

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DA KOMBUCHA DE CHÁ PRETO

Evaluation of the biological activity of black tea kombucha

Esther Pereira Vieira

Universidade Estadual de Goiás

Kamila Cecílio de Moraes

Universidade Estadual de Goiás

Osvaldo Gomes Pinto

Universidade Estadual de Goiás

Luciana Damacena-Silva

Universidade Estadual de Goiás

Plínio Lázaro Faleiro Nunes

Universidade Estadual de Goiás

Eliete Souza Santana

Universidade Estadual de Goiás

RESUMO

A kombucha é uma bebida probiótica fermentada, de sabor agridoce, produzida a partir de uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras. Sua popularidade tem aumentado devido aos potenciais benefícios à saúde, especialmente relacionados à melhora da digestão e ao fortalecimento do sistema imunológico. Este estudo teve como objetivo avaliar as características físico-químicas da bebida, como pH e teor alcoólico, além de investigar atividades biológicas, incluindo toxicidade, ação antimicrobiana e potencial antitumoral. A toxicidade foi analisada por meio do teste de letalidade com *Artemia salina*, enquanto a atividade antimicrobiana foi determinada pela concentração mínima inibitória e bactericida, utilizando o método de microdiluição em caldo. A atividade antitumoral foi avaliada por meio do ensaio em discos de batata. Observou-se que o pH variou de 6,7 no início da fermentação para 3,2 no 21º dia, valores considerados adequados para a qualidade sensorial e a segurança da bebida. O teor alcoólico foi de 0,0% (v/v), atendendo aos limites estabelecidos pela legislação brasileira. Nos testes antimicrobianos, a concentração de 60 µg·mL⁻¹ apresentou efeito inibitório contra *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, sem efeito bactericida. No ensaio antitumoral, a kombucha demonstrou inibição de 79,36% do crescimento tumoral na concentração de 75%. Os resultados indicam o potencial terapêutico da kombucha, destacando a necessidade de estudos adicionais para elucidar seus mecanismos de ação e eficácia clínica.

Palavras-chave: Bebida fermentada; Probióticos; Potencial terapêutico.

ABSTRACT

Kombucha is a fermented probiotic beverage with a sweet-and-sour flavor, produced from a symbiotic culture of bacteria and yeasts. Its popularity has increased due to its potential health benefits, especially those related to

improved digestion and strengthening of the immune system. This study aimed to evaluate the physicochemical characteristics of the beverage, such as pH and alcohol content, as well as to investigate biological activities, including toxicity, antimicrobial action, and antitumor potential. Toxicity was analyzed using the *Artemia salina* lethality test, while antimicrobial activity was determined by the minimum inhibitory and bactericidal concentrations using the broth microdilution method. Antitumor activity was assessed using the potato disc assay. The pH was found to vary from 6.7 at the beginning of fermentation to 3.2 on day 21, values considered suitable for both the sensory quality and safety of the beverage. The alcohol content was 0.0% (v/v), meeting the limits established by Brazilian legislation. In the antimicrobial tests, the concentration of $60 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ showed an inhibitory effect against *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*, with no bactericidal effect. In the antitumor assay, kombucha showed 79.36% inhibition of tumor growth at a 75% concentration. The results indicate the therapeutic potential of kombucha and highlight the need for further studies to elucidate its mechanisms of action and clinical efficacy.

Keywords: Fermented beverage; Probiotics; Therapeutic potential.

INTRODUÇÃO

O trato gastrointestinal humano possui uma extensa e diversificada microbiota que desempenha um papel crucial na saúde do organismo e dentre algumas atividades, destaca-se a sua participação na absorção de vitaminas e outros nutrientes (Brito; Ferraz, 2019).

A relação entre nossa microbiota e saúde é um tema recorrente de pesquisa (Bedani; Rossi, 2009) e segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) uma alimentação balanceada com o uso de probióticos é uma forma de estabelecer uma microbiota saudável que pode ser definida como "microrganismos vivos" que, quando administrados em quantidades adequadas, proporcionam benefícios à saúde do hospedeiro" (FAO/OMS, 2006).

A terapia ou prevenção com probióticos envolve a introdução de bactérias benéficas, que competem por nutrientes e adesão ao epitélio intestinal. Isso resulta na modulação da microbiota intestinal, reduzindo a presença de bactérias patogênicas e suas toxinas (Bedani; Rossi, 2009).

A união dos probióticos, que promovem resistência ao trânsito intestinal e interação duradoura com o epitélio, pode ser de grande importância para a manutenção da integridade do epitélio intestinal. Essa integridade é fundamental para as funções de barreira e respostas cito-protetoras.

Nesse contexto, a bebida kombucha, conhecida desde a antiguidade por suas propriedades terapêuticas, tem sido cada vez mais estudada para investigar seus efeitos relatados. A kombucha, uma bebida agri-doce e fermentada à base de chá de origem asiática, pode ser uma potencial fonte de probióticos que contribuem para a saúde intestinal e os efeitos imunes locais e sistêmicos.

Entre os benefícios associados à kombucha estão o alívio de dores de cabeça, propriedades antioxidantes, redução do nível de colesterol,

bom funcionamento do fígado, melhora dos sistemas digestivos e circulatórios, aumento da resistência ao câncer, retardo do envelhecimento, melhora do metabolismo e visão, diminuição da incidência de inflamações, entre outros diversos benefícios (Bhattacharya *et al.*, 2016; Vieira *et al.*, 2021).

De acordo com o Portal do Agronegócio (2018), a Kombucha é a bebida funcional que mais cresce no mundo, sendo impulsionada principalmente pelas vendas nas regiões da Ásia, Pacífico e Estados Unidos. Esse crescimento se deve ao fato de que, apesar de ser uma bebida milenar, muitas pessoas desconheciam seus sabores e benefícios, o que tem conquistado novos adeptos.

O mercado de kombucha apresenta um crescimento significativo devido à mudança de estilo de vida da população, que está mais preocupada em adquirir hábitos saudáveis e sustentáveis. Além disso, a prevalência de doenças crônicas, como diabetes, hipertensão arterial e câncer, tem levado as pessoas a buscar alimentos e hábitos alimentares melhores, aumentando assim o consumo da bebida. Conforme Bruschi, Sousa e Modesto (2018), a crescente investigação e investimento no desenvolvimento de novos produtos pode se transformar em uma oportunidade para o mercado de kombucha, uma vez que essa bebida pode contribuir na prevenção de doenças e promoção da saúde.

Neste contexto, diante da crescente popularidade da kombucha como uma bebida probiótica fermentada, amplamente reconhecida por seus potenciais benefícios medicinais, propõe-se a realização de um estudo com o intuito de avaliar suas características físico-químicas e atividades biológicas. Essa investigação visa comprovar cientificamente a utilização terapêutica da kombucha e contribuir para o avanço do conhecimento acerca de seus possíveis efeitos medicinais.

OBJETIVOS

O presente estudo avaliou as características físico-químicas da bebida, como pH e teor alcoólico, além de investigar atividades biológicas, incluindo toxicidade, ação antimicrobiana e potencial antitumoral.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparação da kombucha

Este estudo teve como fonte de *SCOBY* (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*), uma doação da professora Cláudia Didonet (*In memoriam*). O *SCOBY* é um componente essencial no processo de fermentação da kombucha, pois trata-se de uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras, responsável pela transformação dos ingredientes iniciais em uma bebida fermentada probiótica.

Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Câmpus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas da Universidade Estadual de Goiás.

Para o cultivo do *SCOBY*, utilizou-se 500 mL de infusão de chá-preto preparada assepticamente pela dissolução de 5 g.L⁻¹ de *Camellia sinensis* da marca Leão™ em água a 100 °C, seguida da adição de 25 g de açúcar cristal, conforme descrito por Fu et al. (2014). Em seguida, foram adicionados 20 g do *SCOBY* e 5 mL do sobrenadante da cultura prévia da kombucha em um frasco de vidro contendo 500 mL da infusão.

