

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA VEGETAL

CAROLINA PAULA GOUVÊA DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DAS BEBIDAS DE KOMBUCHA COMERCIAIS
DURANTE ARMAZENAMENTO E REUTILIZAÇÃO DA SCOPY COMO
EMBALAGEM BIODEGRADÁVEL**

VILA VELHA-ES
2025

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA VEGETAL

**AVALIAÇÃO DAS BEBIDAS DE KOMBUCHA COMERCIAIS
DURANTE ARMAZENAMENTO E REUTILIZAÇÃO DA SCOPY COMO
EMBALAGEM BIODEGRADÁVEL**

Tese apresentada à Universidade Vila Velha,
como pré-requisito do Programa de Pós-
graduação em Biotecnologia Vegetal, para
obtenção do grau de Doutora em Biotecnologia
Vegetal.

CAROLINA PAULA GOUVÊA DE SOUZA

VILA VELHA-ES

2025

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UUV-ES

S729a Souza, Carolina Paula Gouvea
Avaliação das bebidas de kombucha comerciais durante armazenamento e reutilização da scoby como embalagem biodegradável / Carolina Paula Gouvea – 2025.
71 f. : il.

Orientadora: Christiane Mileib Vasconcelos.
Tese (Doutorado em Biotecnologia vegetal) – Universidade Vila Velha 2025.
Inclui bibliografias.

1. Biotecnologia vegetal. 2. Biodegradação. 3. Planta – cultivo.
I. Vasconcelos, Christiane Mileib. II. Universidade Vila Velha.
III. Título.

CDD 660.603


CAROLINA PAULA GOUVÊA DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DAS BEBIDAS DE KOMBUCHA COMERCIAIS
DURANTE ARMAZENAMENTO E REUTILIZAÇÃO DA SCOBY COMO
EMBALAGEM BIODEGRADÁVEL**


Tese apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal, para obtenção do grau de Doutora em Biotecnologia Vegetal.

Aprovada em 27 de janeiro de 2025,


BANCA EXAMINADORA:

Documento assinado digitalmente
 **ALESSANDRO COUTINHO RAMOS**
Data: 07/03/2025 16:23:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Alessandro Coutinho Ramos
Universidade Vila Velha - UVV

Documento assinado digitalmente
 **JACKLINE FREITAS BRILHANTE DE SAO JOSE**
Data: 06/03/2025 14:40:58-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jackline Freitas Brilhante de São José
Universidade Federal do Espírito Santo- UFES

Documento assinado digitalmente
 **LUCIANA RODRIGUES DA CUNHA**
Data: 07/03/2025 14:37:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Luciana Rodrigues da Cunha
Universidade Federal de Ouro Preto - UFOP

Documento assinado digitalmente
 **ALINE CHAVES INTORNE**
Data: 27/02/2025 16:40:58-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Aline Chaves Intorne
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF

Dedico À minha família, minha base e fonte inesgotável de amor e inspiração: à minha mãe, Roselene, ao meu pai, Luís Carlos (in memoriam) e ao meu irmão. Ao meu noivo, Wenderson, pelo amor, paciência, a minha orientadora, Christiane Mileib, pela orientação impecável e pelo incentivo inabalável e aos pesquisadores do LABIA, pelo apoio ao longo desta caminhada.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

(Arthur Schopenhauer)

RESUMO

SOUZA, Carolina Paula Gouvea. D.Sc., Univeridade Vila Velha. Janeiro de 2025; **Avaliação das bebidas de kombucha comerciais durante armazenamento e reutilização da SCOBY como embalagem biodegradável.** Orientadora: Prof^a Dr^a Christiane Mileib Vasconcelos.

A Kombucha é uma bebida funcional cuja demanda tem aumentado devido às suas propriedades benéficas. Produzida a partir da utilização da SCOBY (“Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast”), essa bebida precisa atender a parâmetros de qualidade estabelecidos em legislação, especialmente em relação ao seu tempo de armazenamento. Além disso, considerando a crescente produção e consumo da kombucha, é válido considerar que o descarte inadequado da SCOBY pode levar a consequências como a emissão de metano, um gás de efeito estufa que contribui para as mudanças climáticas. Considerando esse contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar (i) avaliar bebidas de kombucha disponíveis no mercado da região metropolitana da grande Vitória, Espírito Santo, quanto ao cumprimento dos padrões regulamentados pela legislação vigente e características físico-químicas, microbiológicas e de compostos com potencial bioativo durante sua validade; (ii) e utilizar SCOBY descartada após produção da bebida kombucha no desenvolvimento de embalagem biodegradável para plantio de mudas. A tese está dividida em dois capítulos, no primeiro capítulo, analisou-se a influência do armazenamento na qualidade e estabilidade de kombuchas comerciais de diferentes sabores e tipos de embalagem (lata, plástico e vidro). Em relação a avaliação das kombuchas comerciais, foram avaliados parâmetros microbiológicos, teor alcoólico, características físico-químicas (pH, acidez total, açúcar total, sólidos solúveis, coordenadas de cor e turbidez), além do teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante (ABTS e DPPH), tanto no início da vida de prateleira (fresca) quanto no final (a vencer). Observou-se que, durante o armazenamento, parâmetros como cor e turbidez sofreram alterações, impactando a aparência da bebida. Além disso, houve uma redução nos compostos fenólicos e na atividade antioxidante, diminuindo os benefícios funcionais

da kombucha. No que diz respeito ao desenvolvimento de embalagem, no segundo capítulo foram elaboradas tubetes produzidos a partir da SCOBY para plantio de mudas de mamão. Foram testadas diferentes formulações, com e sem agente plastificante, e concentrações variadas de polímero no desenvolvimento da embalagem. Avaliaram-se as propriedades mecânicas (perfuração e tração), a biodegradabilidade e o desenvolvimento das plantas durante o transplante, com e sem a embalagem. Os resultados indicaram que a embalagem SKZ de 10 cm apresentou resultados promissores, promovendo maior acúmulo de peso seco nas plantas e melhor eficiência na alocação de recursos metabólicos e estruturais. A embalagem também demonstrou rápida degradação no solo, com 65,5% de perda de peso em 7 dias. Contudo, limitações como a alta absorção de umidade pela embalagem destacam a necessidade de ajustes na irrigação das plantas. Resumidamente, esta pesquisa contribui para a compreensão da qualidade e estabilidade de kombuchas comerciais durante o armazenamento, além de propor uma solução sustentável para o reaproveitamento da SCOBY, com potencial aplicação em embalagens biodegradáveis para a agricultura.

Palavras chaves: bebida fermentada, cultura simbiótica, qualidade, reaproveitamento de resíduo, tubetes.

ABSTRACT

SOUZA, Carolina Paula Gouvea. D.Sc., Universidade Vila Velha. January 2025. **Evaluation of commercial kombucha beverages during storage and reuse of SCOBY as biodegradable packaging.** Advisor: Prof^a Dr^a Christiane Mileib Vasconcelos.

Kombucha is a functional beverage whose demand has been increasing due to its beneficial properties. Produced using SCOBY (“Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast”), this beverage must meet quality parameters established by legislation, especially regarding its storage time. Furthermore, considering the growing production and consumption of kombucha, it is important to recognize that improper disposal of SCOBY can lead to consequences such as the emission of methane, a greenhouse gas that contributes to climate change. Considering this context, the objective of this study was to (i) evaluate kombucha beverages available in the market of Greater Vitória, Espírito Santo, regarding their compliance with current regulatory standards and their physicochemical, microbiological, and bioactive compound characteristics throughout their shelf life; and (ii) develop biodegradable packaging for papaya seedling planting using discarded SCOBY from kombucha production. The thesis is divided into two chapters. In the first chapter, the influence of storage on the quality and stability of commercial kombuchas of different flavors and packaging types (can, plastic, and glass) was analyzed. Microbiological parameters, alcohol content, physicochemical characteristics (pH, total acidity, total sugars, soluble solids, color coordinates, and turbidity), as well as phenolic compound content and antioxidant activity (ABTS and DPPH), were evaluated at the beginning (fresh) and end (near expiration) of their shelf life. The results showed that during storage, parameters such as color and turbidity underwent changes, affecting the beverage's appearance. Additionally, there was a significant reduction in phenolic compounds and antioxidant activity, decreasing kombucha's functional benefits. The second chapter addresses the development of seedling pots for papaya planting made from SCOBY. Different formulations were tested, with and without a plasticizing agent, and varying polymer concentrations in the packaging development. Mechanical properties, biodegradability, and plant growth during

transplantation, with and without the packaging, were assessed. The results indicated that the 10 cm SKZ packaging showed promising outcomes, promoting greater dry weight accumulation in plants and better efficiency in the allocation of metabolic and structural resources. The packaging also demonstrated rapid soil degradation, with a 65.5% weight loss in 7 days. However, limitations such as high moisture absorption by the packaging highlighted the need for adjustments in plant irrigation. In summary, this research contributes to the understanding of the quality and stability of commercial kombuchas during storage while proposing a sustainable solution for SCOBY reuse, with potential applications in biodegradable agricultural packaging.

Keywords: fermented beverage, symbiotic culture, quality, waste reuse, seedling pots.

SÚMARIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 Características nutricionais e bioativas da bebida Kombucha	15
2.2 Consumo e segurança alimentar da bebida kombucha	17
2.3 SCOBY de Kombucha	19
2.4 Embalagem Biodegradável	20
3. OBJETIVOS	21
3.1 Objetivo geral	21
3.2 Objetivos específicos	22
4. REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO 1- INFLUÊNCIA DO ARMAZENAMENTO NA QUALIDADE E ESTABILIDADE DE DIFERENTES KOMBUCHAS COMERCIAIS	28
Resumo:	29
Abstract:	29
Introdução	30
Material e Métodos	32
Material	32
Análises microbiológicas	33
Determinação do pH	34
Determinação da Acidez Total Titulável (ATT)	34
Determinação do teor de sólidos solúveis (SST)	34
Determinação do teor de sólidos solúveis (SST)	34
Determinação de turbidez	34
Determinação do teor alcoólico	35
Determinação da cor instrumental	35
Determinação dos Compostos Fenólicos Totais	35
Determinação da capacidade antioxidante	35
Análise estatística	36
Resultados e Discussão	36
Análises microbiológicas das bebidas kombucha	36
Análises físico-químicas	39

Compostos Fenólicos, Atividade Antioxidante e Coordenadas de cor das bebidas kombucha.....	41
Conclusão	45
Referências	46
CAPÍTULO 2 - UTILIZAÇÃO DA SCOBY DE KOMBUCHA NO DESENVOLVIMENTO DE EMBALAGEM BIODEGRADÁVEL PARA PLANTIO DE MUDAS	51
1. Introdução	53
2. Material e Métodos	55
2.1 Material	55
2.2 Métodos	55
2.2.1 Delineamento experimental.....	55
2.2.2 Definição da matriz polimérica.....	55
2.2.3 Propriedades Mecânicas	56
2.2.3.1 Teste de Tração.....	56
2.2.3.2 Teste de Perfuração	57
2.2.4 Produção dos tubetes.....	57
2.2.5 Plantio vegetal.....	58
2.2.6 Transplante das mudas	59
2.2.7 Análises dos parâmetros de crescimento vegetal.....	59
2.2.8 Análise de biodegradabilidade dos tubetes de SCOBY.....	60
2.2.9 Análise estatística.....	61
3. Resultados e Discussão	61
3.1 Caracterização das embalagens de SCOBY.....	61
3.2 Análises dos parâmetros de crescimento vegetal.....	64
3.3 Biodegradabilidade dos tubetes de SCOBY	66
4. Conclusão	67
5. Referências	68

1. INTRODUÇÃO

As origens da kombucha não são completamente compreendidas, mas evidências sugerem que a bebida teve início na China, disseminada no Japão e chegou à Rússia e Europa Oriental por meio de rotas comerciais (Jayabalan et al., 2014; Dufresne e Farnworth, 2000). A popularidade global da kombucha foi impulsionada durante a Segunda Guerra Mundial e, mais recentemente, seu consumo se expandiu para países como Reino Unido, Estados Unidos, Canadá e Brasil (Laavanya et al., 2021; Kapp et al., 2019)

A kombucha é obtida pela fermentação de chá produzida a partir de *Camellia sinensis*, uma planta perene da família *Theaceae*, que possui seis variedades principais: preto, escuro (incluindo Pu-erh), verde, branco, amarelo e oolong. O sabor característico do chá é resultado dos diferentes graus de oxidação das folhas (Sharma et al., 2007). Para o processo fermentativo, além do chá, são necessários açúcar e uma cultura simbiótica, conhecida como SCOBY (*Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras*). Recentemente, tem-se utilizado a adição de frutas, que podem enriquecer a bebida com compostos bioativos, antioxidantes e agregar valor (Koirala e Anal, 2021). O produto final é uma bebida funcional, levemente ácida e gaseificada, com baixo ou nenhum teor alcoólico, cuja fermentação ocorre entre 7 e 21 dias (Chakravorty et al., 2016).

