



## PREPARAÇÃO, ANÁLISES BROMATOLÓGICAS E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DESMINERALIZANTE NA SUPERFÍCIE DENTAL DA KOMBUCHA

Adélia M. L. Silva<sup>1</sup>; Aparecido R. Souza<sup>2</sup>; Polyana M. Soares<sup>3</sup>; Heitor L. Ribeiro<sup>3</sup>; Letícia N. Almeida<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Escola de Formação de Professores e Humanidades (EFPH), Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás), Goiânia-GO, Brasil

<sup>2</sup> Instituto de Química (IQ), Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, Brasil

<sup>3</sup> Escola de Ciências Médicas e da Vida (ECMV), Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás), Goiânia-GO, Brasil

aparecido\_souza@ufg.br

**Palavras-Chave:** Bebidas, Probióticos; Fermentação

### Introdução

A kombucha é uma bebida fermentada probiótica, tradicionalmente preparada a partir do chá da planta *Camellia sinensis*, a mesma utilizada para a produção de chás verde, preto, branco e outros (Maia *et al.*, 2020). A fermentação ocorre quando uma colônia simbiótica de bactérias e leveduras (SCOBY) é adicionada ao chá adoçado, resultando em uma bebida efervescente com características sensoriais únicas, como sabor ácido e levemente adocicado (Villarreal-Soto *et al.*, 2018).

Ao longo dos últimos anos, a kombucha ganhou destaque mundial devido aos seus potenciais benefícios à saúde, como melhora da digestão, fortalecimento do sistema imunológico, redução de estresse e atividade antioxidante e antiinflamatória (Vazquez-Cabral *et al.*, 2017). Esses efeitos benéficos são atribuídos à presença de ácidos orgânicos, polifenóis e outros compostos bioativos derivados da planta e produzidos durante o processo de fermentação.

O chá da *Camellia sinensis* é amplamente reconhecido por seu conteúdo de catequinas, substâncias com propriedades antioxidantes que ajudam a combater o estresse oxidativo no corpo. Além disso, a combinação dos compostos presentes no chá com os metabólitos produzidos pelas bactérias e leveduras durante a fermentação do Kombucha resulta em uma bebida que pode ter efeitos significativos na saúde intestinal e até na redução da inflamação. No entanto, apesar dos benefícios amplamente reconhecidos, o consumo frequente de kombucha pode apresentar efeitos adversos à saúde dental, que merecem uma análise mais detalhada.

A kombucha, por sua natureza ácida, pode interferir na integridade do esmalte dental. Os ácidos orgânicos, como o ácido acético, ácido glucurônico e outros compostos voláteis formados durante a fermentação, podem contribuir para a desmineralização (Maia *et al.*, 2020; Kitwetcharoen *et al.*, 2023). A desmineralização ocorre quando os íons de cálcio e fosfato presentes no esmalte são removidos pela ação desses ácidos, aumentando o risco de erosão dental e, conseqüentemente, de cáries. Este efeito é particularmente relevante quando se

considera o consumo regular e prolongado de kombucha, que pode levar a um desequilíbrio no pH bucal e promover um ambiente favorável à perda mineral dos dentes.

A fim de compreender os impactos da Kombucha sobre a saúde dental, é fundamental realizar uma série de análises bromatológicas periódicas que caracterizem adequadamente a bebida. O pH da Kombucha, por exemplo, é um indicador importante do seu potencial de desmineralização, uma vez que bebidas ácidas podem alterar o equilíbrio ácido-base na cavidade bucal, favorecendo a dissolução de minerais dos dentes. Além disso, a acidez titulável total (ATT) é uma análise essencial para mensurar a quantidade total de acidez na bebida, fornecendo uma ideia mais precisa sobre o seu poder desmineralizante. O índice de sólidos solúveis (°Brix), por sua vez, ajuda a entender a concentração total de açúcares e outros compostos solúveis na bebida, o que está diretamente relacionado à sua doçura e ao seu potencial de impacto sobre a microbiota bucal.

Dessa forma, este estudo visou otimizar o método de preparação e analisar lotes da bebida fermentada Kombucha por meio de análises físico-químicas do pH, ATT e °Brix, e em seguida estudar seu potencial desmineralizante na superfície dental.

