de queimaduras e lesões dérmicas, para a remoção de poluentes metálicos de soluções aquosas, como biomaterial na engenharia de tecido nervoso, na alimentação de aves e o uso na fabricação de roupas veganas. Os substratos utilizados na fermentação do Kombuchá são o chá e o açúcar, sendo os mais usados o chá preto ou verde e o açúcar cristal. Devido a fácil obtenção da película celulósica e as suas características promissoras o presente estudo visa analisar a influência do tipo de substratos (chá e açúcar) na cinética de produção da película celulósica do Kombucha.

A película celulósica obtida por doação de um produtor caseiro em Curitiba, foi cultivada de acordo com a literatura consultada, comparando a variação mássica em diferentes substratos. Os resultados obtidos estão de acordo com o encontrado na literatura, sendo o mel um substrato que apresentou uma maior variação mássica em comparação com o açúcar. E em relação ao chá, o chá preto obteve um melhor resultado comparado com o chá verde.

PALAVRAS CHAVES: Película Celulósica, Kombucha, Substratos.

ABSTRACT

BATISTA, Maira Eloisa (2019). **Influência dos tipos de substratos na cinética mássica de produção da película celulósica do Kombucha**. 2019. 39 p. Trabalho de Conclusão de Curso - Departamento de Engenharia Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2019.

Kombucha is an ancient drink discovered in China obtained by fermenting sweetened tea using a cellulosic film made of yeast and bacteria. The cellulosic film also known as SCOBY (English abbreviation, Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts, in Portuguese, Symbiotic Bacteria and Yeast Culture) is responsible for the fermentation giving rise to drink and a new film. Mainly made up of cellulose, yeast and bacteria. Its composition. In addition to beverage production, other alternatives are being developed for the use of cellulosic film. Some studies use this matrix for burn and dermal injury treatments, for the removal of metallic pollutants from aqueous solutions, such as biomaterial in nerve tissue engineering, poultry feeding and the use in the manufacture of vegan clothing. The substrates used in Kombucha fermentation are tea and sugar, the most used being black or green tea and crystal sugar. Due to the easy obtainment of the cellulosic film and its promising characteristics, this study aims to analyze the influence of substrate type (tea and sugar) on the kinetics of Kombucha cellulosic film production.

The cellulosic film obtained by donation from a home producer in Curitiba was cultivated according to the literature, comparing the mass variation in different substrates. The obtained results are in agreement with the literature, being the honey a substrate that presented a bigger mass variation in comparison with the sugar. And in relation to tea, black tea got a better result compared to green tea.

KEYWORDS: Cellulosic Film, Kombucha, Substrates.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Relação entre o pH ácido dos alimentos e a microbiota	17
Quadro 2 – Benefícios do chá verde e preto	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Medidas de pH realizadas	29
Tabela 2 - Valores da massa da película celulósica	32
Tabela 3 - Rendimento médio do crescimento da película celulósica em relação ao mel e ao açúcar.....	35

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Produção de Kombucha com chá preto.....	19
Figura 2 – Película celulósica da Kombucha	21
Figura 3 – Roupas veganas fabricadas com o SCOBY	22
Figura 4 – Fluxograma das etapas envolvidas	27
Figura 5 - Produção de Kombucha	27
Figura 6 – Películas celulósicas no fim da fermentação	31

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Variação do pH com o passar do tempo	30
Gráfico 2 – Variação da massa da película celulósica com o tempo	32
Gráfico 3 – Crescimento de bactérias acéticas com o tempo	33

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GERAL	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3	REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1	FERMENTAÇÃO.....	16
3.2	KOMBUCHA	18
3.3	PELÍCULA CELULÓSICA	20
3.4	SUBSTRATOS.....	22
4	MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1	PREPARO DA KOMBUCHA	26
4.2	ANÁLISES REALIZADAS	28
4.3	CÁLCULO DE RENDIMENTO	28
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1	ANÁLISE DO PH.....	29
5.2	VARIAÇÃO MÁSSICA DA PELÍCULA CELULÓSICA.....	31
5.3	RENDIMENTO	34
6	CONCLUSÃO	36
	REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

Com o aumento da expectativa de vida, as pessoas começaram a tomar consciência e adquirir hábitos que contribuam para o seu bem-estar. Junto a isso, as informações sobre os efeitos benéficos dos alimentos na saúde estão mais acessíveis, provocando o interesse das pessoas na prevenção de doenças ao invés de optarem somente pela cura (RONCONI, 2009).

O Kombucha é uma bebida milenar, descoberta na China obtida por meio da fermentação de chá adoçado empregando uma película celulósica constituída de leveduras e bactérias (MARSH et al., 2014). Possui um sabor azedo, porém adocicado e pode ser saborizado com frutas (PALUDO, 2017). Popular na China devido aos indícios de seus efeitos benéficos na saúde a bebida vem se difundindo por todo mundo, seu consumo teve uma alta em alguns países da Europa, nos Estados Unidos e chegou ao Brasil (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000).

A película celulósica também conhecida como “mãe da Kombucha” ou SCOBY (abreviação do inglês, Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts, em português, Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras), (PALUDO, 2017) é a responsável pela fermentação dando origem a bebida e a uma nova película. Constituído principalmente por celulose, leveduras e bactérias. Sua composição exata ainda não foi encontrada, variando de acordo com a fermentação (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000).

Além da produção da bebida, outras alternativas estão sendo desenvolvidas para o uso da película celulósica. Alguns estudos utilizam essa matriz para tratamentos de queimaduras e lesões dérmicas, para a remoção de poluentes metálicos de soluções aquosas, como biomaterial na engenharia de tecido nervoso, na alimentação de aves e o uso na fabricação de roupas veganas (SANTOS, 2016).

Os substratos utilizados na fermentação do Kombuchá são o chá e o açúcar, sendo os mais usados o chá preto ou verde e o açúcar cristal. Estudos com outras fontes de substratos foram realizados. Malbasa, Loncar e Djuric (2007), compararam o melado de beterraba e a sacarose, obtendo uma variação da biomassa de nove vezes mais para o melado com a manutenção do sabor, cor e teor de ácido lático.

Os chás são obtidos da planta *Camellia Sinenses* e além do seu sabor agradável possui efeitos benéficos a saúde (BALENTINE; WISEMAN; BOUWENS, 1997). Os chás verde e preto se diferem devido ao grau de oxidação na sua

produção. Para a produção de chá verde utiliza-se folhas frescas da planta escaldadas e fervidas para evitar a oxidação enzimática das catequinas, promovendo uma alta concentração de catequinas e baixa de teaflavinas. E o chá preto utiliza folhas envelhecidas pela oxidação aeróbica das catequinas, apresentado alta concentração de teaflavinas e baixa de catequinas (BRAIBANTE et al., 2014).

O açúcar é um carboidrato extraído da cana de açúcar, beterraba e outras plantas. O açúcar cristal ou refinado é composto por mais de 99 % de sacarose, que quando hidrolisado resulta em glicose e frutose, essa reação é conhecida como inversão da sacarose e o produto resultante é chamado de açúcar invertido. O mel é obtido naturalmente das plantas e composto por diferentes açúcares, além de proteínas, aminoácidos, enzimas, ácidos orgânicos, minerais, pólen e vestígios de fungos, algas e leveduras. Utilizado desde a pré-história na alimentação humana, é um importante adoçante natural (VICENTE; CENZANO; VICENTE, 1996; CAMARGO et al., 2006). Devido a fácil obtenção da película celulósica e as suas características promissoras o presente estudo visa analisar a influência do tipo de substratos (chá e açúcar) na cinética mássica de produção da película celulósica do Kombucha.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos de diferentes substratos na cinética mássica da película celulósica do Kombucha.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a variação do pH da bebida produzida com diferentes substratos;
- Analisar a variação mássica da película celulósica do Kombucha em diferentes substratos.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 FERMENTAÇÃO

A palavra fermentação, segundo a sua origem significa ferver, antigamente atribuía-se a processos que geravam uma pequena ebulição, como o vinho. Com o avanço nos estudos, o conceito de fermentação evoluiu, segundo Gay-Lussac, a fermentação correspondia a cisão do açúcar em álcool e gás carbônico e Pasteur a associou com microrganismos e enzima. Um conceito mais recente, define fermentação como qualquer processo em que ocorra trocas químicas entre um substrato, pela ação de microrganismos (BORZANI *et al.*, 2001).

