

Nutrição Brasil 2018;17(1):2-8

ARTIGO ORIGINAL

Avaliação física, química e antimicrobiana da Kombucha Probiótico (*Medusomyces gisevii lindau*) e análise comparativa com outros probióticos comercializados no Brasil *Physical, chemical and antimicrobial evaluation of probiotic Kombucha (Medusomyces gisevii lindau) and comparative analysis with other probiotics marketed in Brazil*

Silvana Ballmann Cardoso*, Izabel Carolina Busfield**, Edeltraut Steiner***, Tania Regina de Oliveira Rosa, M.Sc.****

*Acadêmica do Curso de Nutrição da Faculdade Bom Jesus/IELUSC, **Nutricionista e Especialista em Nutrição Funcional, Docente do Curso de Graduação em Nutrição da Faculdade Bom Jesus/IELUSC, ***Nutricionista Egressa do Curso de Nutrição da Faculdade Bom Jesus/IELUSC, ****Mestre em Ciências Farmacêuticas, Docente do Curso de Graduação em Nutrição da Faculdade Bom Jesus/IELUSC

Recebido 13 de dezembro de 2016; aceito 15 de dezembro de 2017.

Endereço para correspondência: Tania Regina de Oliveira Rosa, Associação Educacional Luterana Bom Jesus/IELUSC Rua Mafra, 84 Saguazu 89221-665 Joinville SC, E-mail: taniarprof@gmail.com; Silvana Ballmann Cardoso: plimata027@hotmail.com; Izabel Carolina Busfield: izabel.bousfield@ielusc.br; Edeltraut Steiner: traudy54@gmail.com

Resumo

Objetivo: Analisar as propriedades físicas-químicas e atividade antimicrobiana da Kombucha (*Medusomyces gisevii lindau*) e comparação com leite fermentado. **Métodos:** Trata-se de um trabalho experimental observacional e analítico. Foram realizadas determinações de pH, Acidez titulável, Carboidratos, Proteínas, Peso específico e Cinzas. Para a avaliação da atividade antimicrobiana foram utilizadas espécies de patógenos, semeados sobre meio de cultura específico, cultivados em estufa bacteriológica. As amostras preparadas com a bebida fermentada pelo Kombuchá (*Medusomyces gisevii lindau*) foram numeradas da seguinte forma: K1 para a fermentação com chá preto (*Camellia sinensis*), K2 para a fermentação em água e K3 para o leite fermentado. **Resultados:** O pH foi K1 = 2,2, da amostra K2 = 2,0 e K3 = 2,65. A acidez titulável apresentou valores de K1 = 0,33% para K2 = 0,21% e K3 = 0,30%. Total de carboidratos K1 = 0,0761 mg/5ml, K2 = 0,0748 g/5ml e K3 = 0,0764 mg/5ml. Total de proteínas na amostra K1=1,74 mg/5ml, K2=1,49 mg/5ml e K3=2,65 mg/5ml. O peso específico de K1 = 1,03g, K = 1,03 g e K3 = 1,06 g. Total de cinzas encontrado em K1 = 4,20 mg/5ml e K2 = 4,58 mg/ml, além de minerais como zinco e magnésio. Não houve crescimento de patógenos nas placas contendo as amostras. **Conclusão:** A bebida fermentada por Kombuchá apresenta resultados satisfatórios nas análises físico-químicas quando comparadas ao leite fermentado comercializado, também demonstra atividade biológica e antimicrobiana.

Palavras-chave: kombuchá, fermentação, avaliação físico-química, atividade antimicrobiana.