No Brasil, a kombucha conquistou popularidade tornando-se a primeira bebida do gênero a ter uma regulamentação específica no país. A Instrução Normativa nº 41, de 17 de setembro de 2019, define padrões de identidade e qualidade em nível nacional, garantindo a segurança na produção e vendas. A normativa estabelece critérios como informações obrigatórias no rótulo, ingredientes permitidos, teor alcoólico máximo, parâmetros analíticos e denominações baseadas na composição final da bebida (Mapa, 2019).

A kombucha segura e devidamente regulamentada tem sido associada a diversos benefícios à saúde. Estudos sugerem que seu consumo regular pode melhorar a constipação, fortalecer o sistema imunológico, reduzir a pressão arterial e o colesterol, além de ter potencial para reduzir o risco de doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (Jayabalan et al., 2014; Chakravorty et al., 2016; Kapp et al., 2019). Esses

benefícios impulsionaram o crescimento do mercado de kombucha, que é um dos setores que mais crescem entre as bebidas funcionais (Dutta e Paul, 2019). No entanto, o aumento na produção da bebida resulta em uma quantidade significativa de resíduos, com destaque para o descarte do SCOBY, tradicionalmente tratado como resíduo orgânico. Esse descarte inadequado pode contribuir para o impacto ambiental (Aduri et al., 2019; Mousavi et al., 2019; Noshirvani et al., 2018).

Para minimizar esse impacto ambiental, estão sendo desenvolvidas alternativas para o reaproveitamento da SCOBY, como a produção de nanofibras para reforço de filmes e embalagens biodegradáveis. Essas embalagens, feitas de biopolímeros como amido, gelatina e celulose, já estão presentes no mercado e incluem materiais como filmes à base de celulose, embalagens semelhantes a folhas de cigarro e até alternativas de couro vegetal (Liu et al., 2020; Hopewell et al., 2009). Embora essas opções representem avanços significativos em substituições de plásticos derivados de petroquímicos, sua principal aplicação ainda se restringe ao descarte biodegradável, sem explorar o potencial de reaproveitamento funcional (Gao et al., 2021). Também, não foram encontrados, até o momento, o reaproveitamento da SCOBY para aplicações agrícolas.

Diante dos desafios ambientais causados pelo uso excessivo de plásticos sintéticos, os biopolímeros, têm se destacado como alternativas promissoras para promover práticas mais sustentáveis. Embalagens biodegradáveis não apenas contribuem para a redução do descarte de resíduos plásticos, mas também possibilitam o reaproveitamento de subprodutos industriais de forma inovadora. Ainda assim, persiste a necessidade de desenvolver soluções que combinem sustentabilidade e funcionalidade, atendendo aos princípios da economia circular e oferecendo alternativas mais eficientes para o setor agrícola, que enfrenta uma demanda crescente por práticas ambientalmente responsáveis (Silva e Mendes, 2020).

Nesse sentido, o presente estudo buscou avaliar bebidas de kombucha disponíveis na Região Metropolitana da Grande Vitória, Espírito Santo, quanto ao cumprimento dos padrões regulamentados pelo MAPA (2019) e características físico-químicas, microbiológicas e de compostos com potencial bioativo durante sua validade; e desenvolver uma embalagem biodegradável a partir da SCOBY descartada após produção da bebida kombucha com potencial para aplicação no plantio de mudas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Características nutricionais e bioativas da bebida Kombucha

Kombucha é uma bebida que pode apresentar em sua composição uma série de constituintes como: ácidos orgânicos, açúcares, vitaminas, aminoácidos, aminas biogênicas, purinas, pigmentos, lipídios, proteínas, algumas enzimas hidrolíticas, etanol, cafeína, dióxido de carbono, compostos fenólicos, ânions, minerais e metabólitos bacterianos. Os microrganismos presentes na kombucha, principalmente leveduras e bactérias ácido-acéticas, são essenciais para o desenvolvimento das características únicas dessa bebida fermentada. As leveduras, como espécies dos gêneros *Saccharomyces* e *Zygosaccharomyces*, convertem os açúcares em etanol e dióxido de carbono, enquanto as bactérias ácido-acéticas, como *Komagataeibacter xylinus*, oxidam o etanol em ácido acético, conferindo à kombucha seu gosto ácido característico. Além disso, esses microrganismos produzem compostos bioativos, como ácidos orgânicos, vitaminas do complexo B e polifenóis, que contribuem para as propriedades funcionais e antioxidantes da bebida (Plamada et al., 2024; Jayabalan et al., 2014).

A composição química da kombucha é amplamente influenciada pelo tipo de chá utilizado, como chá verde ou preto, que afeta diretamente a concentração de compostos bioativos na bebida (Crum et al., 2016). Adicionalmente, parâmetros como tempo e temperatura de fermentação, concentração de sacarose e a composição microbiana da SCOBY são determinantes para a formação dos constituintes químicos (Marsh et al., 2014; Leal et al., 2018).

A kombucha fermentada com chá verde ou preto contém altos níveis de vitamina C e algumas vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, piridoxina, biotina, ácido fólico e cianocobalamina). As vitaminas são componentes necessários para inúmeros processos bioquímicos e fisiológicos que ocorrem no corpo. Como as vitaminas não podem ser sintetizadas pelo corpo humano, devem ser obtidas a partir da dieta para obter níveis saudáveis (Chambial et al., 2013; Jayabalan et al., 2014, Jakubczyk et al., 2020).

Além de vitaminas, são encontrados também alguns minerais essenciais, como potássio (K^+), cobalto (Co^{2+}), manganês (Mn^{4+}), cobre (Cu^{2+}), ferro (Fe^{2+}), magnésio (Mg^{2+}) e íons fluoreto (F^-). Os minerais são substâncias inorgânicas que

desempenham um papel importante na saúde. Pequenas quantidades são requeridas pelo corpo para função normal, crescimento e manutenção (Laavanya et al., 2021, Jakubczyk et al., 2020).

No fermentado além de micronutrientes é possível encontrar compostos fenólicos, que são substâncias bioativas que contêm mais de uma estrutura fenólica por molécula. Os compostos fenólicos representam o maior grupo de fitoquímicos e são os antioxidantes mais abundantes na dieta. Tanto no chá verde quanto no chá preto, solúveis em água, eles são responsáveis por compor o aroma e o sabor do chá, podendo representar até 30% do peso seco das folhas de chá (Blasco et al., 2021, Jakubczyk et al., 2020).

As catequinas, muitas vezes referidas como flavonóides, são um tipo de composto bioativo que é uma subclasse de flavonóides. Esses compostos também são metabólitos secundários encontrados no chá (Sharma et al., 2007; Khan et al., 2019; Villarreal-Soto et al., 2020). As principais catequinas são: α -epigallocatequina-3-galato (EGCG), α -epigallocatequina (EGC), α -epicatequina-3-galato (ECG), α -epicatequina (EC), α -epicatequina-3-galato (ECG), α -galocatequina e β -catequina (Sharma et al., 2007).

A concentração de catequinas pode variar de acordo com o tipo e o estilo do chá. Os níveis de catequina no chá verde são relativamente estáveis, porque ao contrário do chá preto, o chá verde não sofre nenhum tipo de processo oxidativo durante a fabricação. Devido à maior concentração de catequinas no chá verde, seu perfil de sabor característico é frequentemente descrito como amargo e adstringente. Já as catequinas do chá preto são oxidadas para formar teaflavinas e thearubigins, o que faz com que os níveis de catequinas reduzam 85% quando comparados ao chá verde, com isso, o chá preto é mais escuro e menos amargo (Khan et al., 2019).

Além dos compostos fenólicos, ácidos orgânicos são resultados do processo de fermentação, como o ácido acético, glucônico, glucurônico, cítrico, L-láctico, málico, tartárico, malônico, oxálico, succínico, pirúvico e úsnico. A composição e a concentração de metabólitos na kombucha podem variar devido à cultura inicial usada, concentração de açúcar, chá e tempo de fermentação (Nguyen et al., 2015; Watawana et al., 2015; Jayabalan et al., 2007).

Outro composto presente na bebida é a cafeína, um alcaloide xantina de ocorrência natural encontrado em várias plantas, como café, chá e cacau. A cafeína

teobromina e a teofilina, são componentes bem conhecidos do chá (Villarreal-Soto et al., 2020). Quando se trata da kombucha, a cafeína desempenha um papel importante durante o processo de fermentação, fornecendo às leveduras e bactérias o nitrogênio necessário para os processos metabólicos e construção de novas células, além de fornecer energia para que as leveduras e bactérias realizem o processo de fermentação (Mensi et al., 2021).

Também existem vários aminoácidos já identificados no chá, como ácido aspártico, treonina, ácido glutâmico, glicina, a-alanina, valina, metionina, isoleucina, leucina, tirosina, fenilalanina, lisina, histidina, arginina, glutamina, asparagina, triptofano e teanina. A teanina é o aminoácido mais abundante encontrado, representando 50% do total de aminoácidos e 1% do peso seco do chá (Emiljanowicz et al., 2020).

2.2 Consumo e segurança da bebida kombucha

O mercado da kombucha vem crescendo e se tornando conhecido mundialmente, devido ao aumento de interesse das pessoas por saúde e estética corporal. Com o objetivo de minimizar as alterações fisiológicas associadas ao envelhecimento e promover um envelhecimento saudável, a busca por produtos naturais e funcionais tem apresentado um crescimento ao longo dos anos (Koirala & Anal; 2021, Addanki et al., 2021; Chopra et al., 2022).

Da mesma forma, ocorre o interesse pelas pequenas empresas, que ganharam destaque nesse ramo. Estima-se que existam aproximadamente 235 empresas de kombucha distribuídas pela Europa, América do Norte e Ásia. A projeção é de que o mercado alcance um valor entre US\$ 3,5 e 5 bilhões até o ano de 2025 (Kim e Adhikari, 2020). Esse crescimento reflete o aumento do consumo da bebida, embora algumas questões possam gerar desconfiança nos consumidores. A falta de informações claras sobre o produto, sua qualidade e segurança pode influenciar negativamente a decisão de compra e consumo, evidenciando a necessidade de maior esclarecimento nessa área (Laavanya et al., 2021).