O frasco foi tampado com tecido poroso para permitir as trocas gasosas e impedir a contaminação por insetos, e mantido em temperatura ambiente (em média 25°C) protegido da luz solar direta por 21 dias. Amostras foram coletadas ao final de sete, 14 e 21 dias e filtradas com filtro de celulose antes da realização das análises subsequentes (Fu et al., 2014).

Análises de pH

Foi empregado um pHmetro digital portátil da marca Kasvi (modelo K39-0014PA) para realizar análises de pH da kombucha aos sete, 14 e 21 dias de fermentação, com o objetivo de monitorar a acidez da bebida ao longo do processo fermentativo.

Análises do teor alcóolico da kombucha

Para a medição do teor alcóolico, utilizou-se um alcoômetro centesimal (Alcoômetro Gay Lussac), da marca Incoterm®, que é destinado à determinação da concentração de álcool em volume em misturas de água e álcool, indicando somente a força real do álcool presente (Gobbi; Theis, 2012). Após limpar o alcoômetro, a amostra de kombucha foi homogeneizada e colocada em uma proveta, esperando-se alguns minutos para que ficasse em repouso. Em seguida, o alcoômetro foi inserido e a leitura foi realizada após sete dias de fermentação da kombucha.

Ensaio de toxicidade com *Artemia salina* Leach

Para o ensaio de toxicidade em *Artemia salina* Leach, o meio de cultura da kombucha foi preparado inicialmente por neutralização com KOH, a fim de evitar a interferência do pH ácido na mortalidade dos microcrustáceos. O ensaio foi realizado em triplicata para estabelecer a relação concentração-resposta.

Um grupo controle foi utilizado, composto por água marinha artificial com 3,6% de NaCl suplementada com extrato de levedura (6 mg.L⁻¹) esterilizada. O pH foi ajustado para 8,5 utilizando solução de Na₂CO₃ a 0,1 mol.L⁻¹. No grupo de teste, foram colocadas dez larvas de *A. salina* em tubos de ensaio contendo água marinha artificial e kombucha em diferentes concentrações (600 µg.mL⁻¹, 60 µg.mL⁻¹, 6 µg.mL⁻¹, 0,6 µg.mL⁻¹ e 0,06 µg.mL⁻¹). O volume final de 1 mL foi completado com água marinha artificial, seguido de incubação.

Foi realizado um controle positivo com dicromato de potássio diluído a 100 µg.mL⁻¹, uma vez que esse composto é conhecido por ser tóxico para as larvas de *A. salina*. Além disso, um controle negativo foi feito utilizando apenas água marinha artificial.

Após 24 horas, os animais mortos foram contados e a concentração letal 50 (CL₅₀) foi determinada. Dessa forma, foi possível realizar a avaliação da toxicidade da kombucha utilizando o teste de letalidade em *A. salina*, seguindo as etapas de preparação do meio de cultura, transferência das larvas, exposição à kombucha, incubação e contagem dos animais mortos, além do cálculo da CL₅₀.

Avaliação da atividade antimicrobiana da kombucha

A determinação da atividade antimicrobiana da kombucha foi realizada pelo método de microdiluição em caldo, conforme protocolo recomendado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute para testes de suscetibilidade a agentes antimicrobianos por diluição em caldo (CLSI, 2026), visando à determinação da concentração mínima inibitória (CMI) e da concentração mínima bactericida (CMB).

Foram utilizadas cepas padrão da American Type Culture Collection (ATCC): *Escherichia coli* (ATCC 25313), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213).

Os micro-organismos foram repicados em ágar Mueller-Hinton e incubados por 24 h a 37 °C. Após esse período, de três a cinco colônias típicas foram suspensas em solução fisiológica estéril, e a turbidez dos inóculos foi ajustada à escala 0,5 de McFarland. Em seguida, realizou-se a diluição 1:10 em caldo Mueller-Hinton, obtendo-se uma concentração final aproximada de 1×10^7 UFC·mL⁻¹.

Para a determinação da CMI, a kombucha foi previamente filtrada em filtro de celulose e distribuída em microplacas de poliestireno estéreis de 96 poços, com fundo em U e tampa. Foram adicionados volumes de 50 µL, 20 µL, 2 µL e 0,2 µL de kombucha, acrescidos, respectivamente, de 50 µL, 80 µL, 98 µL e 99,8 µL de caldo Mueller-Hinton contendo os micro-organismos, obtendo-se concentrações finais de 600, 60, 6, 0,6 e 0,06 µg·mL⁻¹. As concentrações foram determinadas a partir da pesagem da kombucha após desidratação em estufa.

Os poços destinados aos controles da kombucha e do meio de cultura foram preenchidos com 100 µL de kombucha e 100 µL de caldo Mueller-Hinton, respectivamente. Adicionalmente, foram incluídos os seguintes controles experimentais: controle de crescimento (controle positivo), contendo caldo Mueller-Hinton inoculado sem adição de kombucha; controle de esterilidade (controle negativo), contendo apenas o meio de cultura; controle da kombucha, sem inoculação bacteriana, para verificação de interferências visuais; e controle com antimicrobiano de referência, conforme recomendações do CLSI, para validação da sensibilidade das cepas.

A microplaca foi incubada a 37 °C por 24 h, e o crescimento bacteriano foi avaliado visualmente pela presença de sedimento no fundo dos poços.

Como controle de qualidade do ensaio, foi utilizado o antimicrobiano de referência ciprofloxacino, conforme recomendações do CLSI. Adicionalmente, o cloranfenicol foi empregado como controle

complementar, considerando seu amplo espectro de ação e sua frequente utilização em estudos com produtos naturais, permitindo a comparação dos resultados com a literatura.

Para a determinação da CMB, alíquotas de 100 µL dos poços sem crescimento bacteriano visível foram semeadas em placas contendo ágar Mueller-Hinton e incubadas a 37 °C por 24 h, sendo posteriormente avaliada a presença ou ausência de crescimento bacteriano.

Triagem da atividade antitumoral

Utilizou-se o método adaptado de Iftkhar et al. (2018). Foram adquiridas batatas (*Solanum tuberosum*) de tamanhos entre 6 e 10 cm, frescas e saudáveis, em um mercado na região central da cidade de Anápolis, Goiás.

No laboratório, as batatas foram lavadas em água corrente, com sabão e bucha esponja multiuso. Em seguida, as superfícies foram desinfetadas por imersão em solução de hipoclorito de sódio a 0,1% por 20 minutos. As extremidades das batatas foram removidas, sendo posteriormente submetidas a nova imersão em solução de hipoclorito de sódio a 0,1% por mais 10 minutos. De cada batata, foi extraído um núcleo cilíndrico de tecido (10 mm de diâmetro), com auxílio de uma broca metálica estéril. As extremidades desses cilindros foram descartadas, padronizando-se a porção central do tecido vegetal para os ensaios.

Com bisturi estéril, foram obtidos discos de aproximadamente 10 mm de diâmetro e 5 mm de espessura. Posteriormente, os discos foram transferidos para placas de Petri contendo ágar-ágar a 2%, sendo distribuídos três discos por placa para cada concentração testada.

A bactéria *Rhizobium radiobacter* (ATCC 4720) foi cultivada em ágar triptona de soja (TSA) por 24 horas. Após esse período, foi preparada uma suspensão bacteriana ajustada para aproximadamente 1×10^7 UFC·mL⁻¹, com base na padronização turbidimétrica equivalente à escala 0,5 de McFarland, seguida de diluição para 1×10^5 UFC·mL⁻¹ em caldo nutriente, sendo incubada por 48 horas para posterior inoculação nos discos de batata.

As amostras de kombucha foram diluídas em DMSO a 5% nas concentrações de 6, 60 e 600 µg·mL⁻¹. Essas concentrações foram determinadas a partir da desidratação da kombucha em estufa, seguida de pesagem do resíduo seco, permitindo a expressão dos resultados em massa por volume (µg·mL⁻¹), com o objetivo de aumentar a reprodutibilidade e padronização experimental. A escolha da faixa de concentração foi baseada em ensaios antimicrobianos prévios realizados neste estudo (CMI), bem como em concentrações comumente empregadas em investigações com produtos naturais.