## Material e Métodos

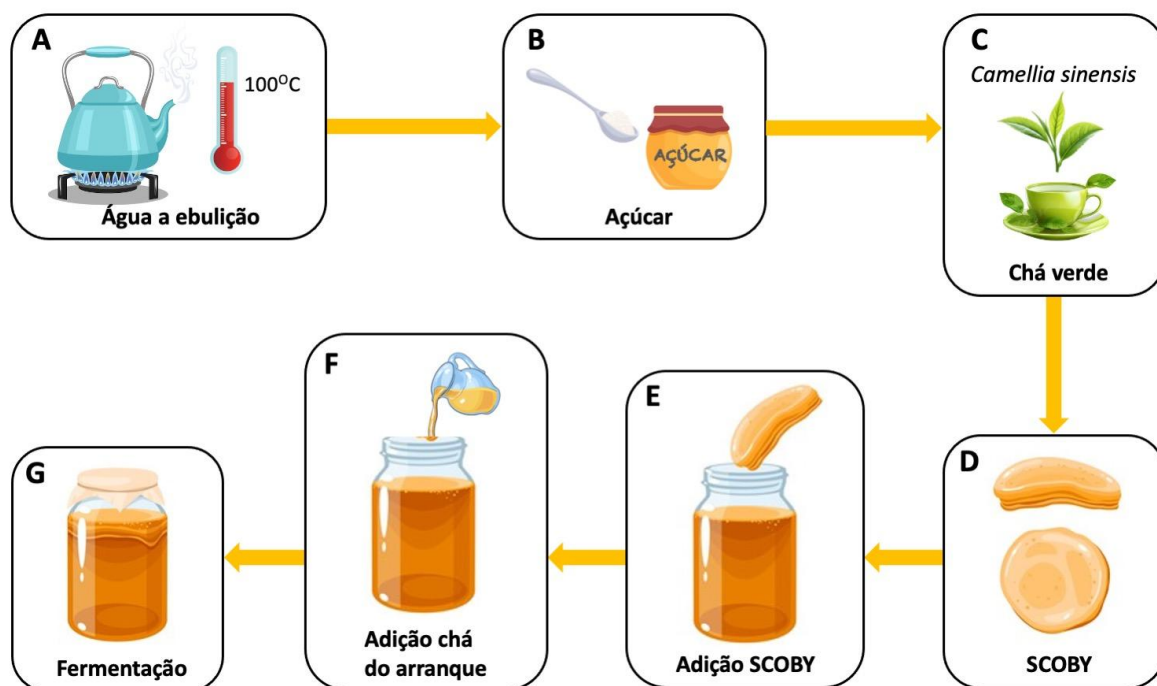
O SCOBY utilizado foi adquirido *on line* de uma produtora artesanal de São Paulo e transportado em temperatura ambiente. A preparação da kombucha seguiu o esquema apresentado na Figura 1. Inicialmente, aqueceu-se 1,5 L de água mineral e adicionados a 6,0 g de chá verde e 60,0 g de açúcar (dissolvidos em 1 L de água fervida). A infusão foi mantida por 10 a 15 min, filtrada em frascos de vidro (500 mL) previamente higienizados e resfriada até temperatura abaixo de 35 °C. Cada frasco recebeu 50 mL de chá de arranque e uma massa de SCOBY (12–15 g). Os frascos foram cobertos com pano de algodão preso com elástico, e mantidos em local arejado, protegido da luz, por 7 a 10 dias para fermentação (F1).

A segunda fase da fermentação (F2), a bebida foi filtrada para separar a colônia recém-formada, que foi armazenada em parte do fermentado para novos cultivos. O kombucha obtido foi acondicionado em frascos estéreis, tampados e mantidos à temperatura ambiente até as análises.

As análises físico-químicas realizadas foram: (A) pH, medido em triplicata com medidor Tecnal, previamente calibrado com soluções tampão pH 4,00 e 7,00, conforme recomendações do fabricante e metodologia do IAL (2008). (B) Acidez Titulável Total (ATT), determinada por titulação com solução de NaOH 0,1 mol/L padronizada, na presença do indicador fenolftaleína 1%, até viragem para rosa claro (pH ~ 8,2). Foram pipetados 5 mL da amostra, diluídos em 25 mL de água, e o procedimento realizado em triplicata (IAL, 2008). (C) Sólidos Solúveis Totais, quantificados em refratômetro manual (0–32 °Brix) à temperatura ambiente (IAL, 2008).