Como kombucha é uma bebida que contém microrganismos com potencial probiótico, alguns cuidados são necessários durante o processo de produção e conservação para garantir a qualidade do produto e os benefícios esperados. Há relatos na literatura de alguns problemas de saúde, como intoxicação por cobre, no

entanto, eles estavam associados à metodologia de processamento utilizada para produzir a bebida (Vargas et al.,2021; Emiljanowicz, et al.,2020).

A produção caseira é frequentemente associada com a falta de condições higiênicas na produção, bem como o uso de recipientes impróprios, propiciando a contaminação por microrganismos patogênicos, (Kim e Adhikari; 2020, Villarreal-Soto et al.; 2018). Além disso, foram relatados casos de toxicidade gastrointestinal e envenenamento por chumbo relacionados a contaminantes que vieram do pigmento do esmalte no recipiente de produção/fermentação da kombucha (Martínez Leal et al., 2018).

O processo produtivo é crítico, pois envolve diversos fatores que podem comprometer a qualidade do produto final. Assim, são necessários requisitos de segurança para controlar a produção e garantir ao consumidor que o produto é, de fato, seguro para consumo humano (Chopra et al.,2022; Kim e Adhikari; 2020). Outro exemplo é que o consumo excessivo por adultos pode ser prejudicial. De acordo com os estudos e o Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), o consumo moderado de kombucha, geralmente entre 100 e 240 mL por dia, está associada a efeitos positivos sem riscos à saúde. No entanto, o consumo excessivo (> 340 gramas diários) pode ser arriscado, e casos de acidose metabólica já foram relatados (Alves, 2024; Huang, 2024; Martínez Leal et al., 2018).

Durante o armazenamento, a kombucha pode sofrer transformações químicas e microbiológicas que impactam tanto nas propriedades nutricionais quanto sensoriais. Perdas de compostos bioativos, como ácidos orgânicos, polifenóis e vitaminas, podem ocorrer devido à degradação oxidativa e à atividade contínua dos microrganismos presentes na bebida (Jakubczyk et al., 2020). Essas alterações podem reduzir os benefícios funcionais da kombucha, afetando, por exemplo, sua capacidade antioxidante, além de diminuir o teor de vitaminas. Sensorialmente, essas transformações podem resultar em alterações no sabor com aumento da acidez, perda de frescor, aparência e aroma, tornando o produto menos atrativo para o consumidor (Jayabalan et al., 2014; Marsh et al., 2014).

Portanto, é fundamental conhecer as qualidades indicadas para consumo para evitar possíveis reações adversas e também garantir que o produto mantenha sua qualidade durante o prazo de validade. Nesse sentido, uma kombucha proveniente de

uma produção controlada, regulamentada e liberada pelo MAPA (2019), é considerada uma bebida segura para o consumo.

2.3 SCOBY de Kombucha

Durante o processo fermentativo da bebida kombucha se forma uma película de celulose bacteriana (CB) na superfície do líquido denominada SCOBY (Chen e Liu, 2000). A composição da SCOBY inclui uma variedade de bactérias e leveduras como bactérias ácido-acéticas (*Acetobacter xylinum* e *Gluconobacter oxydans*), bactérias ácido-lácticas (*Levilactobacillus brevis*, e *Lactiplantibacillus plantarum*), bactérias de ácido glucônico (*Gluconobacter kombuchae*) e leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) (Villarreal-Soto et al., 2018; Marsh et.a.2014).

Durante a fermentação da SCOBY, ocorre a produção de ácido acético, ácido glucurônico e outras substâncias antimicrobianas que podem ajudar a inibir o crescimento de microrganismos indesejados. Entretanto, após o processo de fermentação, o restante da SCOBY é, muitas vezes, descartado após algumas reutilizações, sendo considerado um resíduo da indústria produtora de kombucha (Li et. al., 2018).

A celulose é considerada o material orgânico mais abundante na natureza, e pode ser de origem vegetal, bacteriana ou animal, não diferindo em sua estrutura molecular e química. A celulose vegetal é a mais utilizada pela sua maior disponibilidade e consequente facilidade de obtenção, porém, exige etapas intensas de purificação para sua utilização (Gama et.al., 2017; Liu et al., 2018).

No contexto da produção de kombucha, o descarte do SCOBY, cujo principal constituinte é a celulose, pode gerar problemas ambientais, como a contaminação do solo e recursos hídricos. Além disso, há implicações econômicas pelo descarte de subprodutos que poderiam ser reaproveitados em processos industriais. O manejo inadequado contribui para o aumento de resíduos sólidos, sobrecarregando os sistemas de gestão de lixo e agravando o impacto ambiental (Rodriguez et al., 2023; Fernandes et al., 2021; Goh et al., 2022).

A utilização do SCOBY na produção de produtos biodegradáveis ainda é uma linha de pesquisa recente, com potencial de desenvolvimento e aplicações diversas. Patentes recentes têm explorado as propriedades desse material derivado da fermentação da kombucha: Moshasha (2021) desenvolveu papéis para enrolar

cigarros utilizando biofilmes de kombucha, destacando o uso de derivados de celulose bacteriana; já Schiros (2021) propôs a produção de biomateriais a partir de nanocelulose bacteriana de SCOBY, aprimorada por meio de tratamentos de curtimento enzimático, além de sugerir fibras têxteis biodegradáveis com coloração. Esses exemplos evidenciam o amplo potencial do SCOBY em diferentes setores industriais, reforçando sua relevância como um material sustentável e versátil.

As embalagens biodegradáveis podem ser produzidas a partir de materiais de baixo custo e facilmente disponíveis, como amido, proteínas, celulose, entre outros. Isso torna a embalagem uma alternativa mais econômica em comparação com outros tipos de embalagens, como plásticos convencionais, além de reduzir os impactos ambientais, reaproveitar subprodutos e agregar valor a produtos sustentáveis (Khalid et al., 2021; Aktar, 2021).

2.4 Embalagem Biodegradável

A crescente poluição causada pelo plástico no meio ambiente tornou-se uma das maiores preocupações globais nas últimas décadas. Estima-se que milhões de toneladas de plástico sejam descartadas anualmente, prejudicando a biodiversidade, a qualidade dos solos e dos oceanos, além de contribuir para as mudanças climáticas. Sua elevada durabilidade e resistência à manipulação, aliadas ao descarte inadequado, fazem do plástico um dos principais agentes de impacto ambiental negativo (Carneiro et al., 2021).

O uso de plásticos na agricultura, conhecidos como agroplásticos são utilizados em itens como embalagens, estufas e *mulching* (cobertura do solo), embora econômicos e eficientes, também representam um desafio ambiental significativo devido ao descarte inadequado, que leva à fragmentação em microplásticos e à poluição dos ecossistemas (Álvarez et al., 2020). Além disso, o processo de reciclagem do plástico enfrenta dificuldades devido à sua composição específica e origem não renovável. Os plásticos sintéticos são praticamente não degradáveis, pois não existem enzimas naturais no ambiente que sejam capazes de decompô-los. Isso resulta em seu acúmulo em aterros sanitários e contribui para a poluição global (Campagner et al., 2014; Wang et al., 2022). Nesse contexto, torna-se evidente a necessidade de alternativas seguras, sustentáveis e tecnologicamente viáveis.

Biopolímeros derivados de fontes renováveis, como celulose, amido, pectina e quitosana, surgem como soluções promissoras para a produção de embalagens biodegradáveis. Essas alternativas apresentam propriedades mecânicas e ópticas atrativas, além de serem degradados rapidamente em contato com microrganismos. Segundo projeções do *Future Market Insights* (FMI), o mercado global de filmes e embalagens sustentáveis poderá atingir 6,3 bilhões de dólares até 2032, refletindo o interesse crescente em substituir plásticos sintéticos por materiais renováveis e degradáveis (FMI, 2022; Singh et al., 2022).

Uma inovação relevante é o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis para aplicação agrícola. Essas embalagens podem substituir os sacos plásticos tradicionais usados no cultivo de mudas. Produzidas a partir de biopolímeros, como celulose bacteriana (CB) ou outros polissacarídeos, essas embalagens podem ser plantadas diretamente no solo junto com a muda, eliminando a necessidade de remoção manual do plástico. Essa abordagem reduz o trabalho, elimina o risco de descarte inadequado e evita a contaminação do solo por microplásticos. Além disso, o material biodegradável se decompõe naturalmente, contribuindo para a melhoria da qualidade do solo e promoção de práticas agrícolas mais sustentáveis (Assis et al., 2017; Singh et al., 2022).

Nesse cenário, os biofilmes e as embalagens biodegradáveis, além de reduzir os impactos ambientais, agregam valor sustentável à cadeia de produção agrícola. Por suas características inovadoras e elevado potencial de mercado, essas alternativas reforçam a necessidade de investimentos em pesquisa e desenvolvimento para viabilizar a substituição eficaz de plásticos sintéticos em diferentes setores.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar bebidas de kombucha, quanto ao cumprimento dos padrões regulamentados pela legislação vigente e características físico-químicas, microbiológicas e de compostos com potencial bioativo durante sua validade; e desenvolver embalagem biodegradável a partir da SCOBY

3.2 Objetivos específicos

Objetivo específico 1: Avaliar as características físico-químicas, microbiológicas e o conteúdo de compostos bioativos de bebidas de kombucha comercializadas em diferentes embalagens.

Objetivo específico 2: Desenvolver e analisar as propriedades físicas, mecânicas e a biodegradabilidade de embalagens biodegradáveis elaboradas com a SCOBY.

4. REFERÊNCIAS

- Addanki, S.; Koti, E.; Juturi, R. K. (2021). Nutraceuticals: health claims regulatory overview. *International Journal Of Pharmaceutical Research*, 13(4), 4024-4033
- Aduri, P.; Sharma, A.; Kumar, A.; Sharma, S. (2019). Study of biodegradable packaging material produced from scoby. *Research Journal of Life Sciences, Bioinformatics, Pharmaceutical and Chemical Sciences*, 5(3), 389-404
- Aktar, T.; Jesumani, V. (2021). Edible biofilms: a promising and sustainable alternative for food packaging applications. *Food and Bioproducts Processing*, 129, 39-51
- Álvarez, L.; Jesus, F.; Costa, A.; Bastos, L.; Souza, D.; Silva, D. (2020). Efectos de los microplásticos en el medio ambiente: Un macroproblema emergente. *Revista De Ciencia Y Tecnología*, 33, 100-107
- Alves, R. O.; Oliveira, R. L. D.; Anjos, D. C. P. D.; Porto, C. S.; Porto, T. S. (2024). Trends in kombucha research: A bibliometric and technological prospection analysis. *Food Science and Technology*, 44
- Assis, R. Q.; da Silva, J. R.; de Souza, A. G.; de Almeida, A. E.; de Oliveira, A. G. (2017). Active biodegradable cassava starch films incorporated lycopene nanocapsules. *Industrial Crops and Products*, 109, 818-827
- Blasco, T.; González, A.; González, R.; Perez, A.; González, J. (2021). An extended reconstruction of human gut microbiota metabolism of dietary compounds. *Nature Communications*, 12, 4728
- Campagner, M. R.; de Souza, A. G.; de Oliveira, A. G.; da Silva, J. R.; de Almeida, A. E. (2014). Polymeric films based on starch and lignosulfonates: preparation, properties and evaluation of biodegradation. *Polímeros*, 24(6), 740-751
- Carneiro, T.; Silva, L.; Guenther, M. (2021). A poluição por plásticos e a educação ambiental como ferramenta de sensibilização. *Revista Brasileira De Educação Ambiental (Revbea)*, 16(6)
- Chakravorty, S.; Ghosh, S.; Sarkar, S.; Ghosh, A. (2016). Kombucha tea fermentation: microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 63-72

