

ARTIGO ORIGINAL

MICRORGANISMOS PRESENTES EM UMA KOMBUCHA ARTESANAL GAÚCHA

Giulia Bacim de Araujo e Silva¹, Marina Borba Tósca², Marjo Cadó Bessa³,
Flávia Seidler⁴, Giovana Alves de Freitas⁵, Alessandra Campani Pizzato⁶

Destaques:

- (1) A kombucha apresentou elevada quantidade de leveduras na bebida original e na saborizada.
- (2) A concentração maior dos microrganismos avaliados foi na forma homogeneizada.
- (3) Sugere-se a importância de uma leve homogeneização da bebida antes do consumo.

RESUMO

A kombucha é uma bebida fermentada por uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras microbiologicamente ativas (Scoby) com propriedades apontadas como benéficas à saúde. Foi realizado estudo descritivo com kombuchas produzidas em escala em Porto Alegre/RS, e coletadas amostras para o isolamento de microrganismos presentes na kombucha, bem como nos insumos utilizados (Scoby e chá verde). As bebidas foram analisadas nas versões original e saborizada, com e sem homogeneização, em triplicata, perfazendo um total de 12 amostras. Verificou-se que a kombucha apresentou elevada quantidade de leveduras, com diferença significativa da bebida conforme homogeneização, tanto na forma original homogeneizada ($7.39 \pm 6.46 \log \text{ UFC/mL}$ vs não homogeneizada $6.46 \pm 5.39 \log \text{ UFC/mL}$, $p < 0,0065$) quanto na saborizada homogeneizada ($7.54 \pm 6.81 \log \text{ UFC/mL}$ vs não homogeneizada $7.20 \pm 6.04 \log \text{ UFC/mL}$, $p < 0,049$). O Scoby apresentou contagem total de leveduras de $6.78 \pm 6.68 \log \text{ UFC/mL}$ e no chá verde não foi observado o crescimento de microrganismos. Por fim, conclui-se que a kombucha analisada apresenta elevada quantidade de leveduras, tanto na bebida original quanto na saborizada, constatando-se a concentração maior desses microrganismos na forma homogeneizada, o que sugere a importância da leve homogeneização da bebida antes do consumo.

Palavras-chave: *Camellia Sinensis*; leveduras; bebidas fermentadas.

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS. Porto Alegre/RS, Brasil. <https://orcid.org/0000-0003-2790-9380>

² Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS. Porto Alegre/RS, Brasil. <https://orcid.org/0000-0003-1464-3296>

³ Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS. Porto Alegre/RS, Brasil. <https://orcid.org/0000-0003-4166-4199>

⁴ Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS. Porto Alegre/RS, Brasil. <https://orcid.org/0000-0003-1103-9739>

⁵ Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS. Porto Alegre/RS, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-4546-6950>

⁶ Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS. Porto Alegre/RS, Brasil. <http://orcid.org/0000-0003-1781-1152>

INTRODUÇÃO

A kombucha é uma bebida obtida mediante a infusão das folhas de *Camellia Sinensis* e da fermentação por uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras (Scoby)¹. Ligeiramente gaseificada e com sabor levemente ácido e adocicado, a kombucha é o produto com maior estimativa de crescimento no mercado de bebidas². Apontada como um produto com compostos bioativos, tendo em vista suas propriedades vinculadas a microrganismos probióticos e polifenóis, a kombucha passou a ser produzida também em âmbito industrial, com diferentes sabores disponíveis^{3,4}. É descrito que o consumo de alimentos com microrganismos vivos tem uma relação direta com diversos benefícios à saúde, entre eles a saúde da microbiota intestinal e fortalecimento do sistema imunológico⁵. Quando o equilíbrio da microbiota e do sistema imune é perturbado, pode levar a problemas de saúde⁶, entre estes estão: efeitos antagônicos no crescimento de microrganismos patogênicos e aderência competitiva à mucosa e epitélio intestinal; aumento na produção da camada de muco intestinal, reduzindo a permeabilidade do intestino e modulação do sistema imunológico gastrointestinal. Estes achados corroboram para o desenvolvimento da obesidade e de outras doenças metabólicas. De fato, algumas doenças são acompanhadas por uma mudança na composição microbiana, causando um desequilíbrio entre as bactérias benéficas e as potencialmente patogênicas^{7,8}.