A rugosidade da superfície dental foi avaliada antes, durante e após o desafio ácido, utilizando rugosímetro TIME® (TR210, Digimess). As amostras foram fixadas em base de cera e analisadas por agulha diamantada, com resultados expressos em micrômetros (µm) para **Ra** (rugosidade média) e **Rt** (rugosidade total), seguindo parâmetros de range  $\pm 40$  µm e *cut off* 0,25

mm (ISO). A variação entre medições indicou aumento (valores positivos) ou redução (valores negativos) da rugosidade.



**Figura 1.** Esquema da preparação do Kombucha. A. Aquecimento da água mineral. B. Adição de açúcar e chá verde. C. Infusão da mistura. D. Pesagem do SCOBY. E. Adição do SCOBY no chá verde. F. Adição de chá de arranque. G. Frasco para primeira etapa da fermentação. Fonte: Aparecido Ribeiro de Souza, 2024.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética (Parecer nº 7.630.983; CAAE: 85867024.7.0000.0037) e utilizou 30 molares extraídos por indicação clínica, de pacientes entre 18 e 30 anos que assinaram o TCLE. Os dentes foram limpos com hipoclorito de sódio 2% e armazenados em timol 10% a temperatura constante. As raízes foram removidas e as coroas seccionadas em duas partes, obtendo-se 60 amostras de esmalte (vestibular e lingual). As amostras foram distribuídas aleatoriamente em seis grupos experimentais (n=10) e um controle, armazenadas em microtubos com água destilada e mantidas em estufa a ~36 °C.

## Resultados e Discussão

No preparo da kombucha, foram adotados cuidados de assepsia (vidrarias esterilizadas, higiene dos manipuladores e uso de luvas). O SCOBY foi adicionado apenas após o resfriamento da infusão (< 35 °C) para preservá-lo. Usou-se água mineral, evitando o cloro da água de torneira, que poderia inibir a atividade microbiana. Os frascos usados na fermentação não foram fechados hermeticamente, pois o SCOBY necessita de oxigênio para o processo. O cultivo foi mantido à temperatura ambiente e o líquido residual de cada lote foi reaproveitado como chá de arranque.

Os parâmetros físico-químicos avaliados, pH, ATT, °Brix e relação ATT/°Brix apresentaram variações ao longo da fermentação, refletindo a dinâmica metabólica do SCOBY. O pH situou-se geralmente entre 2,8 e 4,0, faixa compatível com a Instrução Normativa nº 41/2019, embora em alguns lotes tenha caído abaixo dessa faixa, indicando risco de excesso de acidez. A ATT aumentou de acordo com o tempo de fermentação, enquanto o °Brix permaneceu relativamente estável. A relação ATT/°Brix expressa o equilíbrio entre acidez e açúcares: valores  $<0,05$  indicam bebidas mais doces e menos ácidas, enquanto valores  $>0,05$  refletem maior acidez ou menor teor de açúcares. Esse parâmetro é útil para ajustar a formulação e alcançar o perfil sensorial desejado. De um modo geral, a relação mostrou que valores acima de 0,05 indicando predominância da acidez sobre o perfil de açúcar, parâmetro importante para o perfil sensorial da bebida.

Nos primeiros meses da pesquisa (2024/2, Tabela 1), foram preparados cerca de oito lotes para ajuste metodológico. Os primeiros lotes apresentaram acidez excessiva e contaminações, como no lote 3, cujo SCOBY foi comprometido. O lote 5 avaliou a viabilidade de reaproveitar um SCOBY lavado com vinagre, mostrando que a higienização nem sempre garante integridade microbiológica. A partir do lote 5, observou-se que 7 dias é o intervalo mínimo para atingir pH dentro do intervalo de 2,8 a 4,0, estabelecido pela Instrução Normativa nº 41, de 17 de setembro de 2019 (Brasil, 2019). É muito importante observar a existência de contaminação no SCOBY durante esse tempo.