O processo de fermentação pode ser classificado quanto ao produto formado, como alcoólica, acética e láctica, que envolvem os produtos gerados no processo de produção do Kombucha. A fermentação alcoólica transforma açúcares solúveis em etanol, para isso a sacarose é convertida em glucose e frutose pela ação das leveduras, que serão transformadas em etanol e gás carbônico. As leveduras não são capazes de decompor açúcares complexos, como a celulose (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

A fermentação acética é realizada por bactérias acéticas que transformam o álcool etílico em ácido acético. A bactéria *Aceti xilinum* forma uma massa mucilaginosa que pode inibir a produção de ácido acético. E na fermentação láctica ocorre a oxidação anaeróbica parcial de carboidratos em ácido láctico e outras substancias orgânicas (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

Para o processo de fermentação é necessário que os microrganismos se multipliquem, portanto necessita que algumas condições, referentes ao meio e ao substrato sejam observadas e variam de organismo para organismo. As principais condições que interferem são o pH, o potencial redox, o conteúdo de nutrientes, microbiota e temperatura (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

O pH mede a concentração de H^+ na solução e quanto maior a concentração de dessa espécie, menor será o pH e mais ácida será a substância. Os alimentos podem ser classificados conforme seu pH (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008). No Quadro 1 podem ser vistas as faixas de pH para alimentos ácidos e as características da microbiota.

Quadro 1 – Relação entre o pH ácido dos alimentos e a microbiota

Faixa de pH	Características da microbiota
Pouco ácido pH >4,5	Variada: maioria das bactérias, bolores e leveduras.
Ácido 4,0 < pH < 4,5	Restrita para algumas bactérias: condições ótimas para bolores e leveduras.
Muito ácido pH < 4,0	Bastante restrita: bactéria lácticas e acéticas, bolores e leveduras.

Fonte: Gava, 2008.

Outro fator que influencia a fermentação é a presença ou não de oxigênio que contribui para o potencial redox do ambiente. Assim, os microrganismos podem ser classificados em aeróbios (necessitam de oxigênio), anaeróbios (ausência de oxigênio) e facultativos (se desenvolvem na presença e na ausência de oxigênio). Na fermentação, o fator conteúdo de nutrientes interfere na reprodução e no desenvolvimento de nutrientes, além de interferir no aroma e sabor dos alimentos (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

Os microrganismos podem competir entre si ou um pode favorecer o crescimento do outro, constituindo a metabiose. Quando existe as condições necessárias para o crescimento de todos os tipos de microrganismos, as bactérias crescem mais rápido que as leveduras e essas crescem mais que os bolores. E, por fim, a temperatura afeta o crescimento dos microrganismos, existindo uma temperatura ótima e conforme varia esse aspecto diminui a velocidade de crescimento até que os microrganismos parem de se multiplicar (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

No processo de fermentação do Kombucha ocorre a produção de etanol, ácido láctico, ácido acético e ácido glucônico, além de gás carbônico. As leveduras transformam a sacarose disponível no açúcar presente no chá em frutose e glucose. O etanol produzido é consumido pelas bactérias acéticas para gerar ácido acético, na presença de ácido glucônico a produção de etanol aumenta (SANTOS, 2016). E as bactérias lácticas convertem o etanol e o ácido acético em ácido láctico. E conforme vai aumentando a concentração dos ácidos, o pH da solução vai diminuindo (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000). O aroma, sabor e a cor do Kombucha são modificados principalmente pela ação das leveduras dos gêneros *Zygosaccharomyces* e *Saccharomyces*, produzindo um aroma semelhante ao da sidra e a cor fica mais clara em relação a cor original (SANTOS, 2016).

O substrato mais utilizado é o açúcar cristal e alguns estudos foram realizados com outras fontes de nutriente, como Coca-Cola, vinho tinto, vinho branco, vinagre, extrato de alcachofra de Jerusalém (*Helianthus tuberosus*), leite, soro de leite doce fresco, soro de leite doce reconstituído, soro de leite ácido, *Echinacea*, *Mentha* e melão de beterraba. Malbasa, Loncar e Djuric (2007), compararam o melão de beterraba e a sacarose, obtendo uma variação da biomassa de nove vezes mais para o melão com a manutenção do sabor, cor e teor de ácido láctico.

3.2 KOMBUCHA

O Kombucha, também chamado de “chá do fungo”, é uma bebida que teve origem na China, cerca de 2000 anos atrás, difundiu-se pelo mundo, começando pela Rússia e Alemanha. (SREERAMULU; ZHU; KNOL, 2000; MARSH *et al.*, 2014). A bebida se tornou popular devido aos relatos e indícios de seus efeitos benéficos a saúde, como desintoxicação do fígado, prevenção ao câncer e ao diabetes, tratamento de úlceras gástricas e hipercolesterolemia, porém seus efeitos ainda não foram comprovados cientificamente (MARSH *et al.*, 2014).

Apesar de muitos indícios dos benefícios do Kombucha, em alguns casos relacionou-se o consumo da bebida com reações adversas, como estômago irritado, reações alérgicas e em indivíduos com sensibilidades a ácidos e insuficiências renais apresentaram melhoras quando pararam de ingerir a bebida (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000).

O Kombucha é uma bebida produzida a partir da fermentação de uma matriz celulósica com chá, conforme Figura 1. Segundo Dufresne e Farnworth (2000), o Kombucha é feito a partir da infusão de folhas de chá por até 10 minutos, após são retiradas as folhas e adicionado sacarose, aproximadamente 50 g/L. Em um recipiente de vidro é colocado o chá adoçado e quando este estiver na temperatura entre 20 e 30 °C, acrescenta-se uma película celulósica de uma fermentação anterior. O frasco deve ser vedado de forma que ocorra a passagem de oxigênio e evite a contaminação por poeira e outros microrganismos, geralmente utiliza-se um pano preso com elástico. O tempo de fermentação recomendado deve ser entre 1 e 8 semanas.

Retira-se a película celulósica e obtêm-se uma bebida fermentada com sabor levemente azedo que pode ser consumida assim ou passar por uma segunda fermentação para carbonatar e saborizar, para isso transfere-se a bebida para uma garrafa de plástico com tampa, adiciona açúcar ou frutas e aguarda de 1 a 3 dias até a garrafa ficar firme devido a produção de gás (SANTOS, 2016).

Figura 1 – Produção de Kombucha com chá preto



Fonte: Autoria própria.

O Kombucha é composto principalmente por ácido acético, etanol, ácido glicônico, ácido lático, ácido glucurônico, ácido fenólico, vitamina B e enzimas. Esses componentes são produzidos durante o processo de fermentação, por meio da ação dos microrganismos presentes na película celulósica que transformam a sacarose nos ácidos presentes na bebida e celulose que forma uma nova película (CHU; CHEN, 2006).

Muitas vezes, a produção do Kombucha realiza-se em ambiente não fabril (caseiro) com isso o risco de contaminação aumenta. Estudos indicaram que a esterilização pela autoclave promove a geração de produtos tóxicos. Os microrganismos presentes no chá e os compostos formados, ácido acético e etanol, possuem ação antimicrobiana capaz de impedir o crescimento de contaminantes do chá (MARSH *et al.*, 2014).