Em relação ao anteriormente exposto, a alimentação saudável e adequada, do ponto de vista nutricional, tem grande impacto na saúde da população, além de seus respectivos agravos correlacionados. Neste aspecto, a kombucha surge como uma bebida saudável, uma vez que possui em sua composição microrganismos, compostos fenólicos, vitaminas e minerais variados que podem promover benefícios à saúde^{7,9}. São escassos, contudo, os estudos da quantificação e identificação de microrganismos presentes na kombucha. Assim, o presente estudo teve o objetivo de determinar a quantidade total de microrganismos presentes em uma kombucha comercial original e saborizada de produção gaúcha.

MATERIAS E MÉTODOS

Realizou-se um estudo descritivo com produtos do tipo kombucha produzido em escala por uma empresa na cidade de Porto Alegre/RS. Foram incluídos no estudo dois tipos de kombucha (original e saborizada), bem como alguns insumos utilizados na sua preparação, incluindo o Scoby e chá verde. As amostras da bebida comercializada, bem como dos seus insumos, foram adquiridas diretamente na empresa.

INFORMAÇÕES SOBRE A PRODUÇÃO DA KOMBUCHA

De acordo com os dados fornecidos pela empresa produtora da kombucha, a bebida é preparada com água filtrada, chá verde (tipo japonês da espécie *Camellia Sinensis*), açúcar orgânico, Scoby (aprox. 50g/L) e 10% do líquido *Starter*, com todos os processos pesados e medidos com precisão. Os utensílios utilizados são de *inox* ou vidro e há controle de temperatura do ambiente durante toda a produção (entre 25° e 29°C). Após a primeira fermentação, é aferido o pH (não ultrapassando 4,5) e medido o açúcar por meio de refratômetro. Já após o segundo processo de fermentação a bebida em produção é mantida com pH abaixo de 3,5 e índice Brix de aproximadamente 5. Para os produtos saborizados são adicionadas frutas e/ou especiarias e/ou ervas. Após o envase, o produto é armazenado entre 1°C e 7°C.

Para o presente estudo os produtos, bem como todos os insumos, embalagens e tampas utilizados para o processo de produção foram disponibilizados pela empresa para o controle das análises realizadas.

COLETA DE DADOS

Após a fabricação e envase do lote da bebida, a empresa enviou ao laboratório de Imunologia e Microbiologia da PUCRS, as garrafas de kombucha, uma fração do Soby e o chá verde utilizados no preparo, todos devidamente armazenados para o transporte. As análises foram realizadas em triplicata, perfazendo um total de 12 garrafas (6 garrafas para kombucha natural: 3 homogeneizadas e 3 não homogeneizadas; 6 garrafas para kombucha saborizada: 3 homogeneizadas e 3 não homogeneizadas).

O estudo investigou quanto à homogeneização a fim de verificar a diferença de quantificação de microrganismos da bebida quando misturada ao usual sedimento no fundo do recipiente da garrafa (Figura 1).



Figura 1 – Imagem exemplificativa do resíduo depositado no fundo dos recipientes de armazenamento.

Fonte: Os autores.

Análises Microbiológicas

Para as análises microbiológicas, 25 mL de cada garrafa de kombucha, 25g de chá verde e 25g do Soby foram diluídos em 225mL de água peptonada 0,1%, efetuando-se em seguida as diluições seriadas (10^{-2} a 10^{-8}). Destaca-se que para as amostras homogeneizadas a mistura do sedimento com a bebida ocorreu com auxílio da própria pipeta de coleta.

As amostras foram submetidas à contagem de leveduras totais e contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos.

Contagem de leveduras totais

Para a contagem de leveduras foi utilizado o método de plaqueamento em superfície a partir das diluições decimais sucessivas das amostras em ágar YPD (2% de glicose, 2% de peptona e 1% de extrato de levedura, adicionado de ágar a 2%) com cloranfenicol na concentração de 0,1 mg/mL. As placas foram incubadas em temperatura de $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 5 dias para a contagem total de leveduras. Todas as amostras foram semeadas em triplicata para cada diluição.

Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos

Para a contagem de mesófilos totais foi utilizado o método de plaqueamento em profundidade a partir das diluições decimais sucessivas das amostras em ágar padrão para contagem (PCA). As placas foram incubadas em temperatura de $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 48 horas para a contagem total de bactérias mesófilas. O resultado obtido foi expresso em Unidade Formadora de Colônia por mililitro (UFC/mL). Todas as amostras foram semeadas em triplicata para cada diluição.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos na forma de média e desvio padrão, com auxílio do programa Microsoft Office Excel®. Para análise de variância foi realizado teste-t para amostras pareadas entre as amostras conforme homogeneização de cada tipo de bebida (original e saborizada). O valor de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Foram analisadas 3 amostras de cada bebida (original e saborizada), totalizando 6, cada uma destas analisada na forma homogeneizada e não homogeneizada. Na Figura 2 está descrita a análise do teor de leveduras conforme os tipos de kombucha e homogeneização.

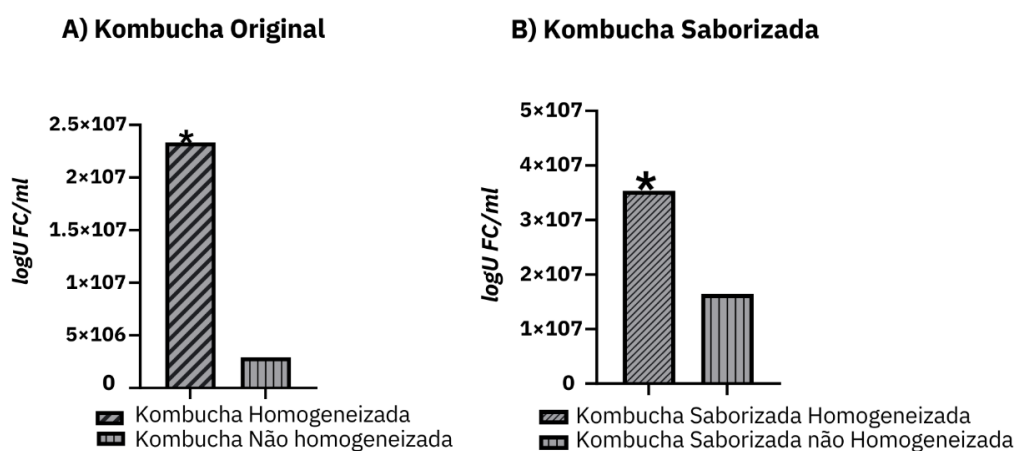


Figura 2 – Quantidade de leveduras totais nas kombuchas do tipo original e saborizada homogeneizada ou não. Nota: Gráficos A e B: Escala logarítmica utilizada para amostras pareadas.

Fonte: Os autores.

Verificou-se diferença significativa do teor de leveduras totais com a homogeneização da bebida, tanto na kombucha original quanto na saborizada. Ainda, quando comparadas as bebidas original e saborizada, notou-se que a bebida saborizada apresentou maior concentração de leveduras em relação à original, tanto na forma homogeneizada quanto não. A Figura 3 ilustra a quantificação das leveduras por meio do método de plaqueamento em superfície das amostras de kombucha no Laboratório de Imunologia e Microbiologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS.