A inoculação foi realizada pela adição de 50 µL da suspensão bacteriana e 50 µL das respectivas concentrações de kombucha sobre cada disco de batata. Adicionalmente, foi incluído um controle de solvente contendo DMSO a 5% sem adição de kombucha, a fim de avaliar possíveis interferências do veículo nos resultados.

Os discos foram incubados por 20 dias a 25 °C. Após esse período, realizou-se a leitura mediante adição de solução de Lugol (5% I₂ e 10% iodeto de potássio). A contagem dos tumores foi realizada e comparada ao controle de viabilidade bacteriana (suspensão bacteriana não tratada). Os resultados foram expressos em porcentagem de inibição, conforme a fórmula:

$$100 - (\text{número de tumores no tratamento} / \text{número de tumores no controle de crescimento}) \times 100$$

Como controle positivo, foi utilizada a Camptotecina, dissolvida em DMSO a 5%, nas concentrações de 1, 10, 100 e 500 µg·mL⁻¹ (COKER *et al.*, 2003). A utilização de diferentes concentrações do controle positivo permitiu a validação do modelo experimental e a comparação da atividade biológica da kombucha em relação a um composto com reconhecida atividade antitumoral.

Análises Estatísticas

Para calcular a CL₅₀, foi aplicada a análise de regressão Probit, utilizando o software estatístico IBM SPSS Statistics 20, com intervalo de confiança de 95% (Martins *et al.*, 2018). Já para avaliar os resultados da Concentração Mínima Inibitória e da formação antitumoral em disco de batata obtidos com os extratos, frações e óleo, realizou-se o teste de ANOVA, com intervalo de confiança de 95% (p<0,05), conforme descrito por Santos *et al.* (2020).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise do pH

Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com os valores de pH ideais estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para que se tenha benefícios para a saúde (PORTARIA Nº 103 DE SETEMBRO DE 2018). Conforme relatado por Fu *et al.* (2014), em trabalho semelhante, foram encontrados valores próximos aos deste estudo ao utilizar uma combinação de ervas com 21 dias de fermentação e pH 2,75.

A redução do pH durante o processo de fermentação da kombucha ocorre devido à formação de ácidos, como o acético e glucônico (Goh *et al.*, 2012), que têm sido designados como responsáveis pelas propriedades funcionais da kombucha. A avaliação do pH é um dos parâmetros mais importantes na caracterização dessa bebida, pois está intimamente ligada ao processo de fermentação (Goh *et al.*, 2012).

A acidificação da kombucha está associada não apenas à produção de ácidos orgânicos, mas também à dinâmica metabólica entre bactérias e leveduras presentes no SCOBY, resultando na formação de uma ampla gama de metabólitos bioativos, incluindo compostos fenólicos modificados durante a fermentação (Coelho *et al.*, 2022). Essa complexidade metabólica contribui diretamente para a funcionalidade da bebida e sua estabilidade microbiológica.

Estudos têm demonstrado que o pH ácido da kombucha, abaixo de 4,2, inibe a propagação da maioria dos microrganismos patogênicos e promove alterações estruturais dos compostos através de sua atividade antioxidante (Villarreal-Soto *et al.*, 2020). Além disso, kombuchas com pH nessas faixas, não inferiores a 2,0, são consideradas ideais para evitar problemas dentários e gastrointestinais, além de garantir um sabor agradável ao paladar (Villarreal-Soto *et al.*, 2020).

Nesse contexto, evidências indicam que a atividade antimicrobiana da kombucha não depende exclusivamente da acidez, mas também da ação sinérgica entre ácidos orgânicos e compostos fenólicos, que atuam na desestabilização da membrana celular microbiana (SU *et al.*, 2023). Portanto, a avaliação do pH é importante não apenas para a qualidade na produção de kombuchas, mas também como um indicador indireto do potencial biológico da bebida.

Análise do teor alcoólico

A fermentação da kombucha com chá preto por sete dias, neste estudo, apresentou valores de teor alcoólico de 0,0% v/v. Jang *et al.* (2021) relata que a kombucha naturalmente fermentada contém de 0 a 3% de álcool por volume. Em contrapartida, a kombucha comercializada nos Estados Unidos e Canadá é considerada não alcoólica quando apresenta valores menores que 0,5% e 1,1% de álcool por volume, respectivamente (CHAN *et al.*, 2020). Já no Brasil, a rotulagem de kombuchas não alcoólicas pode utilizar a expressão “zero % álcool”, “0,0%”, ou similares, no produto que contiver até 0,5% v/v de álcool (Brasil, 2019).

No entanto, alguns estudos relatam níveis de álcool acima de 0,5% por volume em produtos de kombucha, o que pode trazer preocupações de saúde e segurança, especialmente para populações vulneráveis, como mulheres grávidas, crianças e pessoas com doença renal, pulmonar ou hepática significativa (Talebi *et al.*, 2017). Portanto, é importante que os métodos usados para determinar a concentração de álcool em bebidas fermentadas tenham passado por um estudo de validação rigoroso que garanta sua precisão e adequação para o fim a que se destina. Vários métodos são considerados adequados para a determinação de álcool em kombuchas, incluindo técnicas enzimáticas, densitométricas e cromatográficas de gás (AOAC, 2012).

No processo de produção da kombucha, o álcool é utilizado como substrato para a síntese de ácido acético por bactérias aeróbias, enquanto as leveduras são responsáveis pela produção de etanol a partir da frutose. Há uma relação bidirecional entre o ácido acético produzido pelas bactérias e o etanol, uma vez que o ácido acético pode estimular a produção de etanol pelas leveduras e, ao mesmo tempo, o etanol favorece o crescimento de bactérias acéticas (Hsiao *et al.*, 2016).

Villareal-Soto *et al.* (2020) observaram que as bactérias do ácido acético produzem uma nova camada de celulose e metabolizam o etanol para produzir ácidos orgânicos, reduzindo assim a concentração de etanol como fonte de carbono (Battikh *et al.*, 2013). A fermentação da kombucha é influenciada por vários fatores, incluindo o substrato utilizado, o

SCOBY, a temperatura, a luminosidade e o tempo de fermentação (Chen; Liu, 2000).

Estudos reforçam que pequenas variações nesses parâmetros podem resultar em diferenças significativas no teor alcoólico final, evidenciando a complexidade do processo fermentativo (Iglesias *et al.*, 2023). Além disso, análises contemporâneas indicam grande variabilidade no teor alcoólico de produtos comerciais, mesmo dentro do mesmo lote, o que destaca a necessidade de padronização no processo produtivo (Chan *et al.*, 2020).

Toxicidade em *Artemia salina* Leach

Para a análise da toxicidade da kombucha, utilizou-se o bioensaio para determinação de letalidade de *A. salina*, uma técnica amplamente utilizada em muitos grupos de pesquisa devido à sua eficácia, facilidade de obtenção dos cistos de *Artemia salina* no comércio, baixo custo e facilidade de execução (Hyacienth; Almeida, 2015).

Observou-se que não houve diferença significativa entre os dias de fermentação ($p = 1$) nem interação entre os dias de fermentação e a concentração da kombucha ($p = 1$).

Tabela 01- Teste de toxicidade da kombucha em cistos de *Artemia salina* expostos a kombucha ($600 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $60 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $6 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $0,6 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $0,06 \mu\text{g.mL}^{-1}$) por 24 horas.

Fonte	GL	SQ	QM	Valor- F	Valor- P
Trat.	6	5,0807	0,8468	4801	<0,0001
Dias	1	0	0	0	1
Trat.: Dias	6	0	0	0	1
Resíduos	28	0,005	0,0002		

Fonte: Autoria própria, 2024.