O Kombucha é consumido como uma bebida refrescante e com alto grau de carbonatação, com sabor semelhante ao espumante e pode ser consumida no lugar do refrigerante, sendo uma opção saudável e não alcoólico (PALUDO, 2017). O jornal Valor Econômico (2018) divulgou que essa é a bebida que mais cresce no mundo, com um crescimento médio de 25 % ao ano e estima-se que até o fim de 2020 movimentará cerca de 1,8 bilhão de dólares.

No Brasil, a produção da bebida cresceu no último ano, com o surgimento de diversas marcas, conforme a revista Casa Vogue (2018). No Paraná, uma das fábricas onde a bebida é produzida é a fábrica Campo Largo, além da Biozen e outras fabricantes artesanais. Como já existe em outros lugares do mundo, foi inaugurado em janeiro de 2017 o primeiro bar especializado em Kombucha do Brasil, localizado em São Paulo, onde o cliente pode consumir a bebida na loja, direto de barris de chope ou adquirir as garrafinhas.

O Kombucha é regulamentado pela portaria nº 64, de 14 de maio de 2018, do Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento permite uma acidez máxima de 60 meq/L e um teor alcoólico de 1,5% v/v e a adição de fruta, mel, especiarias naturais e aditivos. O Food and Drug Administration recomenda o consumo diário de até 118 mL e não recomenda para indivíduos com função imune comprometida, mulheres grávidas ou lactantes e crianças pequenas.

3.3 PELÍCULA CELULÓSICA

A película celulósica do Kombucha, encontra-se na superfície da bebida, como mostrado na Figura 1. A película possui uma aparência gelatinosa e forma-se por camadas de baixo para cima, sendo assim a camada superior é a mais nova película, como mostrado na Figura 2 (SANTOS, 2016). Também chamada de microbiota, “mãe da kombucha” ou SCOBY (abreviação do inglês, Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts, em português, Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras), (PALUDO, 2017), é responsável pela fermentação do chá e pela formação de uma nova película celulósica (SANTOS, 2016).

Figura 2 – Película celulósica da Kombucha



Fonte: Autoria própria.

Não foi determinada com exatidão a composição do Kombucha, além de ter muitos microrganismos presentes, a composição varia de acordo com os substratos, o tempo de fermentação e a película inoculada inicialmente (CHU; CHEN, 2006).

Constituído principalmente por celulose, leveduras e bactérias sua composição exata ainda não foi encontrada e varia assim como a bebida. As principais leveduras e bactérias presentes na microbiota são *Saccharomyces* e *Zygosaccharomyces*, responsáveis pelos compostos que conferem o aroma da bebida são encontrados nos xaropes, mel e sucos de fruta concentrada e são fermentadoras de açúcares. São encontrados ainda: *Saccharomycodes*, *Schizosaccharomyces*, *Brettanomyces/Dekkera*, *Candida*, *Torulospora*, *Pichia* são consumidoras de ácidos orgânicos, assim diminuem a acidez da bebida, *Torula*, *Torulopsis*, *Mycotorula* e *Mycoderma* (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000).

A maioria das bactérias presentes são as acéticas, pertencente aos gêneros *Acetobacter*, *Gluconobacter* e *Gluconacetobacter*, sendo a *Xylinus/Komagataeibacter xylinus* (anteriormente conhecida como *Acetobacter xylinum*) considerada a mais importante por produzir a celulose. A cafeína presente no chá e outras substâncias estimulantes auxiliam na síntese da celulose. Também são as responsáveis pela produção de ácido acético a partir da oxidação do etanol, podem oxidar outros compostos, gerar diferentes substâncias e formar uma película de massa bacteriana (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008). Além dessa bactéria, encontraram outras, como: *A. xylinoides*, *A. pasteurianus*, *A. aceti*, *Bacterium gluconicum* e *Gluconobacter oxydans* (SANTOS, 2016).

A película de celulose possui outras aplicações, além da produção da bebida e uso na alimentação (saladas e natas). Utilizou-se a película para substituir a pele humana em tratamento de queimaduras e lesões dérmicas, para a remoção de poluentes metálicos de soluções aquosas, como biomaterial na engenharia de tecido nervoso, na alimentação de aves e na fabricação de roupas veganas, algumas peças estão apresentadas na Figura 3 (SANTOS, 2016).

Figura 3 – Roupas veganas fabricadas com o SCOBY



Fonte: British Science Association, 2012.

3.4 SUBSTRATOS

Para a fermentação do Kombucha, os substratos utilizados são o chá e o açúcar. O chá teve origem na China, há 5000 anos atrás. É a segunda bebida mais popular do mundo, ficando atrás somente da água (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000). Os maiores produtores são os países do sudeste asiático, incluindo China, Índia, Japão, Tailândia, Sri Lanka e Indonésia. Na produção do Kombucha utiliza-se o chá preto ou o chá verde. Diversos estudos apresentaram as diferenças devido ao chá utilizado (PALUDO, 2017).

Os chás são obtidos da planta *Camellia Sinenses* e além do seu sabor agradável possui efeitos benéficos a saúde (BALENTINE; WISEMAN; BOUWENS, 1997). Suas características resultam dos processos químicos aplicados durante o processo. O chá é composto principalmente de polifenóis da classe dos flavonoides, entre eles se destacam as catequinas; vitaminas C e do complexo B, ácidos fenolcarboxílicos; taninos antioxidantes; cafeína; teofilina e treobomina (MORAIS, 2009). Entre os compostos, os polifenóis representam 30% da massa seca, são

incolores, solúveis em água e responsáveis pelo amargor e adstringência (BRAIBANTE *et al.*, 2014).

Os chás se diferem devido ao grau de oxidação na sua produção. Para a produção de chá verde utiliza-se folhas frescas da planta escaldadas e fervidas para evitar a oxidação enzimática das catequinas, promovendo uma alta concentração de catequinas e baixa de teaflavinas. E o chá preto utiliza folhas envelhecidas pela oxidação aeróbica das catequinas, apresentado alta concentração de teaflavinas e baixa de catequinas. Devido as diferenças na composição dos chás, cada tipo possui diferentes benefícios à saúde, conforme mostra o Quadro 2 (BRAIBANTE *et al.*, 2014). Nos países do Ocidente o chá preto é o mais consumido, enquanto no Oriente é o chá verde (PALUDO, 2017).

Quadro 2 – Benefícios do chá verde e preto

Tipo de chá	Benefícios à saúde
Chá verde	Reduz a incidência de doenças crônicas
	Antioxidante
	Antialérgico
	Antibacteriano
Chá preto	Anticarcinogênico
	Antimutagêncio
	Reduz a incidência de doenças crônicas
	Antioxidante
	Melhoria da função vasomotora
	Redução de peso
	Diminuição do colesterol

Fonte: Adaptado de Braibante et al., 2014.

Para produção do Kombucha utiliza-se tanto o chá verde quanto o chá preto, sendo o chá preto considerado o melhor substrato (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000). Entretanto, alguns estudos utilizou o chá verde devido ao sabor menos intenso e seu menor teor de inativação enzimática (PALUDO, 2017).

O açúcar é um carboidrato extraído da cana de açúcar, beterraba e outras plantas, sendo o mais utilizado o produzido a partir da cana pois tem um sabor doce se comparado com o de beterraba que possui um pequeno amargor. O açúcar cristal e o refinado são compostos por mais de 99 % de sacarose, são obtidos a partir da cristalização do caldo de cana eliminando outras substâncias presentes. O açúcar

refinado é obtido da mesma forma que o cristal sendo mais triturado e branqueado (CARRETTA, 2006).