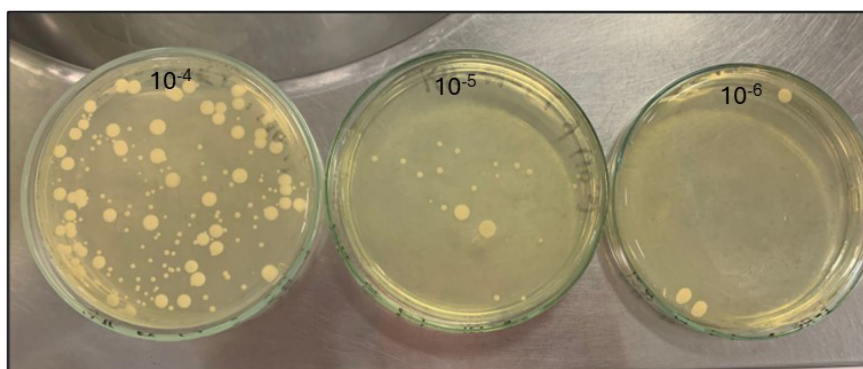


Figura 3 – Crescimento de leveduras através do método de plaqueamento em superfície a partir das diluições decimais sucessivas das amostras de kombucha.

Fonte: Os autores.

A análise do Scoby apresentou média de leveduras de 6.78 ± 6.68 log UFC/mL. Por outro lado, não foi observado o crescimento dos microrganismos nas análises do chá verde.

Em relação à contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos, não foi possível quantificar as bactérias presentes na bebida, tendo em vista a metodologia de análise utilizada, na qual se observou a predominância de leveduras nas diluições de escolha para a contagem. Foi possível, contudo, observar a presença de bactérias nas diluições menores, porém com número de colônias de bactérias e leveduras incontáveis.

DISCUSSÃO

O estudo do teor de microrganismos nos alimentos tem destaque na literatura científica em virtude dos impactos na microbiota. Nesse sentido, a kombucha tem sido alvo de pesquisas em razão de ser uma bebida viva. Conforme a Instrução Normativa nº 41/2019, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), a kombucha é definida como: “bebida obtida através da respiração aeróbia e fermentação anaeróbia do mosto obtido pela infusão ou extrato de *Camellia sinensis* e açúcares por cultura simbiótica de bactérias e leveduras microbiologicamente ativas (Scoby)”¹, que forma uma matriz flutuante de celulose¹¹. Atualmente é uma das bebidas fermentadas que vem ganhando destaque, existindo uma enorme variedade de kombuchas disponíveis, não apenas de produção caseira, como também industrial. Além disso, os produtos apresentam enorme diversidade de sabores, geralmente com o acréscimo de frutas, ervas e/ou especiarias^{3,2}.

O presente estudo investigou o teor de leveduras e microrganismos aeróbios mesófilos presentes na bebida, observando-se altas concentrações de leveduras nas versões analisadas, original e saborizada, conforme era esperado. Acerca das leveduras, a literatura destaca que são classificadas na categoria dos fungos, conhecidas por promoverem a fermentação de açúcares, produzindo álcool e gás carbônico, além de serem ricas em proteínas, carboidratos, vitamina B e sais minerais^{1,3}. Tais microrganismos podem ser considerados benéficos à saúde intestinal e também ter impacto positivo no sistema imunológico do indivíduo^{5,14} e isso demonstra o potencial que a bebida pode apresentar.

Na presente investigação, buscou-se a homogeneização da kombucha em virtude da observação de sedimento disposto no fundo dos recipientes, ainda não analisado em pesquisas. Foi observada diferença significativa na quantidade de leveduras com a homogeneização do líquido, em ambos os tipos, o que veio ao encontro da hipótese de que este sedimento pudesse agregar valor à bebida, do ponto de vista de microrganismos benéficos à saúde, quando homogeneizado o líquido. Nesse sentido, é sugerida a importância da leve homogeneização da bebida antes do consumo.

As publicações sobre a kombucha são crescentes na literatura, contudo as investigações analisam a bebida ou o Scoby de forma isolada, sem incluir os insumos utilizados na sua produção. O presente estudo buscou determinar o teor das leveduras e dos microrganismos aeróbios mesófilos presentes na bebida, bem como nos insumos utilizados na sua produção que poderiam apresentar este crescimento. Foram analisados o Scoby e chá verde, e que por vezes poderiam enviesar as interpretações dos achados da investigação. Não foram incluídas nas análises a presença de coliformes na água utilizada na produção e a presença de *Salmonella* e *E.coli* na bebida, uma vez que já existe controle realizado pela empresa, conforme os padrões estabelecidos na Portaria nº 888/2021¹⁵ e na IN 161/2022 do Ministério da Saúde^{1,6}.