Abstract

Purpose: To analyze the physical-chemical properties and antimicrobial activity of Kombucha (*Medusomyces gisevii lindau*) in comparison to fermented milk. **Methods:** This is an observational and analytical experimental work. We determined pH, Titratable Acidity, Carbohydrates, Proteins, Specific Weight and Ash. For the evaluation of the antimicrobial activity we used pathogen strain, seeded on a Petri dish, grown in a bacteriological stove. Samples were prepared with Kombucha (*Medusomyces gisevii lindau*) fermented beverages, numbered as follows: K1 for fermentation with black tea (*Camellia sinensis*), K2 for fermentation in water and K3 for fermented milk. **Results:** The pH was K1 = 2.2, K2 = 2.0 and K3 = 2.65. The titratable acidity presented values of K1 = 0.33% for K2 = 0.21% and K3 = 0.30%. Total carbohydrate K1 = 0.00761 mg/5ml, K2 = 0.00748 g/5ml and K3 = 0.00764 mg/5ml. The specific amount of K1 = 1.03 g, K = 1.03 g and K3 = 1, K2 = 1.49 mg/5ml and K3 = 2.65 mg/5 ml, 06 g. The fixed mineral residue found in K1 = 4.20 mg/5ml and K2 = 4.58 mg/ml, and contain minerals such as zinc and magnesium. There was no growth of the pathogens analyzed. **Conclusion:** The beverage fermented by Kombucha presented satisfactory results in the

physical-chemical analyzes when compared to the commercialized fermented milk, and demonstrates antimicrobial and biological activity.

Key-words: Kombucha, fermentation, physical-chemical evaluation, antimicrobial activity.

Introdução

A alimentação é uma necessidade básica para os seres vivos, além de ser um direito, é ainda uma atividade cultural. Através da alimentação se suprem não apenas necessidades nutricionais e fisiológicas, sendo também um ato social, pois proporciona o convívio em sociedade [1]. Alguns alimentos além de fornecerem nutrientes básicos, apresentam componentes com potenciais tanto de promoção de saúde quanto tratamento de doenças [2,3].

Nos últimos anos tem se fortalecido a ideia da relação entre os alimentos e a saúde, apregoado há milênios pelos orientais e traduzidos nos chamados alimentos funcionais, que apesar aparência com o alimento convencional, consumido como parte de uma alimentação normal, porém é capaz de produzir efeitos metabólicos ou fisiológicos desejáveis na manutenção da saúde [4].

Os alimentos funcionais estão classificados conforme seus compostos bioativos e probióticos. São consideradas substâncias bioativas, os carotenóides, os fitoesteróis, os flavonóides, os fosfolípidios, os organossulfurados, polifenóis, entre outras. Os probióticos são micro-organismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo [5].

As bactérias do intestino metabolizam vários substratos através do processo de fermentação formam produtos finais como ácidos graxos de cadeia curta (acetato, butirato, propionato) e gases, que contribuem de forma positiva para o atendimento das necessidades energéticas do hospedeiro, a microbiota gastrointestinal humana é fundamental para nutrição e saúde, ainda tem a capacidade de modular o sistema imunológico [6].

Quando a microbiota intestinal está em equilíbrio, ou seja, em eubiose, impede que micro-organismos com potenciais patogênicos exerçam seus efeitos prejudiciais. Porém, o desequilíbrio da microbiota caracteriza uma disbiose. Os probióticos influenciam de forma benéfica a microbiota intestinal humana [7].

Kombucha é uma bebida terapêutica consumida em todo o mundo conhecida pela capacidade de promoção da saúde, produzida através de uma simbiose de espécies de leveduras, fungos e bactérias (*Medusomyces gisevii lindau*) na fermentação de chá adoçado [8]. Durante a fermentação os probióticos presentes na Kombucha metabolizam ácidos: láctico, málico, tartárico, malônico, oxálico, succínico, pirúvico, usnico; além de açúcares, tais como sacarose, glicose e frutose; algumas vitaminas do complexo B: B1, B2, B6, B12, e C, 14 aminoácidos, aminas biogênicas, purinas, pigmentos, lípidos, proteínas, etanol, minerais, entre outros [9,10].

As catequinas presentes no chá são conhecidos pela atividade antioxidante e anticancerígena, anti-aterosclerose, anti-inflamatória e anti-diabetes, e estes compostos podem ser modificados pela fermentação da Kombucha. Os compostos encontrados no chá preto como a cafeína, teofilina e teobromina são capazes de estimular o crescimento da matriz de celulose ou SCOBY (*for symbiotic colony of bacteria and yeast*) [11].