O teste ANOVA evidenciou uma diferença significativa entre os tratamentos avaliados ($p < 0,0001$). Em seguida, as concentrações médias foram submetidas ao teste de probit para determinação da concentração letal (CL₅₀) (Tabela 02). Conforme Meyer *et al.* (1998), a CL₅₀ representa a dose necessária para causar mortalidade em 50% da população teste.

Tabela 02 - Concentração letal (CL₅₀) da kombucha para *Artemia Salina*.

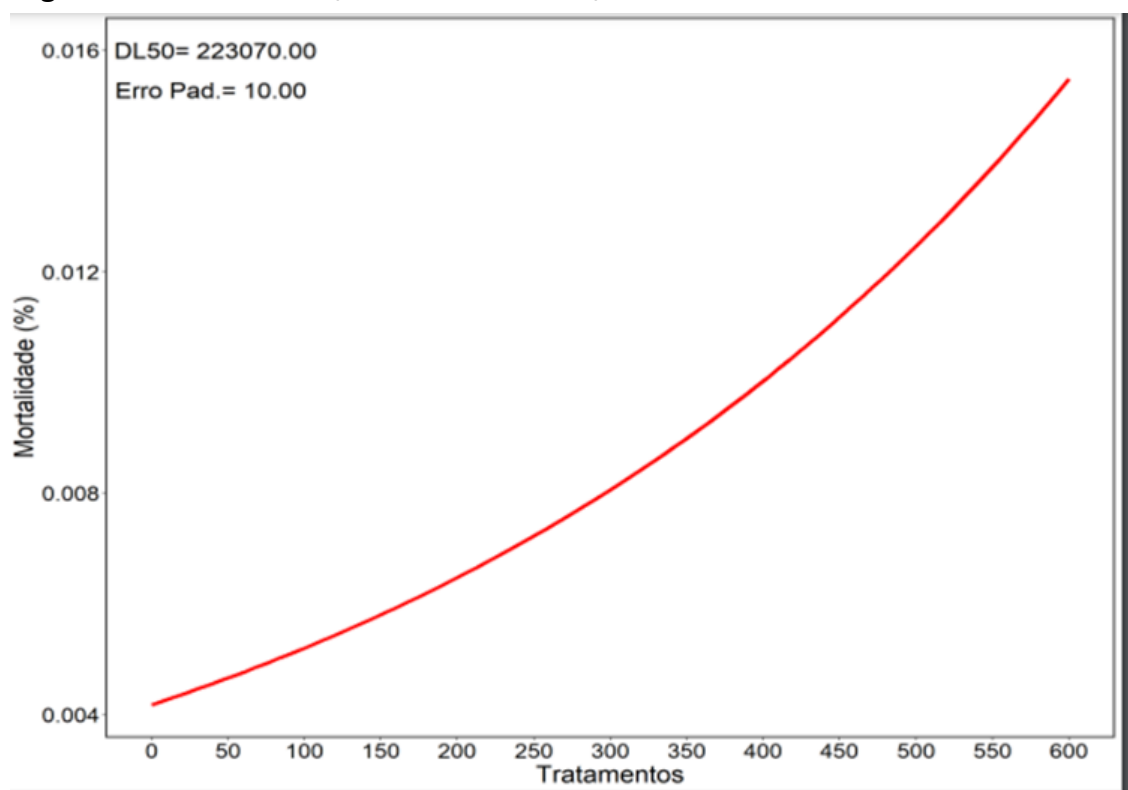
CL ₅₀ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	p-Valor
Kombucha	223.070,00
	<0,0001

Fonte: Autoria própria, 2024.

Observa-se que o valor da CL₅₀ foi de $223.070,00 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (Figura 01), indicando que as concentrações avaliadas, bem como a kombucha integral, são consideradas atóxicas. De acordo com Dolabela *et al.*

(2008), substâncias com CL50 superior a 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ são classificadas como atóxicas.

Figura 01- Determinação da Concentração Letal 50.



Fonte: Autoria própria, 2024.

De acordo com os critérios estabelecidos por Dolabela *et al.* (2008) para avaliação de compostos naturais, a kombucha pode ser classificada como atóxica, uma vez que apresentou valor de CL50 superior a 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, limite acima do qual a substância é considerada isenta de toxicidade significativa.

A maioria dos estudos sobre a toxicidade da kombucha foi conduzida em modelos animais, como descrito por Pauline *et al.* (2001), em que a bebida foi administrada por via oral, em diferentes dosagens, durante quinze dias. Os resultados não evidenciaram toxicidade significativa, conforme demonstrado por parâmetros bioquímicos e análises histopatológicas (Quião-Won; Teves, 2018). De forma semelhante, estudos realizados em ratos também não observaram efeitos tóxicos relevantes após administração oral de kombucha (Vijayaraghavan *et al.*, 2000). Esses achados corroboram os resultados obtidos no presente estudo por meio do bioensaio com *Artemia salina*, que igualmente indicaram ausência de toxicidade.

Estudos recentes reforçam esse perfil de segurança, indicando que a kombucha, quando produzida sob condições controladas, apresenta baixa toxicidade e potencial seguro para consumo (Coelho *et al.*, 2022; Costa *et al.*, 2023). No entanto, é importante considerar que fatores como dose, tempo de fermentação, procedência do SCOBY e condições de

armazenamento podem influenciar diretamente sua segurança microbiológica e toxicológica.

Adicionalmente, embora os dados experimentais sejam promissores, ainda existem lacunas quanto à avaliação em humanos. Por esse motivo, alguns autores recomendam cautela no consumo por populações específicas, como gestantes, lactantes e indivíduos imunocomprometidos, incluindo pacientes com HIV, devido à escassez de estudos clínicos robustos (Jayabalan *et al.*, 2014; Quião-Won; Teves, 2018; Verna, 2010).

Concentração Mínima Inibitória (CMI)

A microdiluição é um teste quantitativo que permite avaliar qual a concentração mínima necessária de um composto para que aproximadamente 50% das colônias tenham seu crescimento impedido, a avaliação de resultados é feita em duas etapas, a primeira ocorre através da observação da formação de um precipitado branco no fundo do poço, este que indica se a inibição foi o suficiente para o crescimento da bactéria em questão (Tabela 03). Quando ele não é formado, se inicia a segunda parte, esta que determina se o composto é bactericida ou bacteriostático, através do teste de CMB (CLSI, 2026).

Tabela 03 - Concentração mínima inibitória ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) dos compostos contra os quatro microrganismos avaliados.

Microrganismos	7 dias	14 dias
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25313)	$> 600 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$> 600 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	$> 600 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$> 600 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)	$60 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$60 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 29213)	$60 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$60 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

Fonte: Autoria própria, 2024.

A partir dos resultados obtidos no teste de CMI, observa-se que a kombucha apresentou atividade antimicrobiana favorável para *S. aureus* e *K. pneumoniae*, enquanto para *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* foi verificada ausência de atividade nas concentrações testadas, uma vez que não foram avaliadas doses superiores a $600 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Esses resultados foram interpretados com base nos critérios estabelecidos por Holetz *et al.* (2020), que classificam valores de CMI $\leq 100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ como indicativos de atividade antimicrobiana elevada, entre 100 e $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ como atividade moderada, entre 500 e $1.000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ como baixa atividade e valores superiores a $1.000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ como ausência de atividade antimicrobiana.

A atividade antimicrobiana observada pode ser atribuída à presença de compostos bioativos produzidos durante a fermentação, especialmente ácidos orgânicos, como o ácido acético, além de catequinas e outros compostos fenólicos. Esses metabólitos atuam principalmente na desestabilização da membrana celular bacteriana, na acidificação do citoplasma e na interferência em processos metabólicos essenciais

(Sreeramulu *et al.*, 2000). Estudos mais recentes reforçam que a atividade antimicrobiana da kombucha está relacionada à sua composição química complexa, resultante da interação metabólica entre bactérias e leveduras, que gera compostos com ação biológica sinérgica (Pereira *et al.*, 2026; Antolak *et al.*, 2021).