O Scoby, termo criado por Len Porzio na década de 90, é um biofilme obtido mediante associação simbiótica de leveduras e bactérias acéticas, que são responsáveis pela fermentação da kombucha¹. Ressalta-se que essa variedade microbiológica influencia nas propriedades nutricionais da bebida, uma vez que tendem a variar parcialmente de acordo com a localização geográfica, além de diferentes aspectos relacionados com a produção, como: o tipo de chá, a concentração de açúcares, a

temperatura, o tempo de fermentação, entre outros, os quais também afetam quantitativa e qualitativamente o desenvolvimento e a composição do Scoby, uma vez que este é um organismo vivo^{10,7}. Dessa forma, frisa-se que cada Scoby e, conseqüentemente, cada bebida, terá características específicas, podendo o teor de microrganismos ser distinto, conforme as inúmeras variáveis existentes, impactando em qualidade nutricional diferente. Neste estudo, quanto à cadeia de insumos analisada, incluindo o Scoby e o chá verde, foi constatada a presença de leveduras apenas no Scoby, como esperado.

Nesta investigação foi utilizado o método tradicional, de cultivo não sendo possível quantificar os microrganismos aeróbios mesófilos existentes nas bebidas e no Scoby, uma vez que houve predominância de leveduras, impossibilitando a aferição dos respectivos microrganismos. Em relação ao chá verde, também analisado, não se notou crescimento de microrganismos aeróbios mesófilos, conforme esperado, o que demonstra a qualidade e segurança do insumo utilizado. Estudos atuais têm adotado a metodologia de mapeamento genético e caracterização do DNA^{2,18,19}, contudo esta é uma alternativa de alto custo para quantificação e identificação.

A kombucha vem ganhando notoriedade entre pesquisadores e consumidores em razão de suas características probióticas²⁰ e possíveis efeitos benéficos na saúde humana²¹. Com efeito, a legislação brasileira define probiótico como todo microrganismo vivo que, quando administrado em quantidades adequadas, confere benefício à saúde do indivíduo. A Resolução da Diretoria Colegiada nº 241, de 26 de julho de 2018²², refere ainda que o benefício à saúde associado ao uso do probiótico deve estar claramente identificado e refletir da forma mais adequada o conjunto de evidências apresentadas. É importante ressaltar que existem critérios para caracterizar uma espécie como probiótica, por exemplo: não apresentar patogenicidade, demonstrar sobrevivência às condições do trato gastrointestinal, evidenciar efeito positivo em humanos obtido por meio de estudos, habilidade de reduzir o colesterol, apresentar especificidade ao hospedeiro, ser produtor de ácido e ser ácido resistente, entre outros^{1,18,23}.

Kaashyap et al.¹⁸, apontam que são considerados probióticos comerciais sete gêneros de microrganismos: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Escherichia* e *Bacillus*. No estudo de Suhre et al.², foi utilizada a caracterização taxonômica em kombuchas de seis marcas diferentes produzidas no Brasil, e as que mais se destacaram foram: *Komagatibacter*, *Gluconobacter*, *Acetobacter peroxydans*, *Liquorilactobacillus ghanensis*, *Oenococcus oeni* e como a principal classe fúngica *Saccharomycetales*. Já uma revisão publicada em 2019²⁴ destacou que estudos que utilizam análises de sequenciamento de alto rendimento demonstraram que, após a fermentação, os gêneros *Candida* e *Zygosaccharomyces* são as leveduras predominantes na kombucha, enquanto os gêneros bacterianos mais abundantes na bebida são *Komagataeibacter*, *Lyngbya*, *Gluconobacter*, *Lactobacillus* e *Bifidobacteria*.