Muitos benefícios para a saúde são atribuídos ao uso do Kombucha devido à capacidade de detoxificação, melhora da digestão e promoção de efeitos positivos sobre o sistema imunológico, endócrino, cardiovascular, gastrointestinal, urogenital entre outros [6] como na prevenção e tratamento do câncer, gota, cefaléia, reumatismo, problemas de envelhecimento, demonstrando efeitos terapêuticos satisfatórios no tratamento de doenças metabólicas e crônicas [12].

Com base na possível capacidade de alimento funcional da Kombucha o presente estudo teve como objetivos analisar as propriedades físicas, determinar as características químicas, investigar a atividade antimicrobiana da Kombucha probiótico (*Medusomyces gisevii lindau*), análise comparativa com um tipo de leite fermentado comercializado e produzido no Brasil.

Material e métodos

O trabalho experimental observacional e analítico foi realizado através da avaliação físico-química e antimicrobiana da bebida fermentada por Kombucha. Realizou-se no

Laboratório de Química, Bioquímica, Bromatologia e Tecnologia de Alimentos, da Faculdade de Nutrição da Associação Educacional Luterana Bom Jesus/Ielusc em Joinville/SC.

Para a obtenção da amostra K1, foi produzida a bebida probiótica de chá preto (*Camelia sinensis*) preparado com metodologia baseada no experimento de Fu *et al.* [13]. Para obtenção da amostra K1 (Teste 1) foi realizada da seguinte forma: Foi misturada 2 litros de água filtrada, 16 g de chá preto da marca Leão Fuze®, 200 g açúcar refinado da marca Da Barra®, levando-se ao fogo até atingir a temperatura de 100°C, e mantendo fervura por 10 minutos. Após esfriar à temperatura ambiente foi adicionada 100 ml do líquido pronto de Kombucha e o SCOBY cobrindo-se com pano de algodão, incubados a temperatura ambiente em torno de 25°C, ao abrigo da luz por 10 dias. Para obtenção da amostra K1 para o Teste 2 foi filtrada o líquido em peneira de nylon e acondicionado em recipiente de vidro emeticamente fechado e mantido sob refrigeração a 4°C por 7 dias.

A amostra K2 cultivada em água seguiu a metodologia empírica. Para a obtenção da amostra K2, foi produzida a bebida fermentada de água e Kombucha. A preparação da amostra K2 foi realizada da seguinte forma: foi misturada água filtrada em temperatura ambiente, 200 g de açúcar refinado da marca Da Barra®, foi adicionado 100 ml do líquido pronto de Kombucha fermentado em água e o SCOBY de origem doméstica, cobrindo-se com pano de algodão e incubados a temperatura ambiente em torno de 25°C, ao abrigo da luz durante 30 dias para realização do Teste 1 e 37 dias para o Teste 2.

Para a amostra K3 foi escolhido um tipo de leite fermentado com alegação de probiótico de marca comercialmente vendida em supermercados.

Para a avaliação físico-química foi realizado os seguintes procedimentos em triplicata segundo os métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (1985): pH (pHmetro digital), acidez titulável expressa em % de ácido cítrico (IAL, 1985), carboidratos pelo Método de Benedict, proteínas pelo Método de Biureto, peso específico obtido aplicando-se a fórmula $d = m/v$, resíduo mineral fixo (cinzas) pelo método de incineração em mufla a 550°C.

Para a determinação da atividade antimicrobiana foram empregados os seguintes micro-organismos: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella sp* ATCC 4598, *E. coli* ATCC 3328, *Shigella* ATCC 12022 e o fungo *Candida albicans* 10231. Após as bactérias serem semeadas, foi medido com auxílio de pipeta graduada estéril 1 ml da amostra K1 sendo aplicados sobre o ágar, para a amostra K2 e K3 utilizou-se o mesmo procedimento. As placas foram incubadas, invertidas, à temperatura de 35°C ± 2°C por 48 ± 1 horas.

Todos os dados obtidos dos diferentes experimentos foram plotados em programas estatísticos apropriados. Os dados serão tabulados mediante o Microsoft® Excel Office 2010.