Chambial, S.; Sharma, A.; Sharma, A.; Sharma, P. (2013). Vitamin C in disease prevention and cure: an overview. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 28, 314-328

Chen, C.; Liu, B. Y. (2000). Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. *Journal of Applied Microbiology*, 89(5), 834-839

Chopra, A. S.; Sharma, A.; Sharma, P.; Sharma, A. (2022). The current use and evolving landscape of nutraceuticals. *Pharmacological Research*, 175, 106001

Crum, K.; Harris, C.; Murray, R. (2016). Impact of storage on kombucha composition. *Food Chemistry*, 211, 420-426

Dufresne, C.; Farnworth, E. (2000). Tea, kombucha, and health: A review. *Food Research International*, 33, 409-421

Dutta, H.; Paul, S. K. (2019). Kombucha drink: Production, quality, and safety aspects. In: Production and management of beverages. *Woodhead Publishing*, 259-288

Emiljanowicz, K. E.; Malinowska-Pańczyk, E. (2020). Kombucha from alternative raw materials—The review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60, 3185-3194

Fernandes, A.; Silva, L. M.; Oliveira, J. P. (2021). Impacto ambiental do descarte inadequado de resíduos orgânicos em aterros sanitários: Análise e soluções sustentáveis. *Revista de Pesquisa Ambiental*, 45(3), 123-134

FMI (Future Market Insights) (2022). Edible films and coatings market: Global industry analysis 2017-2032

Gama, M.; Dourado, F.; Henriques, M.; Duarte, P.; Marques, A.; Sousa, I. (2017). Bioapplications of bacterial cellulose-based materials: A review. *Journal of Materials Science*, 52(2), 965-991

Gao, P.; Li, Y.; Liu, Y.; Zhang, X. (2021). Biodegradable packaging solutions: A case for agriculture and horticulture. *Sustainable Materials and Technologies*, 29, 1-10

Goh, W. T.; Tan, K. P.; Lim, H. K. (2022). Valorização de subprodutos de kombucha: Rumo a aplicações industriais sustentáveis. *Journal of Food Engineering*, 145(2), 567-578

- Hopewell, J.; Dvorak, R.; Kosior, E. (2009). Plastics recycling: Challenges and opportunities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 2115-2126
- Huang, R. (2024). Exploring kombucha: Production, microbiota biotransformation, flavor, health benefits and potential risks. *ACS Food Science & Technology*, 4(7), 1610-1625
- Jakubczyk, K.; Gutowska, I.; Antoniewicz, J.; Janda, K. (2020). Evaluation of fluoride and selected chemical parameters in Kombucha derived from white, green, black and red tea. *Biological Trace Element Research*, 199, 3547-3552
- Jayabalan, R.; Marimuthu, S.; Swaminathan, K. (2007). Changes in content of organic acids and tea polyphenols during Kombucha tea fermentation. *Food Chemistry*, 102, 392-398
- Jayabalan, R.; Marimuthu, S.; Swaminathan, K. (2014). A review on Kombucha tea—Microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, 538-550
- Kapp, J. M.; Sumner, W. (2019). Kombucha: A systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Annals of Epidemiology*, 30, 66-70
- Khalid, N.; Butt, M. S.; Iqbal, R. (2021). Bio-based food packaging: Potential application of natural polymers as edible and biodegradable films and coatings. *Polymers*, 13(1), 82
- Khan, N.; Mukhtar, H. (2019). Tea polyphenols in promotion of human health. *Nutrients*, 11(39), 1-6
- Kim, J.; Adhikari, K. (2020). Current trends in Kombucha: Marketing perspectives and the need for improved sensory research. *Beverages*, 6(1), 15
- Koirala, S.; Anal, A. K. (2021). Probiotics-based foods and beverages as future foods and their overall safety and regulatory claims. *Future Foods*, 3, 100013
- Laavanya, D.; Shirkole, S.; Balasubramanian, P. (2021). Current challenges, applications and future perspectives of SCOBY cellulose of kombucha fermentation. *Journal of Cleaner Production*, 295, 126454

- Leal, J. M.; De Souza, A. G.; De Oliveira, A. G.; Da Silva, J. R. (2018). A review on health benefits of Kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA-Journal of Food*, 16, 390-399
- Li, Y.; Li, Y.; Li, Y. (2018). Research on the utilization of microbial cellulose in food industry. *Food Science and Human Wellness*, 7(3), 167-173
- Liu, W.; Zhang, J.; Wu, J.; Huang, X. (2018). Review of gelling agents of microbial cellulose for food application. *Food Hydrocolloids*, 79, 447-457
- MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2019). Mapa define padrões de qualidade e identidade da Kombucha. Brasília
- Marsh, A. J.; O'sullivan, O.; O'callaghan, T. F. (2014). Evaluation of the microbial community and metabolites of kombucha tea from multiple cultures. *Food Microbiology*, 38, 149-158
- Martínez Leal, J.; Valenzuela Suárez, L.; Jayabalan, R.; Huerta Oros, J.; Escalante-Aburto, A. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA-Journal of Food*, 16, 390-399
- Mensi, A.; Udenigwe, C. C. (2021). Emerging and practical food innovations for achieving the Sustainable Development Goals (SDG) target 2.2. *Trends in Food Science & Technology*, 111, 783-789
- Moshash, A. (2021). Desenvolvimento de papéis para enrolar cigarros utilizando biofilmes de kombuchá. *Revista Brasileira de Inovação e Tecnologia*, 5(2), 123-130
- Mousavi, S. M.; Khazaei, M.; Khazaei, F.; Khazaei, M. (2019). Separation of Ni (II) from industrial wastewater by Kombucha SCOBY as a colony consisted from bacteria and yeast: Kinetic and equilibrium studies. *Acta Chimica Slovenica*, 66
- Nguyen, N. K.; Nguyen, T. T.; Nguyen, T. H.; Pham, T. T. (2015). Screening the optimal ratio of symbiosis between isolated yeast and acetic acid bacteria strain from traditional kombucha for high-level production of glucuronic acid. *LWT*, 64, 1149-1155
- Noshirvani, N.; Khazaei, M.; Khazaei, F.; Khazaei, M. (2018). Study of cellulose nanocrystal doped starch-polyvinyl alcohol bionanocomposite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 2065-2074

Plamada, D. et al. (2024). Microbial Production of Aromatic Phenolic Compounds. In: Jafari, S.M., Harzevili, F.D. (eds) Microbial Production of Food Bioactive Compounds. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-81403-8_53-1

Rodriguez, C. M.; Alves, R. F.; Pereira, T. L. (2023). Desafios da gestão de resíduos sólidos e impactos ambientais da indústria de bebidas. *Sustainability Science*, 58(4), 789-804

Schiros, T. (2021). Produção de biomateriais a partir de nanocelulose bacteriana de SCOBY: Aprimoramento por meio de tratamentos de curtimento enzimático. *Journal of Biomaterials Science*, 29(4), 567-580

Sharma, V. K.; Kumar, A.; Singh, S. (2007). Health benefits of tea consumption. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 6(3), 785-792

Silva, A. C.; Mendes, J. Á. (2020). Desenvolvimento de soluções sustentáveis no setor agrícola: Uma abordagem sobre a economia circular. *Revista Brasileira de Agricultura Sustentável*, 12(3), 45-6

Singh, G. P.; Kumar, A.; Singh, R.; Singh, P. (2022). Effect on the properties of edible starch-based films by the incorporation of additives: A review. *Polymers*, 14(10), 1987-2006

Vargas, B. K.; Fabricio, M. F.; Ayub, M. A. Z. (2021). Health effects and probiotic and prebiotic potential of Kombucha: A bibliometric and systematic review. *Food Bioscience*, 44, 101332

Villarreal-Soto, S. A.; Beaufort, S.; Bouajila, J.; Souchard, J. P.; Taillandier, P. (2018). Understanding kombucha tea fermentation: A review. *Journal of Food Science*, 83, 580-588

Wang, B.; Li, Y.; Liu, Y.; Zhang, X. (2022). Effect of different ratios of glycerol and erythritol on properties of corn starch-based films. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1-10

Watawana, M. I.; Khazaei, M.; Khazaei, F.; Khazaei, M. (2015). Health, wellness, and safety aspects of the consumption of Kombucha. *Journal of Chemical*, 2015, 1-11

CAPÍTULO 1
INFLUÊNCIA DO ARMAZENAMENTO NA QUALIDADE E
ESTABILIDADE DE DIFERENTES KOMBUCHAS COMERCIAIS

Qualidade e Estabilidade de Kombuchas Comerciais e Influência do Armazenamento

Carolina Paula Gouvêa de Souza*; André Sartori Cardeiro; Christiane Mileib Vasconcelos

Destaques:

A presença de frutas impactaram positivamente as características microbiológicas e químicas das bebidas de kombucha.

A aparência é afetada com o armazenamento, havendo aumento da turbidez e luminosidade nas bebidas. Os compostos fenólicos e a atividade antioxidante diminuem com o armazenamento.

Resumo:

A kombucha tem ganhado popularidade devido aos seus benefícios como alimento funcional e à crescente demanda por bebidas mais naturais, resultando em um aumento significativo de sua comercialização no Brasil. No entanto, diversos fatores podem impactar a qualidade dessa bebida, gerando preocupações sobre a qualidade da kombucha disponível nas grades redes de supermercados e farmácias. Este estudo teve como objetivo analisar os efeitos do armazenamento em kombuchas de diferentes sabores e tipos de embalagens, considerando características microbiológicas, parâmetros de teor alcoólico e propriedades físico-químicas (pH, acidez total, açúcar total, sólidos solúveis, coordenadas de cor e turbidez), bem como o teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante (ABTS e DPPH), tanto no início da vida de prateleira (fresca) quanto no final (a vencer), conforme estabelecido pelo fabricante, e com base na Instrução Normativa nº 41, de 2019, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Foram analisadas sete amostras, frescas e próximas ao vencimento, de três marcas disponíveis, considerando sabores similares entre as marcas e as condições de refrigeração nas quais o produto é comercializado. Os dados foram avaliados por ANOVA e comparados pelo teste Duncan ($p \leq 0,05$) ou foram ajustados modelos de regressão. As análises microbiológicas indicaram uma predominância de bactérias lácticas nas bebidas, enquanto a adição de hibisco inibiu o crescimento microbiano. As bebidas mantiveram parâmetros físico-químicos dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente, com aumento da turbidez e variações na luminosidade das cores em amostras próximas ao vencimento. Foi detectada uma redução de 52% nos compostos fenólicos e 72% na capacidade antioxidante pelo método DPPH ao longo do período de armazenamento, diminuindo os benefícios à saúde. As informações obtidas neste estudo ampliam o conhecimento sobre a estabilidade da kombucha comercial, fornecendo dados para consumidores e para a indústria. Compreendendo as interações entre os ingredientes, é possível avançar na oferta de produtos mais seguros e com qualidade preservada ao longo do tempo.

Palavras-chave: Bebidas fermentadas, cultura simbiótica, validade, bebidas saborizadas, *Camellia sinensis*.