No Brasil não há definição acerca da quantidade de microrganismos necessários para um alimento ou bebida serem considerados probióticos. A concentração e a variedade destes em alguns produtos são distintas e existe pouco conhecimento acerca das cepas, o que revela a importância de mais pesquisas. Nesse aspecto, embora reivindicada como uma bebida benéfica à saúde, estudos experimentais em humanos ainda são incipientes^{2,3,4}. Logo, em que pese a kombucha tenha ganhado notoriedade em razão das suas supostas propriedades nutricionais, os seus efeitos no microbioma e na saúde ainda permanecem desconhecidos pela falta de estudos em humanos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Levando em conta o exposto, destaca-se que a kombucha avaliada apresenta elevada quantidade de leveduras tanto na bebida original quanto na saborizada, com a concentração maior desses microrganismos ocorrendo na forma homogeneizada, o que sugere a importância da leve homogeneização da bebida antes do consumo.

Além disso, nota-se a necessidade de mais estudos acerca das propriedades microbiológicas da kombucha e sua funcionalidade para o consumo humano.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de iniciação científica concedida.

REFERÊNCIAS

- ¹ Instrução Normativa nº 41, de 17 de setembro de 2019. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2019, Pub. [citado em 5 jun. 2022]. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-41-de-17-de-setembro-de-2019-216803534>
- ² Suhre T, Mann MB, Kothe CI, Rocha ALG, Celso PG, Varela APM, Frazzon APG, Frazzon J. Microbial community and physicochemical characterization of kombuchas produced and marketed in Brazil. *Journal of Food Science and Nutrition Research* [Internet]. 2021 dezembro [citado em 5 jun. 2022];4:[cerca de 13 p.]. Disponível em: <https://www.fortunejournals.com/articles/microbial-community-and-physicochemical-characterization-of-kombuchas-produced-and-marketed-in-brazil.html>
- ³ Jayabalan R, Chen PN, Hsieh YS, Prabhakaran K, Pitchai P, Marimuthu S, Thangaraj P, Swaminathan K, Yun S E. Effect of solvent fractions of kombucha tea on viability and invasiveness of cancer cells-characterization of dimethyl 2-(2-hydroxy-2-methoxypropylidene) malonate and vitexin. *Indian Journal of Biotechnology* [Internet]. 2011 jan. [citado em 19 jul. 2022];10(1):[cerca de 8 p.]. Disponível em: <https://research.kombuchabrewers.org/wp-content/uploads/kk-research-files/effect-of-solvent-fractions-of-kombucha-tea-on-viability-and-invasiveness-of-cancer-cells-characteri.pdf>
- ⁴ Kapp J M, Sumner W. Kombucha: a systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Annals of Epidemiology* [Internet]. 2019 fev. [citado em 9 jun. 2022];30:[cerca de 5p.]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2018.11.001>
- ⁵ Paixão LA, Castro FFS. Colonização da microbiota intestinal e sua influência na saúde do hospedeiro. *Universitas: Ciências da Saúde* [Internet]. 2016 abr. [citado em 9 jun. 2022];14(1):[cerca de 13 p.]. Disponível em: <https://www.publicacoesacademicas.uniceub.br/cienciasaude/article/view/3629/3073>.
- ⁶ Araújo DG de S, Vasconcelos LPF de, Lima AKB da S, Martins A de M, Sousa EE de, Vasconcelos GM de S. Alteração da microbiota intestinal e patologias associadas: importância do uso de prebióticos e probióticos no seu equilíbrio. *Temas Em Saúde*. 2019;19.
- ⁷ Cuevas-Sierra A, Lopez-Ramos O, Boj-Riezu JI, Milagro FI, Martinez JA. Diet, Gut Microbiota, and Obesity: Links with Host Genetics and Epigenetics and Potential Applications. *Adv Nutr* [Internet]. 2019 jan. [citado em 19 jul. 2022]; 10(9):[cerca de 14 p.]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30721960/>
- ⁸ Organização Pan-Americana da Saúde. Dia Mundial da Obesidade 2022: acelerar a ação para acabar com a obesidade [Internet]. Brasília: Organização Pan-Americana de Saúde; c2022-2022 [citado em 2022, 10 jun.];[cerca de 1 tela]. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/4-3-2022-dia-mundial-da-obesidade-2022-acelerar-acao-para-acabar-com-obesidade#:~:text=4%20de%20mar%C3%A7o%20de%202022,e%2039%20milh%C3%B5es%20de%20crian%C3%A7as>
- ⁹ Mousavi SM, Hashemi SA, Zarei M, Gholami A, Lai CW, Chiang WH, Omidifar N, Bahrani S, Mazraedoost S. Recent Progress in Chemical Composition, Production, and Pharmaceutical Effects of Kombucha Beverage: A Complementary and Alternative Medicine. *Evid Based Complement Alternat Med* [Internet]. 2020 nov. [citado em 9 jun. 2022];[cerca de 14 p.]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33281911/>
- ¹⁰ Nerbass FB. “Que seu remédio seja seu alimento, e que seu alimento seja seu remédio”. 1º set. 2014 [citado em 29 ago. 2022]. In *ProRim* [Internet]. Joinville – [cerca de 1 tela]. Disponível em: <https://www.prorim.org.br/blog-artigos/que-seu-remedio-seja-seu-alimento-e-que-seu-alimento-seja-seu-remedio/#:~:text=E-ditais-,%E2%80%9CQue%20seu%20rem%C3%A9dio%20seja%20seu%20alimento%2C%20e%20que,seu%20alimento%20seja%20seu%20rem%C3%A9dio%20e%20que,seu%20alimento%20seja%20seu%20rem%C3%A9dio%E2%80%9D&text=Home-,%E2%80%9CQue%20seu%20rem%C3%A9dio%20seja%20seu%20alimento%2C%20e%20que,seu%20alimento%20seja%20seu%20rem%C3%A9dio%E2%80%9D>