Resultados

As determinações físico-químicas realizadas com as amostras estão expostas Tabela I. Para a determinação do pH, obteve-se para a amostra K1 o pH 2,2, para a amostra K2 o pH 2,0 para a amostra K3 o pH 3,1. Conforme resultados obtidos para a acidez expostos na tabela I, os valores de acidez titulável encontrados foram de 0,33% para K1, 0,21% para K2 e 0,30% para K3. Verificou-se a presença de pouco carboidrato em todas as amostras analisadas. Sendo que K1 0,0761 g/5 ml, K2 0,0748 g/5ml, K3 0,0764 g/5ml.

Tabela I - Resultados para determinação das características físico-químicas.

Parâmetro		K1	K2	K3
Proteínas	mg/5ml	1,74	1,49	2,65
Carboidratos	mg/5ml	0,0761	0,0748	0,0764
pH	-	2,2	2,0	3,1
Cinzas	mg/ 5ml	4,20	4,58	-
Peso específico	g/ml	1,03	1,03	1,06
Acidez	%	0,33	0,21	0,30

Após os devidos cálculos, a amostra K1 apresentou 1,74 mg/5ml de proteínas, a amostra K2 apresentou 1,49 mg/5ml de proteína e a amostra K3 apresentou 2,65 mg/5ml. Os resultados encontrados para o resíduo mineral fixo foi de 4,2 g/5ml para a amostra K1 e 4,58 g/5ml para a K2, também foi observada a presença de Cloreto (Cl) Zinco (Zn) e Magnésio (Mg)

não sendo possível a quantificação. O peso específico médio encontrado foi de K1 = 1,3 g/ml, para K2 = 1,3 g/ml e K3 = 1,6 g/ml.

Tabela II - Resultados dos experimentos para determinação das características antimicrobianas.

Análise		Tempo Zero			Tempo 1 dia			Tempo 4 dias		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
Staphylococcus aureus ATCC 6538	Teste 1									
	Teste 2									
Salmonella sp ATCC 4598	Teste 1									
	Teste 2									
E. coli ATCC 3328	Teste 1									
	Teste 2									
Candida albicans	Teste 1									
	Teste 2								+	++

O sinal + significa presença de crescimento e o sinal negativo ausência de crescimento.

As análises antimicrobianas conforme expostas na tabela II foram realizadas em duplicata e mostram que não houve crescimento microbiano nas amostras analisadas no primeiro teste realizado com amostras de K1 com 10 dias de fermentação, K2 com 30 dias de fermentação. No segundo teste houve discreto crescimento microbiano especialmente de *Candida albicans*, com baixo crescimento na amostra K2, moderado crescimento na amostra K1 e K3. O crescimento de *Salmonella* e *E. coli* foi muito baixo em todas amostras no segundo teste.

Discussão

As análises de pH mostram que houve variação em relação a bebidas fermentadas com leite, esta variação pode ser devido aos diferentes micro-organismos utilizados. No estudo realizado por Fu *et al.* [14] que utilizando uma mistura de ervas na fermentação de sua amostra foram encontrados valores de pH 2,75. O estudo de Iličić *et al.* [15] que analisaram a densidade calórica do Kombucha fermentada a base de leite registrou o pH 3,21. Burkert *et al.* [16] em seu trabalho teve o pH 4,6 ajustado para a realização de teste sensorial sendo o valor mais adequado. Para Mendes [17] o pH médio inicial do leite fermentado por *Lactobacillus fermentum* foi de 4,58; enquanto que para o leite fermentado por *Lactobacillus rhamnosus*, o pH foi 4,63. Já no estudo realizado por Kopper [18] no desenvolvimento de uma bebida fermentada mista da farinha de bocaiúva e extrato hidrossolúvel de soja adicionada de *Lactobacillus acidophilus*, observou-se uma redução no pH variando entre 4,44 a 3,78, mantendo-se próximo do pH 4,5 que é desejável pois além de prevenir o crescimento de micro-organismos patogênicos confere um sabor mais suave ao produto final.