Além disso, investigações recentes demonstram que compostos antibacterianos específicos podem ser isolados a partir da kombucha, evidenciando que sua atividade não se limita apenas à acidez do meio, mas envolve moléculas bioativas produzidas durante a fermentação (NAM *et al.*, 2025). Revisões atuais também destacam que a kombucha apresenta amplo espectro de atividade biológica, incluindo propriedades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias, atribuídas principalmente à presença de ácidos orgânicos e compostos fenólicos derivados do chá e do metabolismo microbiano (Ionescu *et al.*, 2026).

Outros estudos também relataram atividade antimicrobiana da kombucha contra diferentes bactérias, incluindo *S. aureus* (Ansari *et al.*, 2017). Adicionalmente, a fermentação da kombucha em diferentes substratos, como suco de uva tinta, também demonstrou atividade antimicrobiana, sugerindo que essa ação não depende exclusivamente dos polifenóis formados durante a fermentação, mas principalmente do ácido acético, considerado o principal agente antimicrobiano da bebida. Esse composto atua por mecanismos como a acidificação citoplasmática e o acúmulo do ânion ácido dissociado em níveis tóxicos no interior celular (Ayed *et al.*, 2017).

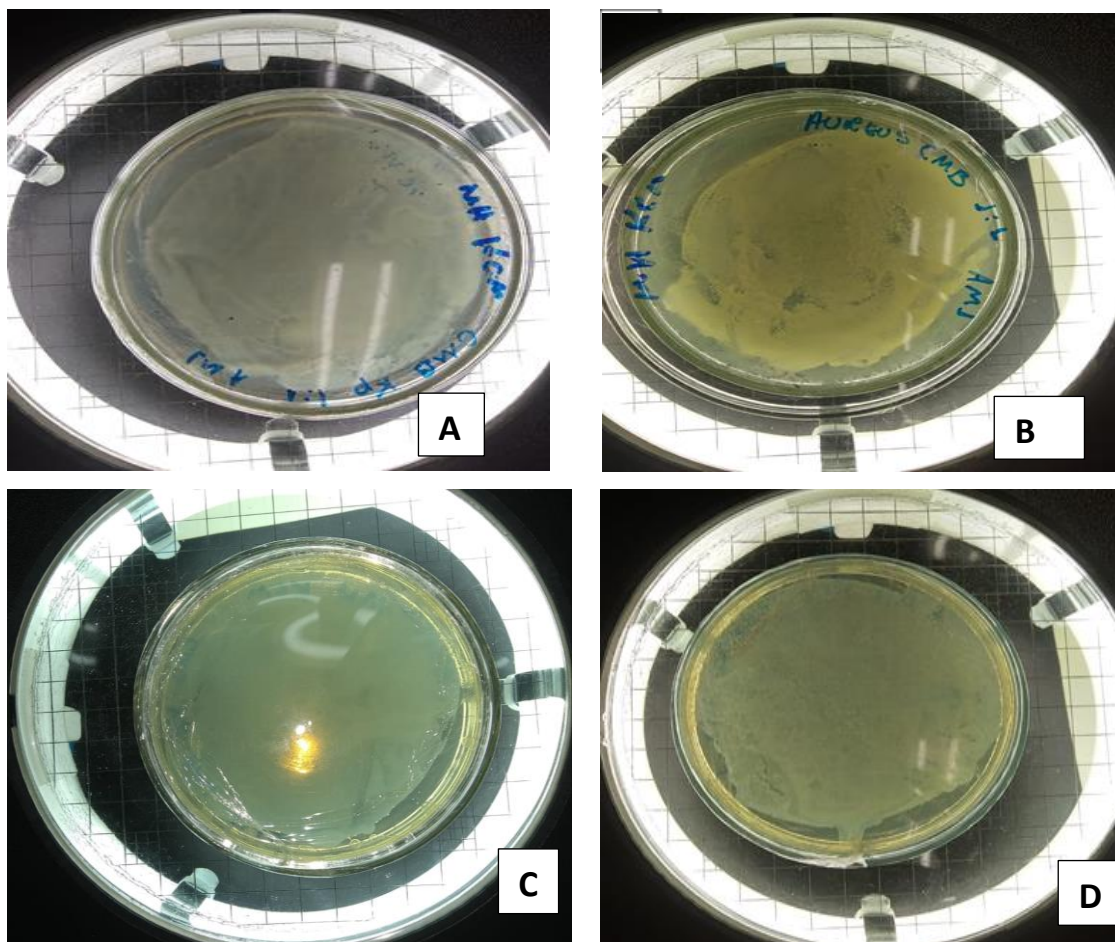
De forma complementar, estudos recentes indicam que a atividade antimicrobiana da kombucha pode variar de acordo com fatores como tempo de fermentação, composição do substrato e diversidade microbiana do SCOBY, o que influencia diretamente a produção de metabólitos bioativos e, conseqüentemente, sua eficácia contra diferentes microrganismos (Wang *et al.*, 2025).

Concentração Mínima Bactericida (CMB)

A partir dos resultados encontrados no teste de CMI, que a kombucha apresentou atividade antimicrobiana favorável somente para *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, portanto, foram utilizadas as menores concentrações do probiótico capaz de inibir o crescimento desses microrganismos ($60 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Conforme demonstrado na (Figura 02).

As figuras apresentadas demonstram que, durante os períodos de fermentação de sete e 14 dias da kombucha, não houve inibição do crescimento dos microrganismos estudados nas condições avaliadas, indicando que as concentrações testadas exerceram efeito bacteriostático, mas não bactericida.

Figura 02- Determinação da Concentração Mínima Bacterida da kombucha frente ao *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*.



A, B- 7 dias de fermentação da kombucha; C, D- 14 dias de fermentação da kombucha.

Fonte: Autoria própria, 2024.

A ação bacteriostática refere-se à capacidade de inibir o crescimento e a multiplicação bacteriana, sem promover a morte celular, enquanto a ação bactericida está associada à eliminação efetiva dos microrganismos. No contexto da kombucha, esse comportamento é coerente com a dinâmica do processo fermentativo, uma vez que a manutenção da viabilidade microbiana é essencial para a continuidade da atividade metabólica do consórcio simbiótico de bactérias e leveduras (SCOBY), responsável pela produção de metabólitos bioativos característicos da bebida (Antolak *et al.*, 2021; Coelho *et al.*, 2022).

Estudo conduzido por Marsh *et al.* (2014), ao avaliar os efeitos de diferentes concentrações de ácido acético e ácido lático sobre bactérias ácido-láticas, demonstrou que tais compostos apresentam predominantemente ação bacteriostática em determinadas faixas de concentração, inibindo o crescimento microbiano sem causar morte celular. Esses achados são consistentes com os resultados observados no presente estudo.

Adicionalmente, investigações mais recentes indicam que a atividade antimicrobiana da kombucha está diretamente relacionada à concentração de ácidos orgânicos e outros metabólitos produzidos durante