- ¹¹ Coelho RMD, Almeida AL, Amaral RQG, Mota RN, Sousa PHM. Kombucha: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science* [Internet]. 2020 jul. [citado em 29 maio 2022]; 22:[cerca de 12 p.]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100272>
- ¹² Barros VC, Freitas AC. Perfil de consumidores de kombucha no Brasil e no mundo. *Convibra* [Internet]. 2020 [citado em 15 jun. 2022];[cerca de 13 p.]. Disponível em: https://convibra.org/congresso/res/uploads/pdf/artigo27320_4_20202443.pdf
- ¹³ Bueno I. O mundo das leveduras. 2013 [citado em 4 jul. 2022]. In *Jornal Biosferas* [Internet]. São Paulo – [cerca de 1 tela]. Disponível em: <http://www1.rc.unesp.br/biosferas/Esp13-07.html#:~:text=As%20leveduras%20s%C3%A3o%20microrganismos%20unicelulares,uma%20categoria%20taxon%C3%B4mica%20dos%20fungos>
- ¹⁴ Cassanego DB, Richards NSPS, Mazutti MA, Ramírez-Castriollón M. Leveduras: diversidade em kefir, potencial probiótico e possível aplicação em sorvete. *Ciência e Natura* [Internet]. 2015 dez. [citado em 1º jun. 2022];37:[cerca de 13 p.]. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/4675/467547645019.pdf>
- ¹⁵ Portaria GM/MS Nº 888, de 4 de maio de 2021. Brasília: Ministério da Saúde, 2021, Pub. [citado em 12 jul. 2022]. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2021/prt0888_07_05_2021.html
- ¹⁶ Instrução normativa MS/ANVISA nº 161, de 1º jul. 2022. Brasília: Ministério da Saúde, 2022, Pub. [citado em 27 maio 2024]. Disponível em: https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/IN_161_2022_.pdf/b08d-70cb-add6-47e3-a5d3-fa317c2d54b2
- ¹⁷ Soares MG, Lima M, Schmidt VCR. Technological aspects of kombucha, its applications and the symbiotic culture (SCOBY), and extraction of compounds of interest: A literature review. *Trends in Food Science and Technology* [Internet]. 2021 fevereiro [citado em 9 jun. 2022];110: [cerca de 12 p.]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.017>
- ¹⁸ Kaashyap M, Cohen M, Mantri N. Microbial diversity and characteristics of kombucha as revealed by metagenomic and physicochemical analysis. *Nutrients* [Internet]. 2021 dez. [citado em 10 jun. 2022];13(12):[cerca de 14 p.]. Disponível em: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8704692/#:~:text=Kombucha%20contains%20high%20protein%20\(3.31,kombucha%20is%20a%20powerful%20probiotic](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8704692/#:~:text=Kombucha%20contains%20high%20protein%20(3.31,kombucha%20is%20a%20powerful%20probiotic)
- ¹⁹ Chakravorty S, Bhatthacharya S, Chatzionotas A, Chakraborty W, Bhattacharya D, Gachhui R. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology* [Internet]. 2016 [citado em 1º jun. 2022]; 220:[cerca de 10 p.]. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015>. Acesso em: 1º jun. 2022.
- ²⁰ Villarreal-soto SA, Beaufort S, Bouajila, Souchard JP, Taillandier P. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of Food Science*. [Internet]. 2018 [citado em 1º jun. 2022];83(3):[cerca de 8 p.]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29508944/>
- ²¹ Kozyrovska NO, Reva OM, Goginyan VB, Vera JP. Kombucha microbiome as a probiotic: A view from the perspective of post-genomics and synthetic ecology. *Biopolymers and Cell* [Internet]. 2012 [citado em 9 jun. 2022];28(2):[cerca de 10 p.]. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/235919264_Kombucha_microbiome_as_a_probiotic_a_view_from_the_perspective_of_post-genomics_and_synthetic_ecology
- ²² Resolução da Diretoria Colegiada RDC Nº 241, de 26 de julho de 2018, 2019, Pub. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=27/07/2018&jornal=515&pagina=97>. Acesso em: 1º jun. 2022.
- ²³ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para instrução processual de petição de avaliação de probióticos para uso em alimentos. Brasília; 5 maio de 2021. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/5280930/guia+21+v2.pdf/dac5bf5f-ae56-4444-b53c-2cf0f7c15301>
- ²⁴ Dimidi E, Cox SR, Rossi M, Whelan. Fermented Foods: Definitions and Characteristics, *Gastrointestinal Health and Disease*. *Nutrients* [Internet]. 2019 ago. [citado em 19 jul. 2022];11(8):[cerca de 26 p.]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6723656/>. Acesso em: 19 jul. 2022.