Os resultados obtidos acidez titulável neste estudo, foram parecidos com os resultados encontrados no estudo de Iličić *et al.* [15] que encontraram o valor de ácido láctico 0,04% e ácidos totais 0,29% nas amostras de Kombucha fermentado no chá preto. No trabalho de Kempka *et al.* [19] que testaram uma bebida láctea fermentada com pêssego, os autores observaram que a partir do 14º dia de fermentação a bebida apresentou uma acidez 0,9% de ácido láctico. Mendes [17] constatou em seu estudo que todas as amostras de leites fermentados apresentaram valores de acidez titulável inferiores a 0,60%, mantendo-se dentro valor mínimo oficial estabelecido pela legislação brasileira para leites fermentados [20].

Os valores de carboidratos foram mais baixos quando comparados aos dados de Vieira [21] que analisou uma bebida a base de quinoa real encontrou um valor de carboidrato de 5,47 g/100ml, 4,7 g/100ml no leite integral, 5 g/100ml para a bebida de aveia, a bebida de soja 3,7 g/100ml e a de arroz 15,5 g/100ml. No estudo de Ataides [22] encontrou um valor de 19,17 g/100 ml em amostras de extrato hidrossolúvel de arroz sendo um pouco superior ao anterior. Com este resultado pode-se perceber que as bactérias probióticas presentes tanto nas bebidas fermentadas com Kombucha, como o leite fermentado, consumiram grande parte do carboidrato existente no produto.

As quantidades de proteína encontrada foram superiores quando comparadas ao estudo realizado por Prado [24] que desenvolveu uma bebida probiótica não láctea a base de água de coco e encontrou valores de proteínas de 3,7 mg/l representando valores baixos de proteínas. Porém, os resultados obtidos foram muito semelhantes aos observados por Ribeiro

et al. [25] que estudou uma bebida láctea fermentada formulada com *Camellia sinensis* na qual os valores de proteína encontrados foram 3,27 e 4,27 (g 100 g⁻¹). Nas bebidas lácteas analisadas por Thamer e Penna [23] os percentuais de proteínas estiveram entre 1,93 % e 2,46%, sendo assim apropriados os resultados da amostra K3.

Os valores obtidos para as cinzas totais estão abaixo dos encontrados no chá verde (*Camellia sinensis* (L.) estudados por Silva *et al.* [26] que indicaram valores entre 4,59% e 7%. Nas análises de Ribeiro *et al.* [25] o resíduo mineral fixo esteve entre 0,63 e 0,66 (g.100 g⁻¹) independentemente da concentração do chá ou tempo de fermentação, valores semelhantes aos encontrados por Iličić *et al.* [15] onde foi utilizada Kombucha na fermentação de lactose e demonstrou valores de cinzas entre 0,57% e 0,68%, representando valores mais aproximados ao do presente estudo. Lima *et al.* [27] descrevem que *C. sinensis* é capaz acumular minerais, alguns deles essenciais para a saúde humana, tais como K, Mg, Mn, Ca, Zn, Cr, Ni, além de Se. As análises realizadas no presente estudo foram encontrados minerais Zn, Mg além de Cl.

Os resultados encontrados nos valores médios de peso específico estão de acordo com Luna Lara [28] que analisou leites fermentados, encontrando valores entre 1,27 g/ml e 1,43 g/ml. Ao comparar o resultado das amostras em relação à água destilada, cujo peso específico é de 1 g/ml a 25°C percebe-se que as amostras analisadas demonstram uma densidade superior a da água. Com a densidade é possível verificar se houve a adulteração nos produtos com a adição de água e substâncias dissolvidas dentro das amostras, ou seja, presença de contaminantes [29,30].

Os resultados da atividade antimicrobiana são semelhantes aos encontrados por Sousa e Espósito [31] que analisaram diferentes açúcares na preparação da Kombucha. Os ácidos produzidos através da fermentação especialmente da sacarose funcionam como um composto com expressivos valores de ação antibacteriana, confirmando os estudos de Dufresne e Farnworth [10] que demonstram a atividade antimicrobiana contra a *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* relacionadas principalmente ao ácido acético produzido durante a fermentação.

Conforme o estudo de Jayabalan, Marimuthu, Swaminathan [9] a Kombucha demonstrou eficácia antimicrobiana contra *Salmonella choleraesuis Serotipo Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia Coli*, podendo ainda inibir o crescimento de outros patógenos, incluindo *Vibrio parahaemolytica* e inativar o vírus da febre aftosa in vitro [14].