**Tabela 1.** Resultados físico-químicos da bebida Kombucha em 2024/2

Lote	Tempo de fermentação (dias)	pH	ATT	°Brix	ATT/°Brix
1	7	$2,61 \pm 0,06$	$2,65 \pm 0,09$	$6,5 \pm 0,1$	0,41
	14	$2,30 \pm 0,03$	$10,41 \pm 0,01$	$7,0 \pm 0,0$	1,49
	19	$2,46 \pm 0,01$		$7,3 \pm 0,1$	
2	7	$2,84 \pm 0,01$	$5,44 \pm 0,02$	$6,0 \pm 0,1$	0,90
	12	$2,76 \pm 0,01$	$11,62 \pm 0,02$	$6,0 \pm 0,1$	1,94
3	4	$3,68 \pm 0,02$	$1,85 \pm$	$6,3 \pm 0,1$	0,29
	9	$3,37 \pm 0,00$	$3,29 \pm$	$6,0 \pm 0,0$	0,55
4	5	$3,08 \pm 0,01$	$2,95 \pm 0,01$	$6,2 \pm 0,0$	0,46
5	7	$3,46 \pm 0,00$	$4,20 \pm 0,01$	$6,0 \pm 0,0$	0,70
6	7	$3,18 \pm 0,00$	$5,30 \pm 0,01$	$5,8 \pm 0,0$	0,91
7	7	$3,33 \pm 0,01$	$6,10 \pm 0,00$	$6,0 \pm 0,0$	1,02
8	7	$3,70 \pm 0,01$	$6,80 \pm 0,01$	$6,8 \pm 0,0$	1,00

A partir do quinto lote, o pH variou entre 3,08 e 3,70. O pH não deve ser inferior a 3,0, a fim de evitar danos ao trato gastrointestinal, sendo que o valor ideal se situa entre 4,0 e 5,0, podendo variar conforme a temperatura e as condições de fermentação (Villarreal-Soto *et al.*, 2018). Com a metodologia padronizada, os resultados médios obtidos foram: pH de  $3,42 \pm 0,19$ ; acidez titulável total (ATT) de  $5,61 \pm 0,96$  g/L; grau Brix de  $6,15 \pm 0,38$ ; e relação ATT/grau Brix de  $0,91 \pm 0,13$ . Com base nesses parâmetros, novos lotes foram produzidos em 2025 para avaliar as características físico-químicas da bebida, considerando fermentações com e sem adição de sacarose após a segunda fermentação (F2), além de identificar o início da produção de gás.

A Tabela 2 apresenta os dados dos novos lotes preparados com a metodologia ajustada. O lote 1 apresentou contaminação do SCOBY devido à higienização e esterilização inadequadas, sendo descartado. Nos lotes 2 a 4, sem adição de sacarose, a qualidade do SCOBY e os resultados físico-químicos foram consistentes com os obtidos em 2024/2.

A partir do quinto lote analisou-se a influência da adição de sacarose. Os lotes 5 e 6, com e sem sacarose, mostraram resultados semelhantes e próximos aos anteriores. Nos lotes 7 e 8, preparados em abril de 2025, utilizou-se suqueira plástica de 2 L em vez de frascos. O objetivo era otimizar e ampliar a produção, mas ambos foram contaminados.

Devido aos resultados insatisfatórios com frascos de plástico, os lotes 9 e 10 foram preparados em suqueiras de vidro (1 L). O lote 9, analisado por 37 dias, apresentou resultados consistentes e produção de gás em kombuchas com e sem açúcar. O lote 10, com sacarose, atendeu aos parâmetros físico-químicos da IN nº 41 (2019) e produziu gás, embora em quantidade inferior à de kombuchas industriais e caseiras após 62 dias.