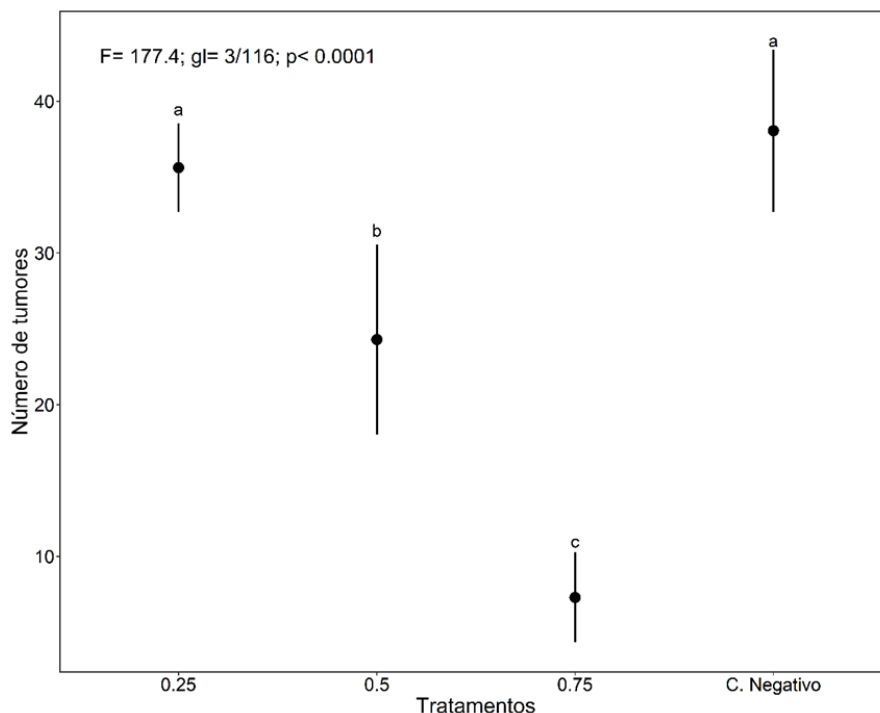
a fermentação, os quais, em níveis moderados, tendem a exercer efeito bacteriostático, enquanto concentrações mais elevadas podem resultar em ação bactericida (Bevilacqua *et al.*, 2023; Motafeghi *et al.*, 2023).

Dessa forma, os resultados obtidos sugerem que, nas condições experimentais avaliadas, a kombucha apresentou predominantemente ação bacteriostática, o que é compatível com a necessidade de manutenção da atividade microbiana durante a fermentação, permitindo que o processo ocorra de maneira contínua e equilibrada.

Bioensaio antitumoral em discos de batata

Os resultados obtidos no bioensaio da kombucha em discos de batata foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de fator único, comparando-se as médias entre o grupo controle negativo e as diferentes concentrações de kombucha quanto à inibição da formação de tumores, conforme apresentado na Figura 03.

Figura 03 – Resultados do teste de variância (Anova) do teste antitumoral em discos de batata.



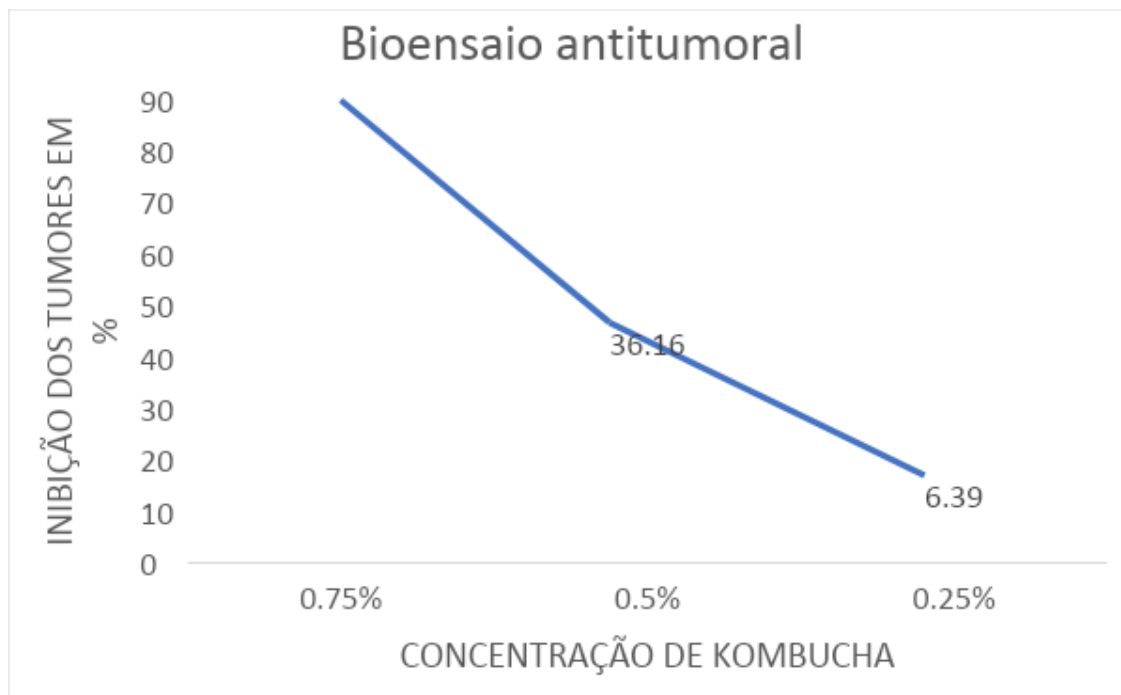
*Leia-se: F= quadrado médio do resíduo do tratamento; GL= grau de liberdade, P= nível de significância do teste.

Fonte: Próprios autores, 2024

Observa-se que os dados apresentaram distribuição homogênea e que houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos avaliados ($p < 0,0001$), indicando que as concentrações de kombucha testadas influenciaram significativamente o crescimento tumoral nos discos de batata. Esses resultados sugerem um potencial efeito antitumoral dependente da concentração, sendo recomendada a realização

de estudos adicionais com maior variação de concentrações e análises pós-hoc para melhor compreensão da resposta biológica (Figura 04).

Figura 04 – Resultados do bioensaio da kombucha em discos de batata.



Fonte: Próprios autores, 2024

Conforme demonstrado na Figura 4, foi possível observar atividade antitumoral da kombucha nos tratamentos avaliados. De acordo com Triguí *et al.* (2013), a atividade antitumoral é considerada significativa quando há redução igual ou superior a 20% na formação de tumores em comparação ao grupo controle. No presente estudo, esse critério foi atendido em determinadas concentrações, evidenciando o potencial biológico da bebida.

Como controle positivo, foi utilizada a camptotecina nas concentrações de 100, 10 e 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, sendo observado que, em todas as concentrações testadas, houve completa inibição da formação de tumores, validando a sensibilidade do ensaio experimental.

Uma possível explicação para os resultados observados está relacionada à presença de compostos bioativos com atividade antiproliferativa presentes na kombucha. Estudos demonstram que a bebida contém substâncias como dimetil 2-(2-hidroxi-2-metoxipropilideno), malonato e vitexina, as quais apresentam efeitos citotóxicos em diferentes linhagens celulares tumorais, incluindo carcinoma renal e osteossarcoma humano, além de reduzir a invasão e a motilidade celular em células de carcinoma pulmonar (Cetojevic-Simin *et al.*, 2008; Jayabalan *et al.*, 2010).

De modo geral, a literatura científica aponta que os possíveis mecanismos de ação antitumoral da kombucha envolvem a inibição da proliferação celular, indução de apoptose e modulação de vias relacionadas à progressão tumoral e metástase (Yoxall; Ioannides, 2004). Estudos mais recentes reforçam que esses efeitos estão associados à ação

sinérgica de compostos fenólicos e metabólitos derivados da fermentação, que atuam em diferentes alvos moleculares relacionados ao câncer (Motafeghi *et al.*, 2023; Antolak *et al.*, 2021).

Em estudo conduzido por SRIHARI *et al.* (2013), avaliando o efeito do extrato liofilizado de kombucha, foi observada redução significativa na viabilidade de células de câncer de próstata, associada à regulação negativa de fatores pró-angiogênicos, como metaloproteinasas de matriz, ciclooxigenase-2, interleucina-8, fator de crescimento endotelial vascular e fator induzido por hipóxia (HIF-1 α), evidenciando o potencial da kombucha na modulação de processos relacionados à progressão tumoral.

Diversos estudos têm investigado as propriedades anticâncer do chá preto e da kombucha produzida a partir desse substrato (SRIHARI *et al.*, 2013; JAYABALAN *et al.*, 2014; MENDONÇA *et al.*, 2020). Ao longo das últimas décadas, tem sido relatado o potencial antitumoral da kombucha, inicialmente baseado em observações empíricas e posteriormente sustentado por estudos experimentais, incluindo investigações conduzidas por instituições como a Academia Russa de Ciências (Dufresne; Farnworth, 2000). Atualmente, evidências científicas mais robustas vêm sendo produzidas, consolidando esse potencial biológico.