Na ocasião das análises do Teste 1 dos estudos microbiológicos foram observadas que durante o tempo de incubação das amostras em estufa, não houve crescimento microbiano e toda a parte líquida evaporou, no Teste 2 houve crescimento de *Cândida albicans* nas três amostras sobre toda a superfície da placa, porém, nas placas com *E.coli* e *Salmonella* houve crescimento em apenas uma pequena parte, na placa contendo *Shigella* não houve nenhum tipo de crescimento.

Conclusão

A alimentação é vital a todo ser vivo, pois através dela serão fornecidos os nutrientes necessários à vida e também a manutenção e recuperação da saúde. Para que haja aproveitamento é imprescindível a saúde intestinal, pois além de ser responsável por todo o processo de digestão ainda constitui fator importante na síntese e liberação de vitaminas, minerais, hormônios, substâncias benéficas que melhoram do sistema imunológico. A microbiota intestinal contribui significativamente para o equilíbrio da saúde do hospedeiro, pois pode promover o controle contra patógenos através da competição. Nota-se que é crescente os problemas de saúde relacionados a alimentação, tornando-se fundamental observar o alimento com um olhar mais cuidadoso dando a ele a devida importância. Conhecer um alimento, seus componentes e seu potencial terapêutico, pode ser o início de uma relação de respeito, como já apregoava Hipócrates (“que seu alimento seja remédio, e seu remédio seja seu alimento”).

Após análise dos dados encontrados, conclui-se que a bebida fermentada pela Kombuchá (*Medusomyces gisevii* lindau) tanto o chá preto como em água possuem atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp, *E. coli*, *Streptococcus* sp, além de inibir o crescimento de bolores e leveduras. Constatou-se também a presença de minerais importantes para a saúde como zinco e magnésio, além de proteínas e baixos valores de carboidratos evidenciando a atividade biológica da Kombuchá. A Kombuchá apresenta resultados positivos quando comparados ao leite fermentado comercializado, sendo de baixo custo e fácil preparação.

Os resultados encontrados são promissores e sugerem novos estudos para melhor elucidação de seus compostos e substâncias para que benefícios conhecidos pelos orientais há milênios contribuam para a saúde na atualidade.