**Tabela 2.** Resultados físico-químicos da bebida Kombucha em 2025/1

Lote	Tempo de fermentação (dias)	pH	ATT	°Brix	ATT/°Brix
2	7	3,78±0,00			
	14	3,72±0,0096	5,24±0,107	7,2±0,00	0,72
	35	4,04±0,00	3,51±0,00	6,0±0,00	0,58
	49	3,33±0,01	7,82±0,107	6,73±0,115	1,17
3	7	3,65±0,005	5,42±0,107	7,33±0,115	0,74
	14	3,61±0,0153	5,79±0,107	7,0±0,00	0,83
	32	3,23±0,00	7,27±0,213	6,93±0,115	1,05
	42	3,64±0,00	7,7±0,107	7,2±0,00	1,07
4	7	3,58±0,00	6,26±0,046	5,07±0,115	1,23
	28	3,26±0,01	5,61±0,107	5,2±0,00	1,07
	34	3,67±0,00	6,04±0,107	5,0±0,00	1,21
	49	3,21±0,00			
5	7	3,41±0,005	5,79±0,107	6,07±0,115	0,95
	21	2,89±0,005	6,34±0,282	5,6±0,00	1,13
		2,89±0,00 <sup>a</sup>	6,04±0,107 <sup>a</sup>	6,8±0,00 <sup>a</sup>	0,88 <sup>a</sup>
	27	2,88±0,00	6,04±0,107	5,53±0,115	1,09
		2,88±0,005 <sup>a</sup>	6,34±0,107 <sup>a</sup>	6,27±0,115 <sup>a</sup>	1,01 <sup>a</sup>
6	6	3,02±0,005	6,65±0,00	5,0±0,00	1,33
	25	2,97±0,015	7,82±0,104	5,4±0,00	1,45
		2,93±0,005 <sup>a</sup>	7,88±0,104 <sup>a</sup>	6,4±0,00 <sup>a</sup>	1,23 <sup>a</sup>
9	7	3,12±0,017	4,74±0,104	6,0±0,00	0,79
	14	3,24±0,025	5,41±0,110	6,0±0,00	0,90
		3,30±0,00 <sup>a</sup>	5,17±0,00 <sup>a</sup>	6,8±0,00 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>
	37	3,50±0,005	7,14±0,104	5,4±0,00	1,32
		3,53±0,009 <sup>a</sup>	5,97±0,104 <sup>a</sup>	6,0±0,00 <sup>a</sup>	0,99 <sup>a</sup>
10	7	3,33±0,005	5,41±0,110	6,0±0,00	0,90
	30	3,55±0,005 <sup>a</sup>	7,02±0,00 <sup>a</sup>	6,0±0,00 <sup>a</sup>	1,17 <sup>a</sup>
	62	3,65±0,026 <sup>a</sup>	7,99±0,092 <sup>a</sup>	6,0±0,00 <sup>a</sup>	1,33 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> lote com adição de açúcar após 7 dias para segunda fermentação.

A influência da adição de sacarose, de modo geral, não houve diferenças significativas nos parâmetros físico-químicos iniciais entre as amostras com e sem sacarose (lotes 5 e 6 de 2025). No entanto, na segunda fermentação, a presença de sacarose mostrou-se relevante para a produção de gás e carbonatação da bebida, ainda que os níveis de CO<sub>2</sub> obtidos tenham sido inferiores aos observados em kombuchas comerciais e caseiras utilizadas como referência.

Os resultados mostraram-se compatíveis com os relatados na literatura (Greenwalt *et al.*, 2000; Jayabalan *et al.*, 2014). A partir do 30º dia da primeira fase de fermentação (F1), observou-se a produção de gás nas bebidas de kombucha, sendo o décimo lote, preparado com adição de 10% de sacarose, o de melhor desempenho, apresentando parâmetros físico-químicos em conformidade com a Instrução Normativa nº 41 e produção de gás durante as análises.

Em relação à avaliação prévia do potencial erosivo do kombucha (lote 10) sobre os dentes, observou-se pequena diferença estatística entre a rugosidade inicial e final. Os dados de rugosidade média (Ra) antes e após a imersão foram analisados pelo teste de Shapiro-Wilk, indicando que a rugosidade inicial (Ri) apresentou distribuição não normal. Dessa forma, utilizou-se o teste de Wilcoxon, que revelou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre a rugosidade inicial e final. Para a rugosidade final, o teste de Kruskal-Wallis apontou diferença global ( $p = 0,003$ ), porém o teste post-hoc (Dwass-Steel-Critchlow-Fligner) não identificou significância entre os grupos comparados.