Submetido em: 1º/9/2023

Aceito em: 19/6/2024

Publicado em: 19/2/2025

Contribuições dos autores

Giulia Bacim de Araujo e Silva: Curadoria de dados, Investigação, Metodologia, Validação de dados e experimentos, *Design* da apresentação de dados, Redação do manuscrito original, Redação – revisão e edição.

Marina Borba Tósca: Curadoria de dados, Investigação, Metodologia, Validação de dados e experimentos, *Design* da apresentação de dados, Redação do manuscrito original e Redação – revisão e edição.

Marjo Cadó Bessa: Investigação, Metodologia, Validação de dados e experimentos, Redação – revisão e edição.

Flávia Seidler: Curadoria de dados, Investigação, Metodologia, Validação de dados e experimentos, Redação – revisão e edição.

Giovana Alves de Freitas: Curadoria de dados, Investigação, Metodologia, Validação de dados e experimentos.

Alessandra Campani Pizzato: Conceituação, Curadoria de dados, Análise Formal, Obtenção de financiamento, Investigação, Metodologia, Administração do projeto, Disponibilização de ferramentas, Supervisão, Validação de dados e experimentos, *Design* da apresentação de dados, Redação do manuscrito original e Redação – revisão e edição.

Todos os autores aprovaram a versão final do texto.

Conflito de interesse: Não há conflito de interesse.

Financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – Bolsa de Iniciação Científica.

Autor correspondente

Alessandra Campani Pizzato
Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS
Av. Ipiranga, 6681- Partenon, Porto Alegre/RS, Brasil. CEP 90619-900
alessandra.pizzato@pucrs.br

Editor. Dr. Giuseppe Potrick Stefani

Editora-chefe: Dra. Adriane Cristina Bernat Kolankiewicz

Este é um artigo de acesso aberto distribuído
sob os termos da licença Creative Commons.