Abstract:

Kombucha has gained popularity due to its benefits as a functional food and the growing demand for more natural beverages, resulting in a significant increase in its commercialization in Brazil. However, various factors may impact the quality of this beverage, raising concerns about the quality of kombucha available on the market. This study aimed to analyze the effects of storage on kombuchas of different flavors and packaging types, considering microbiological characteristics, alcohol content parameters, and physicochemical properties (pH, total acidity, total sugars, soluble solids, color coordinates, and turbidity), as well as the phenolic compound content and antioxidant activity (ABTS and DPPH). Analyses were conducted at the beginning of shelf life (fresh) and near the expiration date, as established by the manufacturer and based on Normative Instruction No. 41, 2019, of the Ministry of Agriculture, Livestock, and Food Supply. Seven samples, fresh and near expiration, from three available brands were analyzed, considering similar flavors between brands and the refrigeration conditions under which the

product is marketed. Data were evaluated using ANOVA and compared using Duncan's test ($p \leq 0.05$), or regression models were fitted. Microbiological analyses indicated a predominance of lactic acid bacteria in the beverages, while the addition of hibiscus had an inhibitory effect on microbial growth. The beverages maintained physicochemical parameters within the limits established by current legislation, with an increase in turbidity and variations in color luminosity in samples close to expiration. A 52% reduction in phenolic compounds and a 72% reduction in antioxidant activity by the DPPH method were detected over the storage period, diminishing the health benefits. The findings of this study expand knowledge about the stability of commercial kombucha, providing data for consumers and the industry. Understanding the interactions between ingredients may facilitate progress in offering safer products with preserved quality over time.

Keywords: Fermented beverages, symbiotic culture, shelf life, flavored beverages, *Camellia sinensis*.

Introdução

A origem exata da kombucha ainda não é totalmente descoberta, embora evidências indiquem que ela tem se originado na China há mais de 2.000 anos. A bebida fermentada começou a se popularizar globalmente durante a Segunda Guerra Mundial, especialmente na Europa e na Rússia, e recentemente vem ganhando interesse crescente devido aos seus potenciais benefícios à saúde e propriedades terapêuticas, o que tem atraído a atenção de pesquisadores e consumidores (Laavanya et al.; 2021, Kapp et al.; 2019).

Kombucha é uma bebida obtida pela fermentação de chá elaborado com uma planta perineal conhecida como *Camellia sinensis*, da família *Thaectae*, açúcar e uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras (SCOBY - *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts*). Essa bebida é reconhecida pela presença de compostos bioativos, incluindo probióticos, antioxidantes e antimicrobianos (Koirala et al.; 2021).

Esses componentes conferem à kombucha propriedades funcionais que podem promover a saúde intestinal, proteger contra danos oxidativos, aumentar a vitalidade, melhorar a constipação, aumentar a resposta imunológica, inibir o desenvolvimento e progressão de câncer, doenças cardiovasculares, diabetes e doenças neurodegenerativas (Kapp et al., 2019; Ibrahim et al., 2022; Zhang et al., 2021; Filippis et al., 2020).

Além dos fatores mencionados, a inclusão de diferentes frutas na produção da kombucha pode impactar significativamente suas características microbiológicas, antioxidantes e sensoriais. Estudos demonstraram que a adição de frutas como morango, mirtilo e framboesa não apenas enriquece a bebida com uma variedade de compostos bioativos, mas também introduz novas cepas de microorganismos que podem contribuir para a diversidade microbiológica da kombucha (Dufossé et al., 2019; Ortiz et al., 2020; D'Souza et al., 2021). Além disso, as frutas são fontes naturais de antioxidantes, como polifenóis e vitamina C, que podem fortalecer as propriedades antioxidantes da bebida (Ma et al., 2018; Jayabalan et al., 2021). Em termos sensoriais, a adição de frutas pode conferir aromas, sabores e cores distintas à

bebida, tornando-a mais atrativa e diversificada para os consumidores (Sreeramulu et al., 2019; Teoh et al., 2020).

Contudo, durante o armazenamento, a kombucha pode passar por uma série de alterações físico-químicas e microbiológicas que podem influenciar sua qualidade e potenciais benefícios à saúde (Gadaga et al., 2018). Essas mudanças na kombucha durante o armazenamento incluem o aumento da acidez, resultado da produção contínua de ácidos orgânicos pelas bactérias lácticas e acéticas presentes na bebida. Esse processo também contribui para o desenvolvimento de sabores e aromas mais complexos (Wu et al., 2022). Ainda, a estabilidade microbiológica da kombucha pode ser afetada durante o armazenamento, com um potencial aumentado na previsão dos microrganismos probióticos, ou que influenciam nas propriedades funcionais (Jayabalan et al., 2022; Guo et al., 2021).

Desta forma, a Instrução Normativa Nº 41, de 17 de setembro de 2019 (Brasil, 2019), estabelece o padrão de pH, acidez e álcool para garantir a qualidade da kombucha e comercialização das bebidas de forma segura em todo o território nacional. Isso envolve não apenas a monitorização microbiológica para garantir a ausência de patógenos, mas também a avaliação do teor de compostos com atividade antioxidante de forma a permitir a manutenção dos benefícios à saúde (Gaggìa et al., 2019; MAPA, 2019).

A escolha do material de embalagem também pode desempenhar um papel crucial na preservação das características nutricionais e microbiológicas da kombucha durante seu armazenamento. Embalagens de vidro âmbar, plástico (polietileno tereftalato - PET) e lata (alumínio) apresentam diferentes características físicas e de barreira que podem influenciar a qualidade da bebida ao longo do tempo (Han et al., 2020; Chen et al., 2019).

Embalagens de vidro âmbar, por exemplo, são inertes e não reagem quimicamente com o conteúdo, proporcionando uma barreira eficaz contra a luz e o oxigênio, o que pode ajudar a preservar o frescor e os nutrientes da kombucha (Mason et al., 2015; Chen et al., 2017). Embalagens de plástico, por outro lado, podem ser permeáveis ao oxigênio e à luz, o que pode resultar em alterações indesejáveis na qualidade da bebida, como oxidação e perda de nutrientes (Chen et al., 2014; Chen et al., 2019). Já as embalagens de alumínio podem oferecer uma barreira mais eficaz contra a luz e o oxigênio do que o plástico, mas podem apresentar o risco de interações químicas com o conteúdo devido ao revestimento interno (Lin et al., 2017; Han et al., 2020).

Portanto, este trabalho teve como objetivo determinar as alterações que ocorrem na bebida kombucha de diferentes sabores, quando armazenada em diferentes tipos de embalagens, como vidro, plástico e lata, nas características microbiológicas, físico-químicas, teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante no início e fim da sua validade.

Material e Métodos

Material

As bebidas de kombucha utilizadas neste estudo foram adquiridas pelo pesquisador, de acordo com as marcas disponíveis nas principais redes de supermercados e drogarias da Região Metropolitana da Grande Vitória, Espírito Santo, no mês de novembro de 2023. A escolha desses locais se deu devido à grande circulação de pessoas diariamente, o que sugere uma maior probabilidade de procura por este produto. Foram identificadas três marcas distintas, optando-se por adquirir sabores, os mais semelhantes possíveis, entre elas. Após a aquisição, as bebidas foram transportadas em caixa térmica e armazenadas sob refrigeração para o Laboratório de Biotecnologia de Alimentos (LABIA) da Universidade Vila Velha (UVV). As análises foram realizadas um dia após a aquisição das bebidas e também no mês correspondente à data de validade.

As bebidas foram adquiridas no mesmo mês em que foram fabricadas e disponibilizadas para o comércio, sendo, portanto, consideradas “frescas”, enquanto as bebidas no mês de sua validade, foram consideradas “a vencer”.

As bebidas em diferentes embalagens, sabores e demais informações sobre ingredientes, informação nutricional e prazo de validade, declarados nos rótulos, estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1
Características das bebidas de Kombuchas comercializadas na Grande Vitória, ES.

Bebida	Embalagem	Sabor	Ingredientes	Informação Nutricional (por 100 mL)	Prazo de validade
VOR	Vidro	Original	Água, cultura viva de Kombucha SCOBY, açúcar orgânico e chá verde orgânico.	Calorias: 12 Kcal Carboidratos: 3 g Açúcar total: 6 g Açúcar adicionado: 2 g	12 meses
VUB	Vidro Âmbar	Uva bordô	Água, cultura viva de Kombucha SCOBY, suco de uva bordô orgânico, açúcar orgânico e chá verde orgânico (<i>Camellia sinensis</i>).	Calorias: 24 Kcal Carboidratos: 6 g Açúcar total: 6 g Açúcar adicionado: 2 g	10 meses
VMA	Vidro Âmbar	Maracujá	Água, cultura viva de Kombucha SCOBY, suco de maracujá orgânico, açúcar orgânico e chá verde orgânico (<i>Camellia sinensis</i>).	Calorias: 24 Kcal Carboidratos: 6 g Açúcar total: 6 g Açúcar adicionado: 2 g	10 meses
PHM	Plástico (PET)	Hibisco com maracujá	Água, infusão de chá verde (<i>Camellia sinensis</i>), infusão de hibisco	Calorias: 12 Kcal Carboidratos: 3 g Açúcar total: 2,7 g Açúcar adicionado 2,7 g	12 meses

			(<i>H. Sabdariffa</i>), açúcar, aroma natural de maracujá, cultura simbiótica de bactérias e leveduras (SCOBY).	Sódio: 0,2 mg	
PUVH	Plástico (PET)	Uva verde com hortelã	Água, infusão de chá verde (<i>Camellia sinensis</i>), açúcar, aroma natural de uva verde e hortelã, cultura simbiótica de bactérias e leveduras (SCOBY).	Calorias: 11 Kcal Carboidratos: 2,7 g Açúcar total: 2,7 g Açúcar adicionado: 2,7 g Sódio: 0,03 mg	12 meses
LMO	Lata (Alumínio)	Morango	Água, cultura simbiótica de bactérias e leveduras (SCOBY), morango, açúcar orgânico, chá verde (<i>Camellia sinensis</i>), gás carbônico.	Calorias: 14 Kcal Carboidratos: 3,4 g Açúcar total: 3,4 g Açúcar adicionado: 2,5 g	6 meses
LMA	Lata (Alumínio)	Maracujá	Água, cultura simbiótica de bactérias e leveduras (SCOBY), maracujá, açúcar orgânico, chá verde (<i>Camellia sinensis</i>), gás carbônico.	Calorias: 12 Kcal Carboidratos: 3,1 g Açúcar total: 3,1 g Açúcar adicionado: 2,5 g	6 meses

O experimento foi realizado seguindo um delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema de parcela subdivididas com 3 repetições, no qual as parcelas foram representadas pelas bebidas e as subparcelas pelo tempo e interação bebidas*tempo, considerando que as 7 bebidas foram analisadas logo após sua aquisição no comércio (a frescas) e no mês referente a sua validade (a vencer), totalizando 42 unidades experimentais.

Análises microbiológicas

Nas análises microbiológicas foram utilizados os meios de cultura: *Plate Count Agar* (PCA) Biolog® para bactérias totais, MRS *Lactobacillus* Kasvi® para lactobacilos, Ágar Sabouraud Dextrose Kasvi® para fungos filamentosas e leveduras e Acetobacter para bactérias acéticas.

Os meios foram preparados segundo a orientação do fabricante e as análises realizadas conforme técnica descrita por Silva (2013), que consiste na diluição das bebidas em série, em solução salina e plaqueados.

As contagens foram expressas em Logaritmo de Unidades Formadoras de Colônias por volume da Amostra (Log UFC/mL).

Determinação do pH

O pH foi aferido com a introdução direta de eletrodo na bebida de kombucha. O medidor foi devidamente calibrado e análise realizada de acordo com a AOAC (2000).