A sacarose quando hidrolisada resulta em glicose e frutose, essa reação é conhecida como inversão da sacarose e o produto resultante é chamado de açúcar invertido. Como substituto do açúcar, em estudo citado, utilizou-se o melado de beterraba que é composto por até 50 % de sacarose, 2 % de açúcar invertido, 25 % de água e 15 % de minerais (VICENTE; CENZANO; VICENTE, 1996).

O mel é composto por diferentes açúcares, sendo 40 % de frutose, 38 % de glicose e 2 % de sacarose. Também são encontrados no mel, proteínas, aminoácidos, enzimas, ácidos orgânicos, minerais, pólen e vestígios de fungos, algas e leveduras. Seu sabor e aroma são variáveis, dependem das plantas de origem e sua cor varia do incolor ao quase preto, seu aspecto pode ser fluido, viscoso ou cristalizado (VICENTE; CENZANO; VICENTE, 1996). Devido a sua composição, em condições favoráveis, o mel pode ser fermentado. Os microrganismos presentes podem consumir os açúcares se colocados em grandes quantidades de água, produzindo etanol e gás carbônico (CAMARGO *et al.*, 2006). Para evitar a contaminação do mel por microrganismos patogênicos pode-se realizar o processo de pasteurização do mel.

O processo de pasteurização é um método utilizado para conservação de alimentos, como o leite. Em um estudo realizado comparando a qualidade microbiológica do leite antes e depois do processo de pasteurização concluiu-se que após o processo térmico o leite apresentou ausência de contaminação (MATA; TOLEDO; PAVIA, 2012). O processo foi criado em 1864, pelo químico francês Louis Pasteur, esse tratamento é realizado em duas etapas: primeiro o produto é aquecido em determinada temperatura, por determinado tempo e logo após é resfriado rapidamente. A pasteurização se divide em dois tipos: lento, onde a temperatura é em média 62°C e o tempo aproximado é de 30 minutos, ou rápido com temperatura de 72°C e o tempo de 15 segundos (VASCONCELOS; FILHO, 2010).

A temperatura e o tempo de aquecimento são previstos de acordo com os microrganismos que deseja eliminar, também deve ser considerado a manutenção das características do produto para não perder a qualidade. Para garantir as principais características do mel e a eliminação da maior parte dos microrganismos patogênicos a temperatura deve ser de até 65°C (VILLAS-BÔAS, 2012).

No Brasil, o mel é produzido durante o ano todo devido a sua flora diversificada e o clima tropical, o que possibilita uma variação nas suas

características físico-químicas. O pH do mel varia entre 4,0 e 5,0 dependendo da fonte de produção, sua acidez é atribuída aos ácidos orgânicos e protege contra o desenvolvimento de microrganismos (BARBOSA *et al.*, 2014).

O mel é utilizado desde pré-história na alimentação humana, sendo um importante adoçante natural, rico em energia e substâncias benéficas a saúde humana, utilizado principalmente no tratamento de gripes e resfriados (CAMARGO *et al.*, 2006).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 PREPARO DA KOMBUCHA

A película celulósica foi obtida por doação de um produtor caseiro em Curitiba, não sendo possível identificar as características de produção da “mãe da Kombucha”.

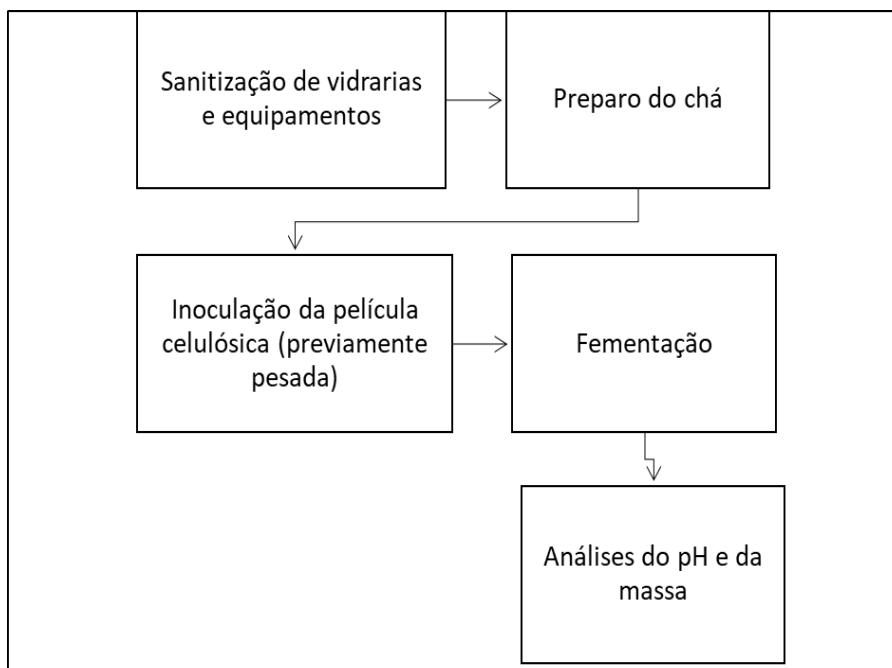
Para a preparação do Kombucha utilizou-se chá verde e chá preto adoçado com açúcar e com mel. Os experimentos foram realizados em duplicata e os utensílios utilizados foram colocados em água com temperatura de 80 °C por 20min, afim de evitar contaminação (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

Para produzir o chá foi fervido a água, aproximadamente a 100° C, e adicionado 10g de folhas de chá para cada litro de água e o tempo de infusão foi de 5 minutos para cada amostra. Após o período de infusão, os chás foram filtrados para retirar as folhas de chá, transferidos para um recipiente de vidro de boca larga com capacidade para 3L e resfriados até uma temperatura entre 20 e 25°C, duas amostras de cada chá foi adoçado com 30g de açúcar e outras duas amostras de cada chá foram adoçado com 35g de mel.

O mel passou por um processo de pasteurização antes de ser adicionado ao chá, onde aproximadamente 300g de mel foi transferido do recipiente original para um recipiente de vidro e aquecido até 65°C por 30 minutos e logo após foi resfriado com água a temperatura ambiente até atingir a temperatura ambiente (Villas-Bôas, 2012).

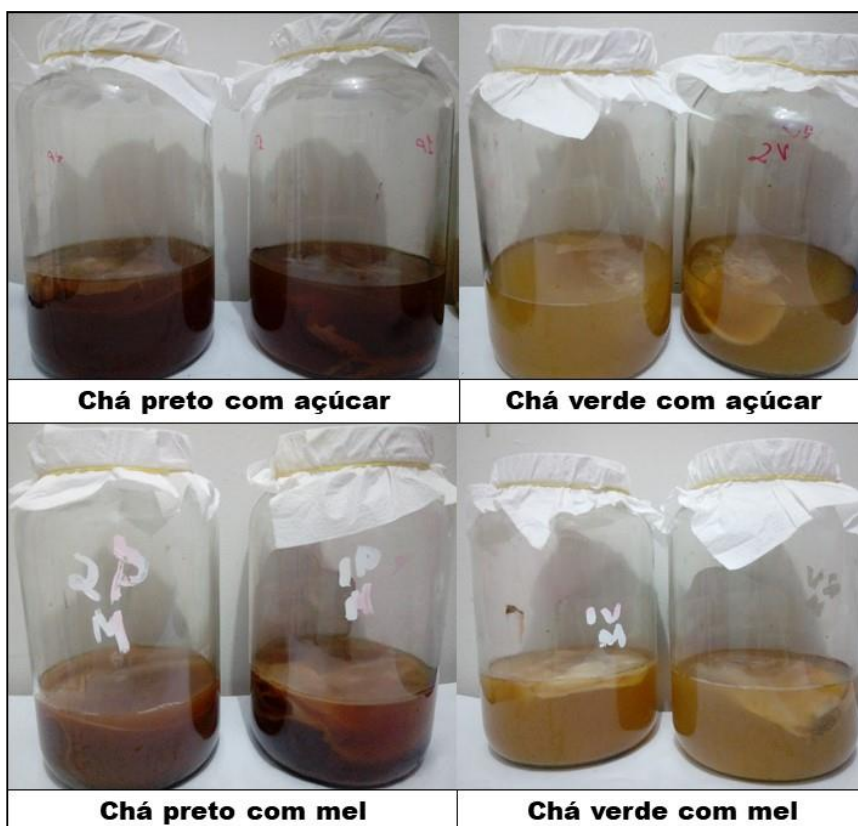
Em cada amostra preparada, foi inoculado uma película celulósica do Kombucha e aproximadamente 100 ml do caldo em que a película estava armazenada foi incorporada ao meio. A figura 4, relaciona um fluxograma resumido das etapas envolvidas. O vidro foi vedado de maneira que permita a entrada de oxigênio, para isso foi utilizado papel toalha preso com elástico, conforme Figura 5. O tempo de fermentação foi de 32 dias.