Dessa forma, o bioensaio antitumoral em discos de batata se apresenta como uma ferramenta útil para a triagem preliminar de compostos com potencial antitumoral, permitindo a avaliação de substâncias bioativas de origem natural ou sintética de maneira rápida, simples e com boa reprodutibilidade. Além disso, esse modelo experimental tem sido amplamente utilizado por sua confiabilidade na detecção de atividade antiproliferativa.

O ensaio baseia-se na indução de tumores por cepas de *Rhizobium radiobacter*, sendo possível avaliar a atividade antitumoral a partir da inibição da formação dessas estruturas. Após a inoculação da bactéria e aplicação dos tratamentos, a presença ou ausência de tumores permite inferir o potencial antitumoral das substâncias testadas (Coker *et al.*, 2003; Inayatullah *et al.*, 2007).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que os valores de pH e os teores alcoólicos da kombucha encontram-se dentro de faixas consideradas adequadas, embora se ressalte que tanto a acidez quanto o teor alcoólico podem representar riscos potenciais à saúde quando fora de controle.

Os testes de toxicidade indicaram que a kombucha apresentou perfil de segurança satisfatório nas condições avaliadas, porém fatores como a procedência do SCOBY e as condições de armazenamento devem ser cuidadosamente considerados. Observou-se ainda que, embora não tenha apresentado atividade biocida, a kombucha demonstrou ação bacteriostática frente às bactérias testadas, evidenciando seu potencial antimicrobiano parcial. No modelo experimental utilizado, verificou-se também efeito antitumoral significativo, com inibição da formação de

tumores em alta porcentagem, sugerindo a presença de compostos bioativos com atividade antiproliferativa.

Em conjunto, os resultados indicam que o consumo de kombucha pode apresentar potenciais benefícios à saúde, entretanto são necessárias investigações adicionais para garantir sua segurança em populações específicas, como gestantes e indivíduos imunocomprometidos, bem como para melhor compreensão de seus mecanismos de ação e padronização de sua produção, considerando seu baixo custo e facilidade de obtenção como aspectos favoráveis ao seu uso como bebida funcional.

REFERÊNCIAS

- ANSARI, M. A.; PEDERGNANA, V.; IP, C. L. C.; MAGRI, A.; VON DELFT, A.; BONSALE, D.; CHATURVEDI, N.; BARTHA, I.; SMITH, D. Genome-to-genome analysis highlights the effect of the human innate and adaptive immune systems on the hepatitis C virus. **Nature Genetics**, v. 49, n. 5, p. 666-673, 2017.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 18. ed. Gaithersburg: AOAC, 2012.
- AYED, L.; BEN ABID, S.; HAMDI, M. Development of a beverage from red grape juice fermented with the kombucha consortium. **Annals of Microbiology**, v. 67, p. 111-121, 2017.
- BHATTACHARYA, P.; FROST, T.; DESHPANDE, S.; BATEN, M. Z.; HAZARI, A. A.; BHATTACHARYA, B. et al. **Physical Review Letters**, v. 117, n. 2, p. 629-702 2016.
- BATTIKH, K.; CHAIEB, A.; BAKHROUF, A.; AMMAR, E. Antibacterial and antifungal activities of black and green kombucha teas. **Journal of Food Biochemistry**, v. 37, n. 2, p. 231-236, 2013.
- BEDANI, R.; ROSSI, E. A. Microbiota intestinal e probióticos: implicações sobre o câncer de cólon. **Jornal Português de Gastreenterologia**, v. 16, n. 1, p. 19-28, 2009.
- BEVILACQUA, A.; CAGGIANO, R.; CORBO, M. R.; SINIGAGLIA, M. Functional properties of kombucha: a review. **Journal of Food Science**, v. 88, n. 2, p. 345-358, 2023. DOI: 10.1111/1750-3841.16425.
- BRASIL. Decreto nº 8.851, de 20 de setembro de 2019. Dispõe sobre o padrão de identidade e qualidade da kombucha. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2019.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 64, de 14 de maio de 2018. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2018.

BRITO, A. B.; FERRAZ, R. R. N. Importância dos probióticos no equilíbrio da microbiota intestinal de recém-nascidos. **Revista Saúde em Foco**, n. 11, 2019.

BRUSCHI, M. L. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. São Paulo: Artmed, 2015.

CETOJEVIC-SIMIN, D. D.; BOGDANOVIC, G. M.; CVETKOVIC, D. D.; VELICANSKI, A. S. Antiproliferative and antimicrobial activity of kombucha. **Journal of BUON**, v. 13, n. 3, p. 395-401, 2008.

CHAN, J. F.; YUAN, S.; KOK, K. H.; TO, K. K.; CHU, H.; YANG, J.; XING, F.; LIU, J.; YIP, C. C.; POON, R. W. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 514-523, 2020. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30154-9.

CHEN, C.; LIU, B. Y. Changes in major components of tea fungus metabolites. **Journal of Applied Microbiology**, v. 89, n. 5, p. 834-839, 2000.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 33. ed. Wayne: CLSI, 2026.

COELHO, R. M. D.; ALMEIDA, A. P. S.; AMARAL, R. Q.; MOTA, J. F.; SOUSA, P. H. M. Antimicrobial potential of kombucha. **Food Research International**, v. 156, p. 111306, 2022. DOI: 10.1016/j.foodres.2022.111306.

COKER, A. L.; WATKINS, K. W.; SMITH, P. H.; BRANDT, H. M. Social support reduces the impact of partner violence on health: application of structural equation models. **Preventive Medicine**, v. 37, n. 3, p. 259-267, 2003.

COSTA, A. R.; SANTOS, J. P.; SILVA, M. F.; OLIVEIRA, C. B.; SOUZA, L. H. Bioactive compounds of kombucha. **LWT - Food Science and Technology**, v. 173, p. 114258, 2023. DOI: 10.1016/j.lwt.2022.114258.

DOLABELA, M. F.; OLIVEIRA, S. G.; NASCIMENTO, J. M.; PERES, J. M.; WAGNER, H.; PÓVOA, M. M.; OLIVEIRA, A. B. *In vitro* antiplasmodial activity of extract and constituents from *Esenbeckia febrifuga*, a plant traditionally used to treat malaria in the Brazilian Amazon. **Phytomedicine**, v. 15, p. 367-372, 2008.

DUFRESNE, C.; FARNWORTH, E. Tea, kombucha, and health: a review. **Food Research International**, v. 33, n. 6, p. 409-421, 2000.

FU, C.; YAN, F.; CAO, Z.; XIE, F.; LIN, J. Antioxidant activity of kombucha. **Food Science and Technology**, v. 34, n. 1, p. 123-126, 2014.

GOBBI, D.L.; THEIS, A. V. Determinação do teor alcoólico de bebidas destiladas por um destilador automático. **Anais... Associação Brasileira de Química**. Recife, out. 2012. Disponível em: Acesso em: 02 ago. 2025.

GOH, W. N.; ROSMA, A.; KAUR, B.; FAZILAH, A.; KARIM, A. A.; BHAT, R. Fermentation of black tea broth. **International Food Research Journal**, v. 19, n. 1, p. 109, 2012.

HOLETZ, F. B.; NAKAMURA, T. U.; DIAS FILHO, B. P.; GARCIA CORTEZ, D. A.; PALAZZO MELLO, J. C.; NAKAMURA, C. V. Efeito de extratos de plantas utilizadas na medicina popular no crescimento e diferenciação celular de *Herpetomonas samuelpessoai* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) cultivada em meio definido. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v. 24, p. 657-662, 2020.

HSIAO, H.; LIN, S.; CHEN, L.; CHEN, H. Antimicrobial activity with bacterial cellulose. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 5, p. 1184-1191, 2016.

HYACIENTH, B.; KOFFI, D.; KOUADIO, E.; N'GUESSAN, J. Evaluation of antimicrobial activity of fermented beverages. **African Journal of Microbiology Research**, v. 9, n. 12, p. 845-852, 2015.