Determinação da Acidez Total Titulável (ATT)

A determinação da acidez total titulável foi realizada em 10 mL da bebida de kombucha diluída em 100 mL de água destilada, adicionada de 3 gotas de fenolftaleína, e titulados com solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1 M. A acidez foi calculada com base na equação 1 e expressa em g/100 mL de ácido acético (AOAC, 2000).

$$ATT_{g/100\text{ mL}} = [n \times N \times Eq] / 10 \times V \quad \text{Equação 1}$$

(n: Volume da solução titulável, N: Normalidade da solução titulável, Eq: Peso Equivalente, V: Volume da amostra).

Determinação do teor de sólidos solúveis (SST)

O teor de sólidos solúveis totais (SST) foi realizado pelo refratômetro modelo Milwaukee®, sendo o resultado expresso em °Brix (AOAC, 2005).

Determinação do teor de sólidos solúveis (SST)

A análise de açúcares totais foi realizada segundo o método de Lane e Eynon, utilizando Fheling. As amostras foram diluídas em água destilada, sendo utilizada uma alíquota de 10 mL. Em seguida, foi adicionado 10 mL de ácido clorídrico concentrado (HCl). A solução foi aquecida em banho-maria a 60–70 °C por 10 minutos e posteriormente resfriada à temperatura ambiente. Realizou-se a neutralização da solução utilizando hidróxido de sódio (NaOH) 1N, até atingir pH próximo a 7, verificado com papel indicador. O volume da solução foi então completado para 100 mL com água destilada.

Para a titulação, foram adicionados 5 mL de solução de Fehling A, 5 mL de solução de Fehling B e 40 mL de água destilada em um erlenmeyer de 250 mL. A mistura foi aquecida até aproximadamente 70–80 °C, adicionado o indicador de azul de metileno e titulada com a solução de amostra até a mudança de cor da solução de azul para vermelho tijolo. O volume utilizado foi registrado, e a concentração de açúcares totais foi calculada com base na equivalência de 5 mL da solução de Fehling a 0,05 g de glicose. Os resultados foram ajustados considerando a diluição inicial realizada no preparo das amostras.

Determinação de turbidez

A análise de turbidez foi realizada com as amostras colocadas em cubetas de quartzo e lidas a 595 nm utilizando o espectrofotômetro de bancada UV-5100, sendo resultados expressos em unidades

de absorvância. Para a comparação com o branco, utilizou-se água destilada, de acordo com a metodologia descrita pela AOAC (2000).

Determinação do teor alcoólico

O teor alcoólico foi determinado por meio de um alcoômetro centesimal (Alcoômetro de Gay Lussac), à temperatura de 20 °C, na qual o instrumento foi graduado e expresso em graus Gay-Lussac (°GL) (IAL, 2008).

Determinação da cor instrumental

As coordenadas de cor foram determinadas no colorímetro WR10QC segundo o sistema CIE-Lab, utilizando-se do espaço de cor (L*a*b*). As leituras foram realizadas em três leituras para cada amostra.

A partir dos valores encontrados para as coordenadas de cor L*a*b* foram calculados o Cromo (C*) e o ângulo hue (h*), usando as equações 2 e 3, respectivamente (Pathare; Opara; Al-Said, 2012).

$$C = \sqrt{a^2 + b^2} \quad \text{Equação 2}$$

$$h = \tan^{-1} \frac{b}{a} \quad \text{Equação 3}$$

Determinação dos Compostos Fenólicos Totais

Para determinação de compostos fenólicos foi utilizado o método de Bloor (2001), com modificações. Foi adicionado na microplaca uma alíquota de 100 µl do extrato (amostra e metanol – 40:60 v/v), 100 µl do reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma®) em concentração de 10% e em seguida 100 µl de carbonato de sódio (Na₂CO₃) a 7,5%. A leitura foi realizada a 765 nm no espectrofotômetro SpectraMax®190. O mesmo extrato é utilizado para análise de antioxidante.

A curva padrão foi elaborada com ácido gálico Dinâmica Ltda ® nas concentrações de 0 a 300 mgc/mL gerando a equação $f(x) = 0,0241x + 0,0602$; $R^2 = 0,9990$. Os resultados foram expressos em mg de equivalente em ácido gálico (EAG)/100 ml da bebida de kombucha.

Determinação da capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante foi determinada utilizando os radicais ABTS e DPPH.

ABTS: 30 µl de cada extrato foram pipetados em uma microplaca e adicionados de 270 µL do radical ABTS. Após 6 minutos, a absorvância foi lida a 734 nm em espectrofotômetro SpectraMax® 190. A análise do branco foi realizada com metanol concentrado NEON® (AWIKA et al., 2003). A atividade de inibição do radical foi calculada com base na Equação 4 e os resultados foram expressos

como IC50 (concentração capaz de reduzir 50% de radicais livres) (Awika et al., 2003; Scherer; Godoy, 2009).

DPPH: 20 µL de cada extrato e 280 µL do radical DPPH foram pipetados em microplaca. A leitura foi realizada a 517 nm após 60 minutos de incubação, ao abrigo da luz em espectrofotômetro SpectraMax® 190. A análise do branco foi realizada com metanol concentrado NEON® (LUO et al., 2018). Todas as análises foram realizadas em triplicata. A atividade de inibição do radical foi calculada conforme a Equação 4 e os resultados foram expressos como IC50 (concentração capaz de reduzir 50% de radicais livres) (Scherer; Godoy, 2009).

$$I (\%) = [(Abs_0 - Abs_1)/Abs_0] \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

(Abs₀ é a absorbância do branco e Abs₁ é a absorbância na presença do teste composto em diferentes concentrações)

Análise estatística

Os resultados foram inicialmente avaliados quanto a normalidade dos dados, pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Para os dados normais ($p \geq 0,05$), realizou-se um teste F (ANOVA) considerando as bebidas em suas diferentes embalagens e sabores como parcelas, e tempo (bebida fresca ou a vencer), além da interação Bebida*Tempo como subparcelas. Resultados com diferenças significativas ($p \leq 0,05$) para as bebidas foram avaliados por meio Teste de Duncan para comparação de médias. Resultados com diferença significativas ($p \leq 0,05$) para o tempo, a ANOVA ao nível de significância de 5% foi conclusiva. Para resultados significativos referente à interação Bebida*Tempo, foi realizado o desmembramento para avaliar quais bebidas alteraram significativamente durante seu armazenamento, considerando a bebida fresca comparada à bebida a vencer.

Para dados não normais ($p < 0,05$), procedeu-se com análise não paramétrica considerando as bebidas e o tempo como fontes de variação. Para diferenças significativas em relação às bebidas, elas foram comparadas 2 a 2, e para diferenças quanto ao tempo, o resultado foi conclusivo.

Os resultados foram analisados por meio do programa estatístico Statistical Analysis System (SAS University Studio Online, Cary, North Carolina), e os dados paramétricos, apresentados como média e desvio padrão e, não paramétricos, como medianas.

Resultados e Discussão

Análises microbiológicas das bebidas kombucha

De forma geral, a ausência de sabor adicional (VOR) proporcionou menor crescimento de microrganismos em comparação às bebidas saborizadas (Tabela 2). Já as kombuchas contendo frutas, VUB, VMA, PUVH, LMO e LMA exibiram predomínio nas contagens microbianas, especialmente para

bactérias lácticas, fungos filamentosos e leveduras. Essas observações se alinham com a hipótese de que a ausência de nutrientes adicionais resulta em menor crescimento de microrganismos. A composição base do chá e do açúcar da kombucha fornecem um perfil nutricional padrão que, embora suficiente para fermentação, não aumenta o crescimento microbiano na mesma extensão que as bebidas com adição de frutas (Chakravorty et al., 2016).

Tabela 2. Contagem (Log UFC/ mL) de bactérias acéticas, bactérias lácticas, bactérias totais e fungos filamentosos e leveduras de diferentes marcas e sabores comercializadas na Região Metropolitana da Grande Vitória, Espírito Santo.

Bebida	Bactérias acéticas	Bactérias lácticas	Bactérias totais	Fungos filamentosos e Leveduras
VOR	2,94 ±0,24 ^b	2,38±0,48 ^b	3,09±0,84 ^c	2,78±0,55 ^a
VUB	4,05±0,85 ^a	4,91±0,41 ^a	4,33±0,17 ^b	5,25±0,77 ^a
VMA	4,22±0,74 ^a	5,35±0,88 ^a	5,58±0,89 ^a	5,65±0,96 ^a
PHM	3,79±0,68 ^b	3,65±0,61 ^b	4,80±0,64 ^{ab}	3,87±0,03 ^a
PUVH	4,10±0,89 ^a	5,08±0,75 ^a	5,59±0,43 ^a	5,20±0,60 ^a
LMO	4,24±0,43 ^a	5,01±0,51 ^a	5,09±0,14 ^{ab}	5,07±0,28 ^a
LMA	4,07±0,75 ^{ab}	4,71±0,70 ^a	4,81±0,77 ^{ab}	5,14±0,69 ^a

Médias e seu desvio padrão, de cada bebida com letras distintas, diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo Teste Duncan.

Estudos de Cvetković et al. (2014) e Vitas et al. (2018) corroboraram essa observação ao demonstrar que kombucha preparada com a adição de sucos de frutas apresentou maior contagem de bactérias nas fermentações comparadas à kombucha sem saborização. Eles concluíram que os compostos adicionais presentes nas frutas, como vitaminas e açúcares, podem fornecer substratos extras para o crescimento microbiano. Outros estudos demonstraram que kombuchas saborizadas com uva vermelha, maçã, romã e cereja enriqueceram a kombucha e tiveram maior crescimento microbiano, comparado à kombucha não saborizada (Akbarirad; Pourahmad; Assai, 2017; Velicanski et al., 2014).

Frutose e glicose são facilmente metabolizadas pelos microrganismos durante a fermentação, resultando em uma microbiota mais eficiente, diversificada e ativa (Kumar et al., 2020; Gaggia et al., 2019). Enquanto as vitaminas C e do complexo B atuam como cofatores essenciais no metabolismo microbiano, promovendo um crescimento mais robusto de bactérias e leveduras (Villarreal-Soto et al., 2018). A presença de fitonutrientes e polifenóis nas frutas pode ainda conferir uma leve proteção antioxidante aos microrganismos, melhorando sua sobrevivência e atividade durante a fermentação (Chen et al., 2019)

Dentre as bebidas saborizadas, a bebida PHM apresentou baixas contagens de bactérias lácticas e acéticas. Essa bebida foi elaborada com infusão de chá verde, chá de hibisco e aroma em substituição

ao maracujá, além de estar armazenada em embalagem plástica de cor transparente. Ainda, o hibisco possui ácido hibístico que contém efeito antimicrobiano, podendo inibir o crescimento de certas bactérias e leveduras (Cote et al., 2019). Flavonoides como delphinidina e cianidina presentes no hibisco também possuem atividade antimicrobiana que podem contribuir para menor crescimento de microrganismos (McKay et al., 2010). Lin et al. (2011) descobriram que o extrato de hibisco apresenta um efeito inibitório contra uma variedade de patógenos bacterianos e fúngicos. Além da presença do hibisco, a bebida não contém a fruta, uma vez que foi utilizado aroma de maracujá, possui baixo teor de carboidratos totais e menor adição de açúcar inicial, disponibilizando menos substratos para a multiplicação dos microrganismos.