Figura 4 – Fluxograma das etapas envolvidas



Fonte: Autoria própria

Figura 5 - Produção de Kombucha



Fonte: Autoria própria

4.2 ANÁLISES REALIZADAS

A massa foi medida utilizando uma balança da marca casita, pesando até 5kg, variando de 1g. Com auxílio de uma colher de plástico retirou-se a película celulósica do recipiente de vidro, filtrou-se por aproximadamente 1 minuto em uma peneira para retirar o excesso de água e transfere-se para um recipiente de plástico para pesar.

O pH foi medido com fita de pH da marca Macherey-Nagel com escala de 0 a 14 (variando de 1 em 1), a fita contém quatro faixas coloridas almofadadas que alteram de cor em contato com diferentes meios. Para realizar a medida, colocou-se a fita em contato com o meio por 10min e compara as cores da fita com a escala contida na caixa da fita de pH. Optou-se pelo uso das fitas para medir o pH por ser possível seu uso em produções caseiras.

As medidas foram realizadas em intervalo de 7 dias, exceto o último intervalo que foi de 4 dias, totalizando 6 medidas em 32 dias.

4.3 CÁLCULO DE RENDIMENTO

Para avaliar o desempenho dos substratos foi realizado o cálculo de rendimento com base no açúcar e no mel, seguindo a equação 1, onde o rendimento é dado pelo quociente entre a variação mássica da película (diferença entre o peso inicial e o peso final da película) num intervalo de tempo em gramas pela quantidade inicial de açúcar ou mel em gramas, multiplicado por 100.

$$\text{Rendimento} = \frac{\text{variação mássica da película (g)}}{\text{massa de substrato inicial (g)}} \times 100 \quad (1)$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Kombucha foi produzida e analisada em ambiente doméstico, sendo o local de manipulação e os materiais utilizados sanitizados com água fervente e armazenados em local separado de outros itens para evitar contaminação. Os recipientes foram armazenados em um armário escuro durante toda a fermentação, sendo mais indicado não deixar sob a luz.

Analisou-se oito amostras, sendo duas de chá verde adoçado com açúcar, duas de chá preto adoçado com açúcar, duas de chá verde adoçado com mel e duas de chá preto adoçado com mel, afim de analisar a variação mássica da microbiota e o pH da Kombucha em diferentes substratos. O experimento foi realizado no período de 6 de outubro a 7 de novembro de 2019 e as medidas foram feitas a cada 7 dias, exceto a última medida que foi realizada no intervalo de 4 dias.

5.1 ANÁLISE DO pH

O pH inicial do chá foi de 4 e do caldo anterior da película foi de 3. Os resultados encontrados para o pH estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1 - Medidas de pH realizadas

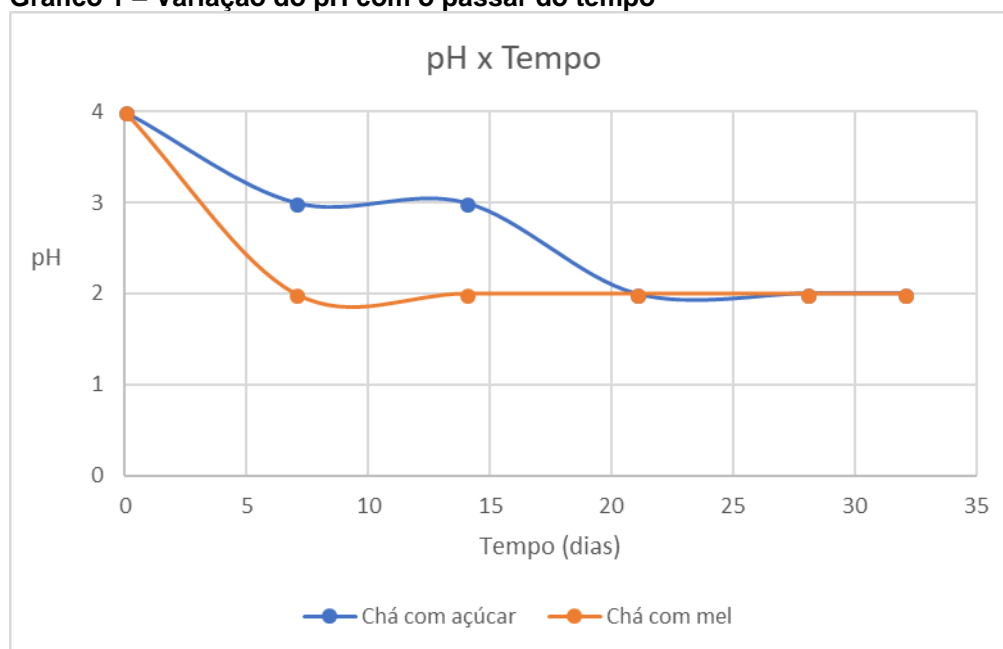
SUBSTRATOS	CHÁ PRETO COM AÇÚCAR		CHÁ PRETO COM MEL		CHÁ VERDE COM AÇÚCAR		CHÁ VERDE COM MEL	
	1	2	1	2	1	2	1	2
AMOSTRAS	1	2	1	2	1	2	1	2
Tempo (dia)	pH	pH	pH	pH	pH	pH	pH	pH
0	4	4	4	4	4	4	4	4
7	3	3	2	2	3	3	2	2
14	3	3	2	2	3	3	2	2
21	2	2	2	2	2	2	2	2
28	2	2	2	2	2	2	2	2
32	2	2	2	2	2	2	2	2

Fonte: Autoria própria

Todas as amostras apresentaram o pH inicial de 4, o meio já iniciou ácido e com o passar do tempo o pH diminuiu em todas as amostras devido a produção de ácido acético, ácido glucônico e ácidos orgânicos. As amostras adoçadas com açúcar variaram no primeiro intervalo de 7 dias para 3 e no intervalo de 21 dias para

2 permanecendo constante até o fim da fermentação. Nas amostras adoçadas com mel a primeira variação medida após 7 dias o pH diminuiu para 2 e se manteve constante até o fim da fermentação. A variação em cada meio pode ser vista no gráfico 1.

Gráfico 1 – Variação do pH com o passar do tempo



Fonte: Autoria própria

O pH não variou com o tipo de chá apenas com o tipo de substrato, açúcar ou mel, sendo que nos dois casos o pH iniciou com 4, finalizou com 2 e diminuiu mais rapidamente nas amostras adoçadas com mel, semelhante ao encontrado na literatura. Malbasa *et al.* (2011) comparou o uso do chá verde e do chá preto obtendo uma variação de pH significativa para ambos os chás nos três dias iniciais e até o fim da fermentação o pH se estabilizou. Pode-se observar que mesmo com o pH estabilizado a massa continuou aumentando. Filippis *et.al.* (2017) encontraram uma variação no pH de 3,5 para 2,5 após 7 dias de fermentação.