IFTIKHAR, I. H.; ROLAND, J. Obesity Hypoventilation Syndrome. **Clinics in chest medicine**, v. 39, n. 2, p. 427-436, 2018.

IGLESIAS, A.; GONZÁLEZ, M.; LÓPEZ, J.; RODRÍGUEZ, C. Antibacterial effects of kombucha against pathogenic microorganisms. **Food Control**, v. 144, p. 109326, 2023. DOI: 10.1016/j.foodcont.2022.109326.

IONESCU, M.; POPA, D.; MARINESCU, A.; STAN, E. Advances in kombucha research: antimicrobial and toxicological aspects. **Microorganisms**, v. 14, n. 1, p. 45, 2026. DOI: 10.3390/microorganisms14010045.

INAYATULLAH, S.; IRUM, R.; ATEEQ-UR-REHMAN, M.; FAYYAZ C. B. M. Avaliação biológica de algumas espécies de plantas selecionadas do Paquistão. **Biologia Farmacêutica**, v. 45, n. 5, p. 397-403, 2007.

JAKUBCZYK, K.; KAŁDUŃSKA, J.; KOCHAN, P.; JANDA, K. Chemical profile and antioxidant activity of kombucha beverages. **Foods**, v. 9, n. 4, p. 447, 2020.

JANG, S. S.; MCINTYRE, L.; CHAN, M.; BROWN, P. N.; FINLEY, J.; CHEN, S. X. Ethanol concentration of kombucha. **Journal of Food Protection**, v. 84, n. 11, p. 1878-1883, 2021.

JAYABALAN, R.; MALINI, K.; SATHISHKUMAR, M.; SWAMINATHAN, K.; YUN, S. E. Biochemical characteristics of kombucha fermentation. **Food Science and Biotechnology**, v. 19, n. 3, p. 843-847, 2010.

JAYABALAN, R.; MALBAŠA, R. V.; LONČAR, E. S.; VITAS, J. S.; SATHISHKUMAR, M. Kombucha tea review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 4, p. 538–550, 2014.

MARTINS, M. L.; OLIVEIRA, D. L.; SILVA, R. F.; SOUZA, A. P. Avaliação microbiológica de bebidas fermentadas artesanais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 405–412, 2008.

MARSH, A. J.; O'SULLIVAN, O.; HILL, C.; ROSS, R. P.; COTTER, P. D. Microbial composition of kombucha. **Food Microbiology**, v. 38, p. 171–178, 2014.

MATOS, R. S. Avaliação microbiológica e físico-química da bebida kombucha. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

MENDONÇA, G. R.; PEREIRA, A. L. F.; FERREIRA, A. G. N.; SANTOS NETO, M.; DUTRA, R. P.; ABREU, V. K. G. Kombucha: revisão científica. **Revista Contexto e Saúde**, v. 20, n. 40, p. 244–251, 2020.

MEYER, T.; WOLFF, I.; HOFFMANN, G. Fermented foods and their antimicrobial properties. **International Journal of Food Microbiology**, v. 41, n. 2, p. 85–92, 1998.

MOTAFEGHI, F.; REZAEI, M.; HOSSEINI, S. M.; KARIMI, A. Kombucha antimicrobial properties. **Journal of Food Safety**, v. 43, n. 1, e13012, 2023.

NAM, Y.-D.; KIM, H.-J.; SEO, M.-J.; LEE, J.-H. Microbial diversity of kombucha. **Frontiers in Microbiology**, v. 16, p. 1187654, 2025.

PAULINE, T.; DIPTI, P.; ANJU, B.; KAVIMANI, S.; SHARMA, S. K.; KAIN, A. K.; SARADA, S. K.; SAIRAM, H.; ILAVAZHAGAN, L.; DEVENDRA, K.; SELVAMURTHY, W. Estudos sobre toxicidade, propriedades antiestresse e hepatoprotetoras do chá de kombucha. **Biomed Environ**, p. 14, p. 207–213, 2001.

PEREIRA, G. V. M.; MIGUEL, M. G.; RAMOS, C. L.; SCHWAN, R. F. Kombucha fermentation. **Food Microbiology**, v. 102, p. 103915, 2026.

PORTAL DO AGRONEGÓCIO. **Produção de Kombucha se multiplica no Brasil**. [S. l.], 30 out. 2018. Disponível em: <https://www.portaldoagronegocio.com.br/noticia/producao-de-kombucha-semultiplica-no-brasil-177446>. Acesso em: 14 nov. 2019.

QUIAO-WON, M. E.; TEVES, F. G. Characteristics of Kombucha Fermentation from Different Substrates and Cytotoxicity of Tea Broth. **Sustainable Food Production**, [S.L.], v. 4, p. 11–19, 2018.

SANTOS, G. R.; FERREIRA, I. C. F. R.; BARROS, L.; SOUZA, M. J. Atividade antioxidante e antimicrobiana de bebidas fermentadas. **Food Chemistry**, v. 310, p. 125864, 2020.

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

SRIHARI, T.; KARTHIKESAN, K.; ASHOKKUMAR, N.; SATYANARAYANA, U. Eficácia anti-hiperglicêmica da kombucha em ratos induzidos por estreptozotocina. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 4, p. 1794–1802, 2013.

SU, H.; LI, X.; ZHANG, Y.; CHEN, L. Fermented tea antimicrobial activity. **Food Bioscience**, v. 53, p. 102456, 2023.

TALEBI, M.; FRINK, L. A.; PATIL, R. A.; ARMSTRONG, D. W. Ethanol content in kombucha. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 12, p. 4062–4067, 2017.

TRIGUI, F.; PIGEON, P.; JALLELI, K.; TOP, S.; AIFA, S.; EL ARBI, M. Selection of a suitable disc bioassay for the screening of anti-tumor molecules. **International Journal of Biomedical Science**, v. 9, n. 4, p. 230 – 236, 2013.

VERNA, E. C.; LUCAK, S. Probiotics in gastrointestinal disorders. **Therapeutic Advances in Gastroenterology**, v. 3, n. 5, p. 307–319, 2010.

VIEIRA, E. P.; PINTO, O. G.; MORAIS, K.; SANTANA, E. S. ANÁLISE DA AÇÃO DA KOMBUCHA E SUAS PROPRIEDADES. **Enciclopédia Biosfera: Centro Científico conhecer**, [S.L.], v. 18, n. 38, p. 6, 30 dez. 2021.

VIJAYARAGHAVAN, R.; SINGH, M.; RAO, P. V.; BHATTACHARYA, R.; KUMAR, P.; SUGENDRAN, K.; KUMAR, O.; PANT, S. C.; SINGH, R. Toxicity studies of kombucha tea. **Biomed Environ Sci**, v. 13, n. 4, p. 293–299, 2000.

VILLARREAL-SOTO, S. A.; BOUAJILA, J.; PACE, M.; LEECH, J.; COTTER, P. D.; SOUCHARD, J. P.; TAILLANDIER, P.; BEAUFORT, S. Kombucha metabolome. **Food Microbiology**, v. 90, p. 103–108, 2020.

WANG, Y.; LI, Q.; ZHOU, X.; CHEN, R.; ZHANG, L. Biological activities and safety of kombucha: a comprehensive review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 143, p. 104289, 2025. DOI: 10.1016/j.tifs.2024.104289.

Contato dos autores/as:

Autora: Esther Pereira Vieira
e-mail: estherrvieira@hotmail.com

Autora: Kamila Cecílio de Moraes
e-mail: kamilac@hotmail.com

Autor: Osvaldo Gomes Pinto
e-mail: pintoog.bio@gmail.com

Autora: Luciana Damacena Silva
e-mail: luciana.silva@ueg.br

Autor: Plínio Lázaro Faleiro Naves
e-mail: plinionaves@ueg.br

Autora: Eliete Souza Santana
e-mail: eliete.santana@ueg.br

Manuscrito aprovado para publicação em: 17/04/2026.