O crescimento de bactérias acéticas foi semelhante em todas as bebidas ($p > 0,05$) e observa-se uma maior predominância de bactérias lácticas, quase 1 log UFC/mL. Yang et al. (2022) também identificaram variações nas culturas iniciais (SCOBY), encontrando dominância de bactérias ácido lácticas em quatro das nove kombuchas comerciais analisadas. Eles sugerem que as bases do chá (verde, preto ou ambos) e a duração da fermentação podem gerar grandes diferenças nos perfis microbianos e químicos, impactando o conteúdo genético microbiano e os metabólitos produzidos. Marsh et al. (2014) observaram que a redução progressiva do pH inibia o crescimento de bactérias acéticas e promovia a dominância de bactérias lácticas, por serem mais tolerantes a ambientes ácidos.

A Figura 1 mostra o comportamento geral das bebidas de kombucha, analisadas logo após sua aquisição (frescas) e no mês de vencimento (a vencer), para as análises microbiológicas realizadas.

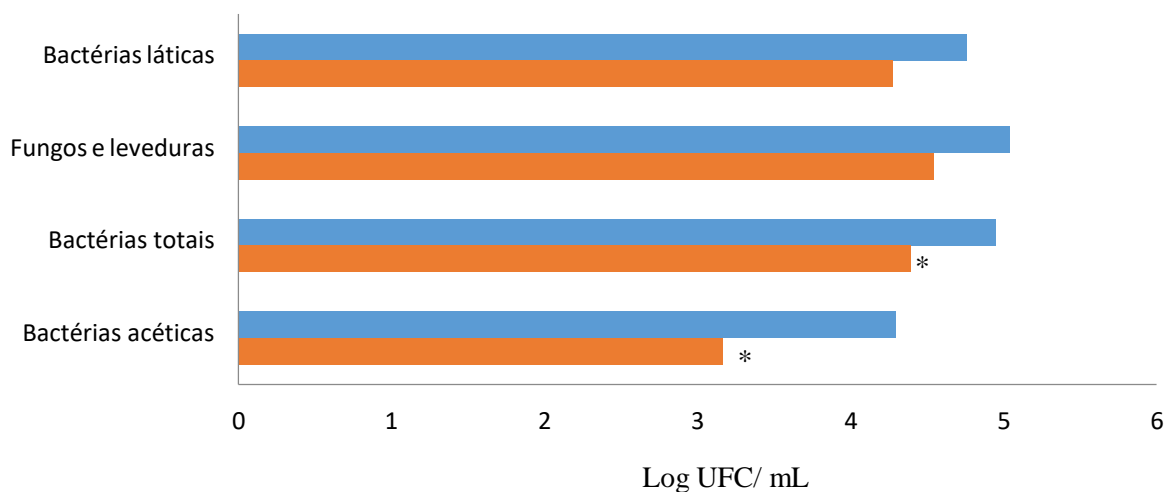


Figura 1. Comparação das contagens microbiológicas das bebidas de kombuchas frescas (■) e a vencer (■).

*Presença de diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados deste estudo indicam que a contagem de bactérias acéticas e totais nas bebidas de kombucha reduziram ($p \leq 0,05$) ao comparar as bebidas frescas com aquelas a vencer. A fermentação inicial é caracterizada por uma alta atividade microbiana, onde tanto as bactérias acéticas quanto as

láticas desempenham um papel crucial na conversão de açúcares em compostos orgânicos, como o ácido acético e o ácido láctico, especialmente na fase inicial de fermentação (Jayabalan et al., 2014).

Conforme a fermentação progride, a concentração de ácidos orgânicos aumenta. Este ambiente ácido pode inibir o crescimento de várias espécies de bactérias, especialmente aquelas que não são acidotolerantes. Neste contexto, a diminuição da contagem de bactérias acéticas e totais pode ser atribuída à crescente acidez da bebida, que cria um ambiente hostil para a sobrevivência de muitos microrganismos, especialmente bactérias acéticas (Goh et al., 2012).

Não foi observada diferença estatística ($p>0,05$) para a interação Bebida*Tempo, ou seja, as contagens de microrganismos não variaram durante armazenamento nas diferentes bebidas. Isso sugere que o material da embalagem das bebidas não influenciou nas contagens microbiológicas.

Análises físico-químicas

De modo geral observa-se diferença significativa dos valores de pH das bebidas entre 2,87 e 3,28 (Tabela 3). A resolução vigente no Brasil predispõe de valores de referência para o pH, sendo mínimo de 2,5 e máximo de 4,5 (Brasil, 2019). Nossos achados também são similares aos encontrados por Yang et al. (2022) que variou de 3,0 a 3,2.

O teor de álcool não foi detectado em nenhuma das bebidas analisadas, o que indica que todas estão dentro do limite permitido para serem consideradas não alcoólicas (teor menor que 0,5% v/v), segundo a Instrução Normativa nº 41 (Brasil, 2019). Este resultado reflete o controle do tempo de fermentação anterior ao envase, e manutenção das bebidas sob refrigeração durante seu armazenamento, o que controla a produção de álcool.

Tabela 3. Comparação das bebidas de kombucha quanto ao pH, acidez, açúcar total, SST e turbidez.

Bebidas	pH	Acidez (mL.g ⁻¹)	Açúcar Total (mg/g)	SST (°Brix)	Turbidez (Abs)
VOR	3,09±0,09 ^b	0,35±0,04 ^a	7,09±0,09 ^a	5,85±0,34 ^a	0,36±0,36 ^{bc}
VUB	3,06±0,07 ^b	0,39±0,04 ^a	7,01±1,06 ^a	5,81±0,32 ^a	1,01±0,48 ^a
VMA	2,99±0,09 ^{bc}	0,45±0,14 ^a	6,71±0,42 ^a	5,58±0,20 ^a	0,77±0,44 ^{ab}
PHM	2,86±0,22 ^c	0,28±0,09 ^a	2,33±0,93 ^{bc}	1,43±0,14 ^c	1,32±0,14 ^{ab}
PUVH	3,27±0,11 ^a	0,18±0,11 ^a	1,62±1,02 ^c	1,23±0,58 ^c	0,31±0,48 ^{bc}
LMO	3,29±0,16 ^a	0,36±0,03 ^a	4,80±0,20 ^b	3,60±0,11 ^b	0,11±0,63 ^c
LMA	3,24±0,08 ^a	0,41±0,02 ^a	4,14±0,70 ^{bc}	3,70±0,85 ^b	0,66±0,27 ^{ab}

Médias e seu desvio padrão, de cada bebida com letras distintas, diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo Teste Duncan.

Quando comparado as bebidas saborizadas em vidro (VUB e VMA) com as bebidas em lata (LMO e LMA), observamos diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre elas. Ao avaliar as bebidas de mesmo sabor (VMA e LMA), nota-se que a bebida VMA teve um melhor desempenho na multiplicação de microrganismos. Este maior crescimento microbiano contribui para uma maior produção de ácidos orgânicos, como ácido acético e ácido lático, levando a um pH mais baixo (Chen; Liu, 2020; Villarreal-Soto et al., 2018).

O pH e acidez estão relacionados aos teores de açúcares totais e SST presentes nas bebidas. Quanto maior o teor de açúcares totais e SST, maior a disponibilidade de substratos para fermentação, podendo eles serem metabolizados em ácidos orgânicos sob a ação dos microrganismos (Zhou et al, 2023).

Açúcares totais e SST das bebidas se diferenciaram entre as embalagens ($p \leq 0,05$), sendo maior nas embalagens de vidro (VOR, VUB e VMA). A diferença nos teores de açúcar total e SST pode ser atribuída à formulação inicial das bebidas. Aquelas que tiveram maior adição inicial de açúcares, tendem a ter níveis mais altos de SST e açúcar total (Marsh et al., 2014). As bebidas em embalagens de vidro, tiveram maior quantidade de açúcar inicial, comparado as outras bebidas como demonstrado na Tabela 1.

A bebida LMO apresentou menor turbidez em comparação com outras bebidas saborizadas ($p < 0,05$), o que pode ser atribuído a um processo de clarificação ou à menor presença de sedimentos e partículas suspensas. Estudos de Villarreal-Soto et al. (2018) e Nguyen et al. (2019) destacam como os processos de clarificação e filtração podem impactar a turbidez em bebidas fermentadas. No entanto, como as bebidas foram adquiridas em pontos de venda, não é possível confirmar se houve diferenças nos processos de produção, especialmente dentro da mesma empresa. Durante as análises, foi observado que outras bebidas saborizadas, com exceção da PUVH, que tiveram menor adição de açúcar, apresentavam mais resíduos no fundo da embalagem em comparação com o LMO. O teor de açúcar utilizado na fermentação, assim como a quantidade de compostos fenólicos e microrganismos presentes no SCOBY, pode influenciar a turbidez das bebidas do kombucha (Villarreal-Soto et al., 2018).

A Figura 2 mostra o comportamento geral das bebidas de kombucha, em função do tempo “fresca” e “a vencer”, para as análises físico-químicas, indicando diferença significativa apenas em relação à turbidez.

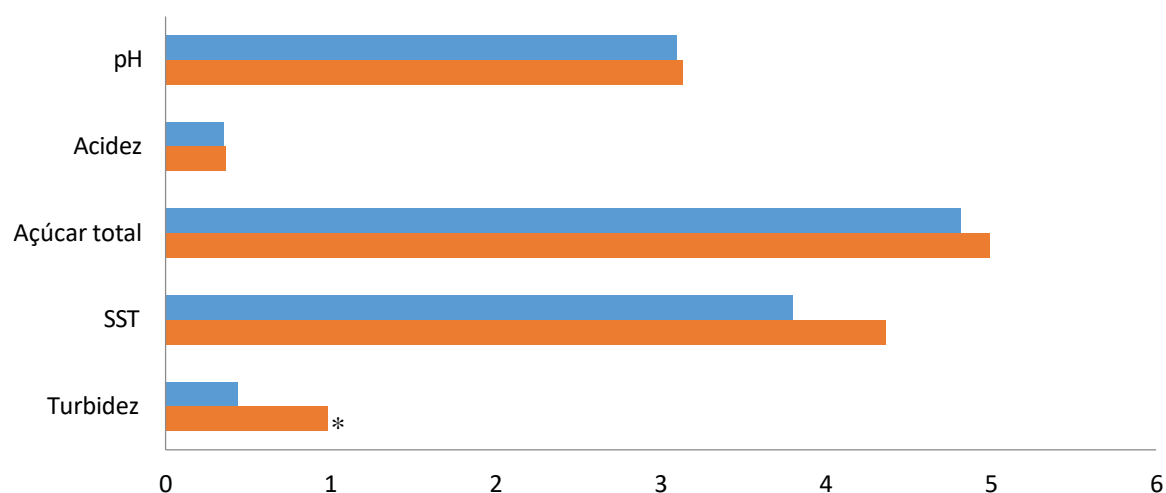


Figura 2. Comparação das bebidas de kombucha quanto as análises físico-químicas quando frescas (■) e a vencer (■).

* Presença de médias com diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade.

Durante o processo de fermentação, à medida que os microrganismos metabolizam os açúcares e outros nutrientes, eles podem produzir polissacarídeos e outros metabólitos que permanecem suspensos no líquido, aumentando a turbidez da bebida. A produção de ácidos orgânicos e formação de sedimentos ou a não dissolução completa de componentes do chá e outros ingredientes adicionados, pode contribuir para um aumento da turbidez (Jayabalan et al., 2014). A lise bacteriana, libera conteúdo intracelular na amostra, como proteínas, ácidos nucleicos e outros componentes, que contribuem para aumento da turbidez (Madigan et al., 2012).