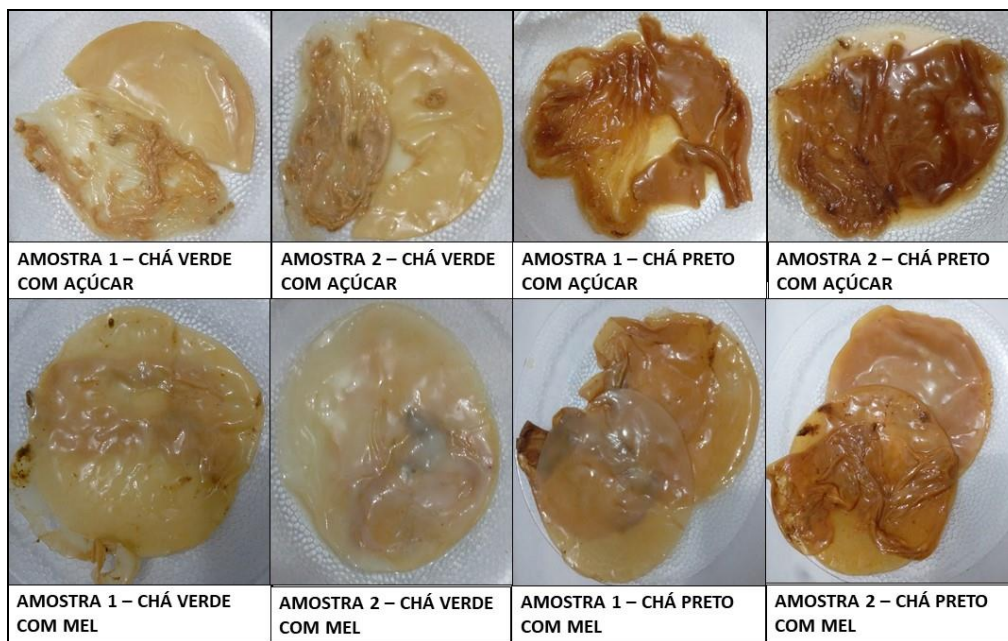
A maior diminuição do pH utilizando mel pode indicar uma produção maior de ácidos nesse substrato devido a disponibilidade inicial da frutose e glicose que não ocorre no açúcar, onde a sacarose passa pelo processo de hidrólise gerando frutose e glicose, além de outros nutrientes presentes no mel. No experimento realizado por. Segundo Sharma e Bhardwaj (2019) a maior produção de biomassa acontece quando o pH é igual 3 com um chá adoçado com 60g de açúcar por litro, valores maiores de pH e concentração maior de açúcar não aumentaram o crescimento da película celulósica.

Na faixa de pH encontrada no experimento apenas algumas bactérias (láticas e acéticas), bolores e leveduras são capazes de se desenvolver, isso dificulta a contaminação do meio por microrganismos patogênicos e leveduras causadoras de bolor (MARSH *et. al.*, 2013; FILIPPIS *et. al.*, 2018; SHARMA; BHARDWAJ, 2019).

5.2 VARIAÇÃO MÁSSICA DA PELÍCULA CELULÓSICA

Durante a fermentação forma-se novas películas celulósicas, conforme figura 5, sendo observado que nas amostras com mel a película cresce junto com a película anterior e nas amostras com açúcar a cada análise via a formação de uma nova e fina película independente da película anterior ou de início. A película permanecia sempre na superfície do líquido adquirindo o formato do recipiente, independente do formato da película inicial. Na tabela 2, apresenta os resultados das massas obtidas com a pesagem, sendo o tempo 0 é o peso da película inoculada no preparo da kombucha.

Figura 6 – Películas celulósicas no fim da fermentação



Fonte: Autoria própria

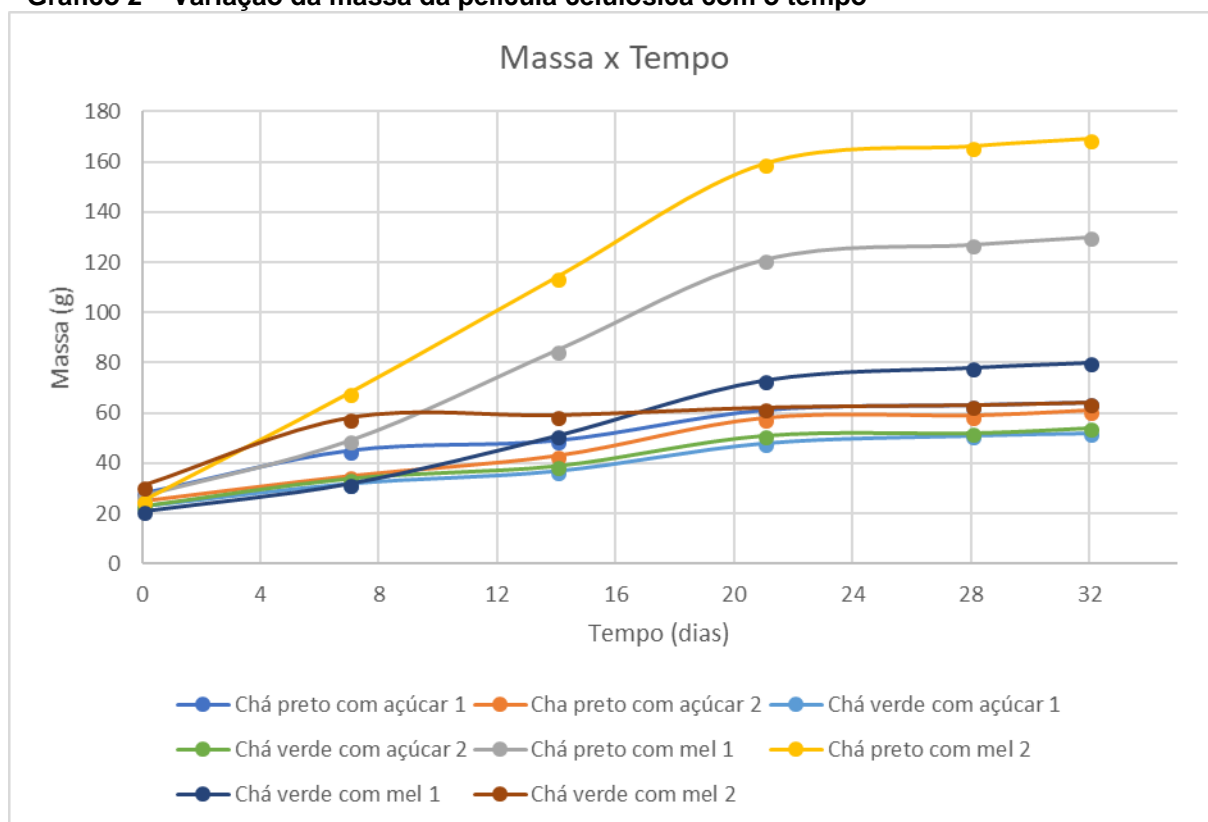
Tabela 2 - Valores da massa da película celulósica

AMOSTRAS	CHÁ PRETO COM AÇÚCAR		CHÁ PRETO COM MEL		CHÁ VERDE COM AÇÚCAR		CHÁ VERDE COM MEL	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Tempo (dia)	massa (g)	massa (g)	massa (g)	massa (g)	massa (g)	massa (g)	massa (g)	massa (g)
0	28	25	27	25	23	23	21	31
7	45	35	49	68	32	34	32	58
14	49	43	85	114	37	39	51	59
21	61	58	121	159	48	51	73	62
28	63	59	127	166	51	52	78	63
32	64	61	130	169	52	54	80	64

Fonte: Autoria própria

Observando a tabela 2, nota-se que em todas as amostras houve um aumento do crescimento da massa da película celulósica, sendo um crescimento maior nas amostras de chá preto do que no chá verde. No gráfico 2, podemos observar como foi o crescimento durante o tempo de fermentação.