Esses resultados indicam que, embora a pesquisa tenha produzido informações relevantes sobre a fermentação e o potencial erosivo do kombucha, há necessidade de continuidade nos estudos. Evidenciou-se a importância de um controle rigoroso das condições experimentais para garantir a produção segura e padronizada da bebida, evitando contaminações e garantindo a conformidade para análises. A padronização metodológica, a escolha adequada do envase e a definição do tempo de fermentação mostraram-se fatores determinantes para a qualidade físico-química e sensorial da bebida, além de fundamentais para minimizar riscos de contaminação e perdas de produção. Ademais, os resultados reforçam que, por se tratar de uma bebida ácida, o kombucha possui potencial erosivo para os dentes.

## Conclusões

A pesquisa permitiu otimizar a metodologia de preparo da kombucha, mostrando que o período mínimo de fermentação é de 7 dias para atingir condições adequadas de pH, embora seja essencial monitorar a contaminação do SCOBY. A padronização metodológica garantiu avaliar os parâmetros físico-químicos em conformidade com a normativa vigente. A adição de 10% de sacarose influenciou a produção de gás durante a segunda fermentação, destacando lotes de melhor desempenho. Os resultados confirmam a importância de controle rigoroso das condições experimentais, escolha adequada do envase e definição do tempo de fermentação para assegurar qualidade físico-química e sensorial, minimizar riscos de contaminação e perdas de produção. Além disso, reforçam que, por se tratar de uma bebida ácida, o kombucha apresenta potencial erosivo para os dentes, indicando a necessidade de estudos complementares.

## Agradecimentos

Os pesquisadores agradecem a PUC Goiás e a Universidade Federal de Goiás pelo apoio nos materiais de consumo para a realização das análises.





## Referências

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 41**, de 17 de setembro de 2019. Estabelece parâmetros para [descrever objeto da norma]. Diário Oficial da União: seção, página, data. Disponível em: <URL>. Acesso em: dd mmm. aaaa.

DUTTA, H.; PAUL, S. K. Kombucha drink: production, quality, and safety aspects. In: **Production and management of beverages**. p. 259-288, 2019.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Normas Analíticas**: métodos químicos para análise de alimentos, 2008, 1020p.

JAYABALAN, R.; MALBAŠA, R. V.; LONČAR, E. S.; VITAS, J. S.; SATHISHKUMAR, M. A review on kombucha tea—microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 4, p. 538-550, 2014.

KITWETCHAROEN, H.; PHUNG, L. T.; KLANRIT, P.; THANONKEO, S.; TIPPAYAWAT, P.; YAMADA, M.; THANONKEO, P. Kombucha Healthy Drink—Recent Advances in Production, Chemical Composition and Health Benefits. **Fermentation**, v. 48, n. 9, p. 1-19, 2023.

MAIA, Y. L. M.; CORREIA, M. L. S.; DA SILVA NETO, J. V. Kombucha: características e aspectos biológicos. **RRS-FESGO**, v. 3, n. 1, p. 114-123, jan.-jul., 2020.

MALBAŠA, R.; LONČAR, E.; DJURIĆ, M.; DOŠENOVIĆ, I. Effect of sucrose concentration on the products of Kombucha fermentation on molasses. **Food Chemistry**, v. 108, n. 3, p. 926-932, 2008.

VAZQUEZ-CABRAL, B. D.; LARROSA-PEREZ, M.; GALLEGOS-INFANTE, J. A.; MORENO-JIMENEZ, M. R.; GONZALEZ-LAREDO, R. F.; RUTIAGA-QUINONES, J. G.; GAMBOA-GOMEZ, C. I.; ROCHA-GUZMAN, N. E. Oak kombucha protects against oxidative stress and inflammatory processes. **Chemico-biological Interactions**, v. 272, p. 1-9, jun., 2017.

VILLARREAL-SOTO, S. A.; BEAUFORT, S.; BOUJILA, J.; SOUCHARD, J. D.; TAILLANDER, P. Understanding Kombucha Tea Fermentation: a review. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 3, p. 580-588, mar., 2018.