Referências

1. Pinheiro KAPN. Historia dos hábitos alimentares ocidentais. *Universitas Ciências a Saúde* 2008;3(1):173-90.
2. Oliveira MNO, Sivieri K, Alegro JHA, Saad SMI. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. *Rev Bras Ciênc Farm* 2002;38(1).
3. Basho SM, Bin MC. Propriedades dos alimentos funcionais e seu papel na prevenção e controle da hipertensão e diabetes. *Interbio* 2010;4(1):48-58.
4. Pacheco MTB, Sgarbieri VC. Alimentos funcionais. *Artigo Técnico*. Campinas; 2009.
5. Brasil. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Anvisa. Guia para comprovação da segurança de alimentos e ingredientes. Gerência De Produtos Especiais Gerência Geral De Alimentos. Brasília; 2013.
6. Kozyrovska NO, Reva OM, Goginyan VB. Kombucha microbiome as a probiotic: a view from the perspective of post-genomics and synthetic ecology. *Biopolymers and cell* 2012;28(2):103-13.
7. Badaró ACL, Guttierrez APM, Rezende AVC, Stringheta PC. Alimentos probióticos: aplicações como promotores da saúde humana – parte 1. *Nutrir* 2008;2(3).
8. Srinivasan R, Smolinske S, Greenbaum D. I. Probable gastrointestinal toxicity of kombucha tea: is this beverage healthy or harmful? *J Gen Intern Med* 1997;12:643-4.
9. Jayabalan R, Marimuthu S, Swaminathan K. Review on Kombucha Tea: microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity and tea fungus. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety* 2014;13:538-50.
10. Dufresne C, Farnworth E. Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Res Int* 2000;33:409:21.
11. Illana EC. El hongo Kombucha. *Bol Soc Micol Madrid* 2007;31:269-72.
12. Morales Chicaiza LE. Desarrollo. Elaboración y optimización bromatológica de una bebida de té negro fermentada a base de Manchurian Fungus (Kombucha) y evaluación de su actividad como potencial alimento funcional. Riobamba. [Tese] (Farmácia e Bioquímica). Escuela Superior Politécnica De Chimborazo; 2014.
13. 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 Sci Technol* 2014;34(1).
14. Fu NS. Anti-foot-and-mouth disease virus effects of Chinese herbal kombucha in vivo. *Braz J Microbiol* 2015;46(4):1245-55.
15. Iličić M, Kanurić K, Milanović S, Lončar E, Djurić M, Malbaša R. Lactose fermentation by Kombucha – a process to obtain new milk-based beverages. *Romanian Biotechnological Letters* 2012;17(1):7013-21.
16. Burkert JFM, Fonseca RADSD, Moraes JOD, Sganzerla J, Kalil SJ, Burkert CAV. Sensory acceptance of potentially symbiotic dairy beverages. *Braz J Food Technol* 2012;15(4):317-24.
17. Mendes DPG. Características físico-químicas e microbiológicas e aceitação sensorial de leites fermentados por bactérias produtoras de ácido láctico isoladas de queijo coalho de Pernambuco. [Dissertação]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2011.
18. Kopper AC. Bebida simbiótica elaborada com farinha de Bocaiúva (*Acrocomia aculeata*) e *Lactobacillus acidophilus* incorporados ao extrato hidrossolúvel de soja. Curitiba. [Dissertação]. Curitiba: Universidade Federal de Paraná; 2009.
19. Kempka AP, Krüger RL, Valduga E, Di Luccio M, Treichel H, Cansian R, de Oliveira D. Formulação de bebida láctea fermentada sabor pêssego utilizando substratos alternativos e cultura probiótica. *Ciênc Tecnol Aliment* 2008;28(1):170-7.
20. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 146 de 23 de outubro de 2007. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. *Diário Oficial da União*, 24 out. 2007. Seção 1,p.5.
21. Vieira AR. Efeito da força iônica na composição da bebida à base de quinoa real. Brasília. [Monografia]. Brasília: Universidade de Brasília; 2013.

22. Ataídes WS. O extrato de arroz como substituto para crianças que possuem alergias ou intolerâncias ao leite de vaca. [Monografia] Brasília: Centro Universitário de Brasília; 2015.
23. Thamer KG, Penna ALB. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. *Ciênc Tecnol Aliment* 2006;26(3):589-95.
24. Prado FC. Desenvolvimento de Bioprocesso para produção de bebida probiótica base de água de coco. Curitiba. [Tese]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2007.
25. Ribeiro OAS, Fonseca CM, De Figueiredo SP, Boari CA, Neumann D, Abreu LR. Bebida láctea fermentada formulada com *Camellia sinensis*. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos* 2014;32(2).
26. Silva BC, Silva F, Michelin DC. Avaliação da qualidade de amostras de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (Theaceae) comercializadas no município de Araras/SP. *Rev Ciênc Farm Básica Apl* 2013;34(2):245-50.
27. Lima JD, Mazzafera P, Moraes WDS, Silva RBD. Chá: aspectos relacionados à qualidade e perspectivas. *Ciênc Rural* 2009;39(4):1270-8.
28. Luna Lara MDJ. Análisis físicoquímico y reológico para la producción de leches ácidas a base de nódulos de Kéfir. Xalapa Enríquez Veracruz. [Tese]. Universidad Veracruzana Facultad de Ciencias Químicas; 2015.
29. César J, Paoli MA, Andrade JCA. Determinação da densidade de sólidos e líquidos. *Chemkey, Liberdade para aprender* 2004;4(16):16-22.
30. Zambelli R, Herculano L, Brasil D, Melo S, Pontes E, Pinto L et al. O óleo de girassol como agente de glazeamento em massas para a produção de pães tipo forma. *Blucher Chemical Engineering Proceedings* 2015;1(2):3757-64.
31. Sousa 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; 2009 set 16-18 .p.43.