Gráfico 2 – Variação da massa da película celulósica com o tempo

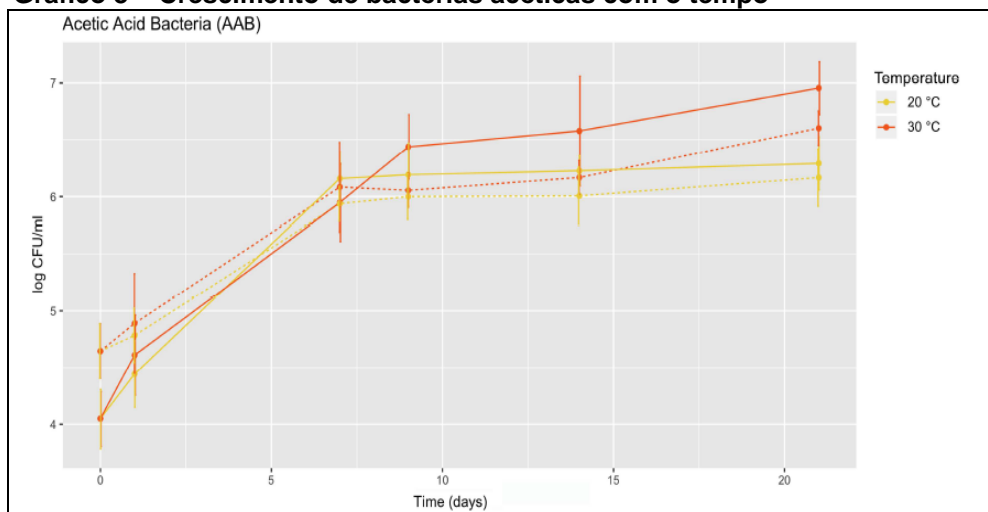


Fonte: Autoria própria

De acordo com o gráfico, o crescimento foi maior no primeiro intervalo de 21 dias e após o crescimento se estabilizou. As bactérias acéticas transformam o etanol

em ácido acético estimulando a produção de mais etanol e aumentam a produção de celulose (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008; SHARMA; BHARDWAJ, 2019). Em seu estudo Filippis *et. al.* (2017) analisou o crescimento de bactérias acéticas em função do tempo e da temperatura, com os resultados construiu o gráfico 3.

Gráfico 3 – Crescimento de bactérias acéticas com o tempo



Fonte: Filippis *et. al.* (2017)

Com base nos gráficos 2 e 3, pode-se dizer que as curvas são semelhantes, portanto com o aumento das bactérias acéticas aumenta a produção de celulose e, conseqüentemente, a massa da película celulósica (FILIPPIS *et. al.*, 2017).

Em relação aos chás, o crescimento foi maior no chá preto do que no chá verde. Os nutrientes presentes no chá são essenciais para o crescimento dos microrganismos e a produção da película celulósica, Sharma e Bhardwaj (2019) relataram que a fermentação utilizando apenas água com açúcar (sem adição de chá) não gera uma película celulósica confirmando o papel essencial do chá na fermentação e na geração do SCOBY.

Os chás possuem a mesma composição com diferentes proporções de cada composto, se diferenciam também no grau de oxidação de suas folhas e possuem diversos benefícios a saúde transferindo esses benefícios ao Kombucha. O crescimento da película celulósica no chá preto com mel foi aproximadamente o dobro do chá verde com mel e 20% maior no chá preto com açúcar em relação ao mel.

Quanto ao açúcar e ao mel, as películas tiveram um aumento maior na massa nas amostras com mel, sendo a massa da película foi 4 vezes maior na

amostra de chá preto com mel do que no chá verde com mel quase 2 vezes maior no chá verde com mel do que no chá verde com açúcar. O mel possui em sua composição inicial frutose e glicose que são consumidos na fermentação alcoólica, já o açúcar é composto por sacarose que na fermentação é hidrolisada e transforma-se em glicose e sacarose. Além disso, o mel possui diversos nutrientes naturais o que pode proporcionar um maior crescimento microbiológico e a maior produção de celulose.

5.3 RENDIMENTO

O rendimento foi calculado em função dos substratos, açúcar e mel, utilizando a equação 1. Como exemplo apresenta-se o cálculo do rendimento médio para o chá preto com mel.

Cálculo da média da variação mássica da película:

Na tabela 2, estão apresentados os valores da massa da película. Para o chá preto com mel na amostra 1, temos o peso inicial de 27g e final de 130g e para a amostra 2, temos o peso inicial de 25g e final de 169g, então:

$$\text{Média da variação mássica} = \frac{\text{variação mássica na amostra 1} + \text{variação mássica da amostra 2}}{2}$$

$$\text{Média da variação mássica} = \frac{(130 - 27) + (169 - 25)}{2} = 123,5$$

Utilizando a equação 1, temos:

$$\text{Rendimento médio} = \frac{123,5}{35} \times 100$$

Portanto o valor do rendimento médio para o chá preto com mel foi de 352,86. Para as outras amostras calculou-se de maneira similar. Os resultados obtidos encontram-se na tabela 3.

Tabela 3 - Rendimento médio do crescimento da película celulósica em relação ao mel e ao açúcar

SUBSTRATO	RENDIMENTO MÉDIO (%)
CHÁ PRETO COM MEL	352,86
CHÁ VERDE COM MEL	131,43
CHÁ PRETO COM AÇÚCAR	120,00
CHÁ VERDE COM AÇÚCAR	100,00

Fonte: Autoria própria

Pela tabela 3, vimos que o mel obteve um rendimento maior em ambos os chás sendo de 352,86% no chá preto e 131,43% no chá verde. Durante a produção de celulose bacteriana utilizando diversas concentrações de açúcares, Sharma e Bhardwaj (2019) afirmaram que a concentração ótima de açúcar é de 60g/L sendo valores menores ou maiores que isso diminuem a produção da película celulósica. Pois quando a concentração de açúcar é baixa as bactérias acéticas diminuem sua reprodução e em concentrações maiores acredita-se que causa um desequilíbrio na taxa de nutrientes e acaba aumentando a produção de outros produtos da fermentação. Malbasa, Loncar e Djuric (2007), compararam o melaço de beterraba e a sacarose e obtiveram uma variação da biomassa de nove vezes mais para o melaço com a manutenção do sabor, cor e teor de ácido láctico.

6 CONCLUSÃO

Os substratos utilizados durante uma fermentação são essenciais para o desenvolvimento do produto requerido, alterações no substrato alteram diretamente o produto da fermentação. Ao utilizar mel na fermentação da Kombucha houve uma variação mássica de até quase 4 vezes mais em comparação com o açúcar. O chá também influenciou o crescimento da massa da película, sendo observado que o chá preto proporcionou uma variação maior do que no chá verde.

Em todas as amostras foi possível observar o crescimento da película celulósica pode-se então afirmar que os substratos utilizados para a fermentação foram eficientes para a produção de uma película nova. Fatores como temperatura, película e caldo de origem, tempo de fermentação, pH e quantidade de substrato alteram o crescimento da película não sabendo ao certo quais são as condições ótimas para desenvolvimento da película ou da bebida. Alguns estudos já foram realizados abordados esses tópicos, porém ainda não se obtiveram muitas conclusões. A facilidade de cultivo, o baixo custo dos materiais e os resultados obtidos a curto prazo são atrativos para o aumento das pesquisas nesse tema, além das inúmeras aplicações dos produtos gerados.

Podemos concluir neste trabalho que durante os 32 dias de cultivo do Kombucha nos meios utilizados que o aumento da massa da película foi maior para as amostras de chá preto com mel.

REFERÊNCIAS

- BALENTINE, Douglas A., WISEMAN, Sheila A., BOUWENS, Liesbeth C. M. The Chemistry of tea flavonoids. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.37:8, p. 693-704, 29 set. 2009. DOI: 10.1080/10408399709527797. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/citedby/10.1080/10408399709527797?scroll=top&noredAccess=true>. Acesso em: 20 nov. 2018.
- BARBOSA, Lucas de Souza *et al.* Estudo Bioquímico de qualidade do mel da abelha comercializado no município de Caraúbas-RN. **Revista Verde de Agroecologia e desenvolvimento sustentável**, v. 9, n. 2, p. 45-51, 2014. Disponível em: <https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/2701/2159>. Acesso em 21 nov. 2018.
- BIOZEN. Disponível em: <http://biozenkombucha.com.br/a-biozen/>. Acesso 03 nov. 2018.
- BORZANI, Walter *et al.* **Biotecnologia industrial**. São Paulo: E. Blücher, 2001.
- BRAIBANTE, Mara Elisa Fortes *et. al.* A química dos chás. **Química e sociedade**, v. 00, n 0, p xxx, 2014. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/prelo/QS-47-13.pdf>. Acesso em 20 nov. 2018.
- CAMARGO, Ricardo Costa Rodrigues de *et al.* **Mel: características e propriedades.**, n. 1, Teresina, Embrapa Meio-Norte 2006. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/69419/mel-caracteristicas-e-propriedades>. Acesso em: 20 nov. 2018.
- CAMPO Largo, Famiglia Zanlorenzi. Disponível em: <https://vemprocampo.com.br/produtos/kombuchas/>. Acesso em 03 nov. 2018.
- CANCI, Isabela Eliza. **Produção e análises mecânicas de filmes de celulose produzidos a partir de gluconacetobacter hansenii em melaço.** 2015. Trabalho de Conclusão de curso (Bacharel em Engenharia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2015. Disponível em: http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/5434/1/MD_COEAL_2015_2_02.pdf. Acesso em: 28 out. 2019.
- CARRETTA, Daniela Benasi. **Açúcar: seus efeitos sobre a sociedade sacarose dependente.** 2006. Monografia (Especialista em Saúde Coletiva) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Nova Xavantina/MT, 2006. Disponível em: http://awmueller.com/psicologia/acucar_daniela.pdf. Acesso em: 21 nov. 2018.
- CHU, Sheng-Che; CHEN, Chinshuh. Effects of origins and fermentation time on the antioxidante activities of Kombucha. **Food Chemistry**, v. 98, n. 3 p. 502-507, 2006. DOI: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605005364> doi:10.1016/j.foodchem.2005.05.080. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605005364>. Acesso em: 27 out. 2018.

COMO é feito. **Jornal Valor Econômico**, 23 out. 2018, empresas. Disponível em: <https://www.valor.com.br/empresas/5942411/como-e-feito>. Acesso em: 28 out. 2018.

DUFRESNE, C.; FARNWORTH, E. Tea, Kombucha and health: a review. **Food Research International**, v. 33, n. 6, p. 409-421, jul. 2000. DOI: 10.1016/S0963-9969(00)00067-3 Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996900000673>. Acesso em: 27 out. 2018.

FILLIPPIS, Francesca de *et al.* Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during Kombucha tea fermentation. **Food Microbiology**, v. 73, p. 11-16, ago. 2018. DOI: 10.1016/j.fm.2018.01.008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002017306937?via%3Dihub>. Acesso em: 01 nov. 2019.

GAVA, Altanir Jaime; SILVA, Carlos Alberto Bento da; FRIAS, Jenifer Ribeiro Gava. **Tecnologias de alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo: Nobel, 2008.

GERMANO, Neto. Kombucha: saiba tudo sobre a bebida milenar que emagrece. **Revista Casa Vogue**, lazer e cultura, 26 jun. 2018. Disponível em: <https://www.valor.com.br/empresas/5942411/como-e-feito>. Acesso em 28 out. 2018.

MALBASA, Radomir V. *et al.* Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. **Food Chemistry**, v. 127, n.4 p. 1727-1731, 15 ago. 2011. DOI:10.1016/j.foodchem.2011.02.048. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814611003074?via%3Dihub>. Acesso em 01 nov. 2019.

MALBASA, R., LONCAR, M., DJURIC, M. Comparison of the products of Kombucha fermentation on sucrose and molasses. **Food Chemistry**, v. 106, n. 3, p. 1039-1045, 1 fev. 2008. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.07.020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814607007054>. Acesso em: 27 out. 2018.

MARSH, Alan J. *et al.* Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. **Journal Food Microbiology**, v. 38, p. 171-178, 2014. DOI: 10.1016/j.fm.2013.09.003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24290641>. Acesso em: 28 out. 2018.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Padrões de identidade e qualidade de kombucha**. Portaria n° 64, 14 mai. 2018. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/aceso-a-informacao/participacao-social/consultas-publicas/documentos/PORTARIAN64DE14DEMAIODE2018DirioOficialdaUnioImprensaNacional.pdf>. Acesso em: 03 nov. 2018.

MORAIS, Selene M. de *et al.* Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 19, n. 1B, p. 315-320, Jan./Mar. 2009. DOI: 10.1590/S0102-695X2009000200023. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-695X2009000200023&script=sci_abstract&tlng=pt. Acesso em: 21 nov. 2018.

PALUDO, Natália. **Desenvolvimento e caracterização de Kombucha obtida a partir de chá verde e extrato de erva mate**: processo artesanal e escala laboratorial. 2017. Trabalho de Conclusão de curso (Bacharel em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/174899>. Acesso em: 28 out. 2018.

RONCONI, Ana Paula Sartor. **Alimentos funcionais em alimentação coletiva**: um estudo exploratório no extremo sul catarinense. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Nutrição) – Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2009. Disponível em: https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/39043249/Ronconi__2009.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1543297922&Signature=nlcJULSek%2FcY4VLPt2nnSIPBo40%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DRonconi_2009.pdf. Acesso em: 25 nov. 2018.

SANTOS, Mafalda Jorge dos. **Kombucha**: caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Gastronômicas) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Lisboa, 2016. Disponível em: https://run.unl.pt/bitstream/10362/19346/1/Santos_2016.pdf. Acesso em: 27 out. 2018.

SHARMA, Chhavi, BHARDWAJ, Nishi K. Biotransformation of fermented black tea into bacterial nanocellulose via symbiotic interplay of microorganisms. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 132, p. 166-177, 1 jul. 2019. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.202. Disponível em: [sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813019302831?via%3Dihub](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813019302831?via%3Dihub). Acesso em 31 out. 2019.

SREERAMULU, Guttapadu; ZHU, Yang; KNOL, Wieger. Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. **J. Agric Food Chem**, v. 48, n. 6, p. 2589-2594. Disponível em: https://drive.google.com/file/d/1zX5_ltO4ND5XR42v8o84CRxRs1INi5BT/view?ths=true. Acesso em: 27 out. 2018.

VICENTE, Antonio Madrid; CENZANO, I; VICENTE, J. M. **Manual dos Alimentos**. São Paulo: Livraria Virela, 1996.

VIVAH! Alimento Eireli. Disponível em: <http://biozenkombucha.com.br/a-biozen/>. Acesso em: 03 nov. 2018.