Villarreal-Soto et al. (2018) notaram que alterações na composição química durante o armazenamento podem afetar a turbidez devido à atividade microbiana contínua e possível degradação de compostos. Da mesma forma, Liu et al. (2020) observaram que os açúcares podem aumentar à medida que os microrganismos no SCOBY continuam a metabolizar outros componentes, alterando a densidade e a composição da bebida.

Não foi observada diferença estatística ($p > 0,05$) para a interação Bebida*Tempo. Isso sugere também que o material da embalagem das bebidas não influencia nas características físico-químicas das bebidas durante seu armazenamento sob refrigeração e abrigo da luz.

Compostos Fenólicos, Atividade Antioxidante e Coordenadas de cor das bebidas kombucha

Os polifenóis são compostos bioativos essenciais nas bebidas de kombucha, conhecidos por suas propriedades antioxidantes. A atividade antioxidante pode ser medida por ensaios como ABTS e DPPH, que avaliam a capacidade das amostras de neutralizar radicais livres (Chen et al., 2019; Velicanski et al., 2014). Além disso, as coordenadas de cor das bebidas de kombucha são analisadas em termos de L* (luminosidade), chroma (saturação) e hue (tonalidade), parâmetros importantes para avaliar a aparência

visual da bebida. Esses aspectos visuais têm um papel significativo na percepção do consumidor, influenciando diretamente a aceitação e a comercialização do produto (Marsh et al., 2014; Kumar et al., 2020).

A tabela 4 mostra a comparação das bebidas em relação ao teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante pelos métodos com uso dos radicais ABTS e DPPH e coordenadas de cor L, Croma e Hue.

Tabela 4. Média e desvio padrão do teor de compostos fenólicos totais (CFT- mg EAG.mL⁻¹), ABTS (µg.mL⁻¹), DPPH (µg.mL⁻¹) e coordenadas de cor L, Chroma e Hue das bebidas de kombucha “fresca” e “a vencer”.

Bebida	Compostos Fenólicos	ABTS	DPPH	L	HUE	CHROMA
VOR	1,46±0,51 ^a	2,62±1,01 ^a	4,305±0,83 ^b	32,28±0,95 ^a	129,27±0,26 ^a	6,58±0,59 ^{ab}
VUB	1,48±0,43 ^a	3,17±1,5 ^a	4,46±1,42 ^b	30,02±0,76 ^b	119,95±0,83 ^b	6,38±0,52 ^{cd}
VMA	1,40±0,52 ^a	3,42±0,95 ^a	4,45±1,37 ^b	31,26±0,67 ^a	130,15±0,45 ^a	7,15±0,58 ^a
PHM	1,44±0,63 ^a	2,49±0,55 ^a	4,51±0,74 ^b	28,79±1,08 ^c	111,18±0,34 ^b	6,20±0,83 ^{cd}
PUVH	1,50±0,66 ^a	3,07±0,16 ^a	4,04±0,79 ^b	31,12±0,74 ^a	127,09±0,45 ^a	7,00±0,79 ^{ab}
LMO	1,55±0,51 ^a	4,22±0,87 ^a	5,52±1,07 ^{ab}	31,01±0,15 ^a	119,33±0,27 ^c	5,86±0,90 ^d
LMA	1,36±0,45 ^a	4,28±1,20 ^a	6,82±1,05 ^a	30,02±0,91 ^a	129,18±0,23 ^a	7,21±0,65 ^a

Médias e seu desvio padrão, de cada bebida com letras distintas, diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo Teste Duncan.

A presença de frutas como uva, morango, maracujá e hibisco adicionam na bebida polifenóis e vitaminas como as antocianinas e ácido ascórbico, respectivamente, que possuem potente atividade antioxidante (Tian et al., 202; Duarte-Almeida et al., 2007; Ramadan et al., 2021).

Os compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante medida pela captura do radical ABTS não diferenciaram ($p > 0,05$) entre as bebidas, contrastando com o método de captura do radical DPPH que variou de 4,04 a 6,82 µg.mL⁻¹, mostrando que os antioxidantes presentes nas amostras têm mais afinidade com o radical DPPH (Prior et al., 2005). A bebida LMA, apresentou maior capacidade antioxidante pelo método do radical DPPH, indicando uma alta capacidade antioxidante. Este resultado pode ser explicado pela concentração de carotenoides e flavonoides no maracujá. Ramadan et al. (2021) relataram que os compostos bioativos do maracujá são potentes antioxidantes, especialmente quando bem preservados.

Em relação aos resultados encontrados em relação às coordenadas de cor, tanto para L, quanto Hue e Chroma é possível reunir as bebidas em 3 grupos: I) VOR, VMA, PUVH e LMA; II) VUB e LMO; III) PHM, como observa-se também na Figura 6. As bebidas do grupo II (VUB) e III (PHM) se

diferenciaram estatisticamente do primeiro grupo e entre si ($p \leq 0,05$). Essas bebidas tiveram uma luminosidade menor. Já a bebida LMO apresentou luminosidade semelhante aos grupos I e II.



Figura 3. Comparação entre as cores das bebidas de kombuchas, de diferentes sabores e embalagens.

Estudos de Jayabalan et al. (2014) e Vitas et al. (2018) relataram resultados semelhantes, onde bebidas de kombucha contendo somente chá verde apresentaram maior luminosidade devido à menor interferência de pigmentos de frutas, assim como ocorreu com a VOR. Frutas como maracujá e uva verde também podem encaixar nesse perfil de frutas com menos pigmentos de cor e, portanto, oferecer maior luminosidade.

Por outro lado, o hibisco é rico em antocianinas, que são pigmentos responsáveis por cores vibrantes que variam do vermelho ao roxo. Estes pigmentos são conhecidos pela sua forte capacidade de absorção de luz, o que pode resultar em menor luminosidade (L^*) (Duarte-Almeida et al., 2007), como ocorreu na bebida PHM. Os pigmentos da uva bordô e morango também podem influenciar na presença de cores vibrantes que refletem na menor luminosidade.

Em relação tonalidade (Hue), os valores variaram de 111,08 a 131,04. As bebidas VOR, VMA, PUVH e LMA apresentaram maiores valores de Hue ($p \leq 0,05$) que as bebidas VUB, LMO e PHM. O ângulo Hue representa a tonalidade de cor da amostra e pode variar de 0 a 360°, sendo que o ângulo 0° ou 360° representa a cor vermelha, 90° o amarelo, 180° os tons de verde e 270° o azul (Barreiro et al., 1997; Lopez et al., 1997; Cardoso et al., 2007). Pode-se, portanto, considerar que, quanto maiores os valores de Hue, mais as bebidas tendem a ter um tom de amarelo que migra para o verde. Por outro lado, quanto menor, mais avermelhado é o tom das bebidas. A presença de antocianinas no hibisco, bem como na uva bordô e morango conferem uma coloração vermelha intensa (Duarte-Almeida et al., 2007), como visualizado na Figura 3.

A saturação (Chroma) variou de 5,86 a 7,03. Valores menores correspondem ao padrão de cor mais fraca e valores mais altos ao padrão de cor mais forte (Cardoso et al., 2007). As bebidas de coloração avermelhada (VUB, LMO e PHM) apresentaram-se mais foscas, enquanto as bebidas com coloração amarelo, apresentaram essa saturação de forma mais viva (VOR, VMA, PUVH e LMA).

Kallel et al. (2012) observaram que a adição de extratos ricos em polifenóis pode aumentar a saturação das bebidas fermentadas, corroborando os resultados encontrados neste estudo.

A Figura 4 mostra o comportamento geral das bebidas de kombucha, em função do tempo da bebida “fresca” e “a vencer”, para as análises de compostos fenólicos (CFT), antioxidante e coordenadas de cor.

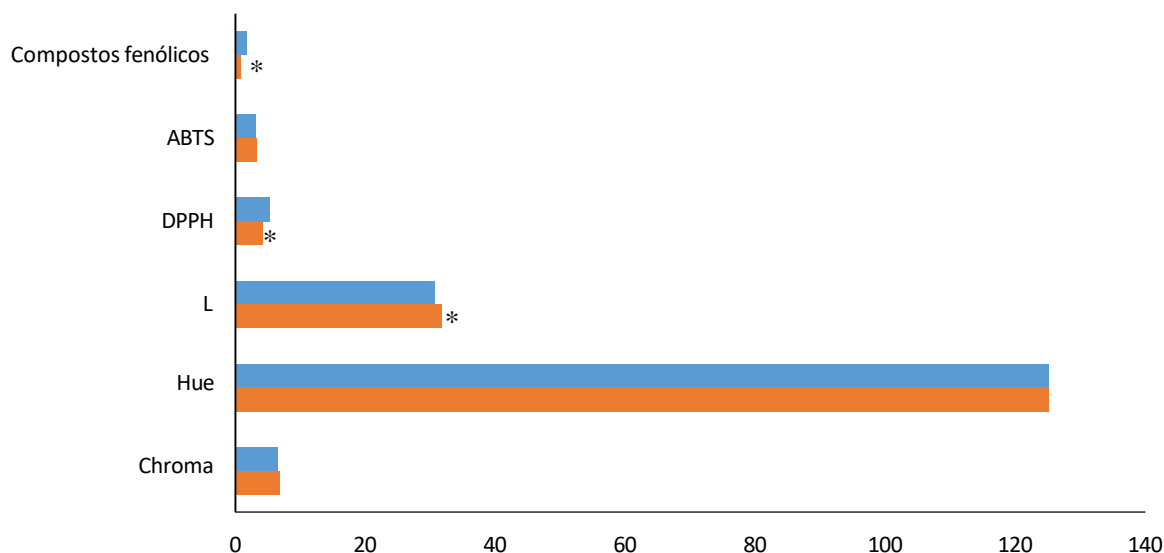


Figura 4. Comparação das bebidas de kombucha quanto ao teor de compostos fenólicos, atividade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH e coordenadas de cor L, Hue e Chroma quando frescas (■) e a vencer (■).

* Presença de diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados das bebidas de kombucha analisadas indicam uma redução significativa ($p \leq 0,05$) dos CFT e DPPH. Durante a fermentação da kombucha, os microrganismos presentes, como leveduras e bactérias ácido-láticas, metabolizam os compostos fenólicos originais presentes no chá, como ácido gálico e catequinas, transformando-os em produtos mais simples que muitas vezes possuem menor capacidade antioxidante (Jayabalan et al., 2014). Esta atividade microbiológica leva à degradação dos compostos fenólicos e antioxidantes, resultando em uma redução significativa dos CFT e da capacidade antioxidante medida pelo radical DPPH ao longo do tempo. Além disso, a degradação desses compostos é intensificada pela ação de enzimas produzidas por esses microrganismos, que podem oxidar os compostos fenólicos, diminuindo sua concentração e atividade (Jayabalan et al., 2014; Brandão et al., 2023).

Outro aspecto importante a ser considerado é que, embora a fermentação inicial possa aumentar a liberação de compostos antioxidantes devido à quebra de polímeros fenólicos, a continuidade do processo pode resultar em uma diminuição progressiva da capacidade antioxidante. Isso ocorre porque os compostos fenólicos são convertidos em formas oxidadas que possuem menor ou nenhuma

capacidade antioxidante, reduzindo a eficácia da bebida em neutralizar radicais livres (Velícanski et al., 2014; Vázquez et al., 2022).

As bebidas de kombucha apresentaram um aumento significativo ($p \leq 0,05$) nos valores de luminosidade (L^*) quando se aproximavam do vencimento, indicando uma mudança notável na aparência das bebidas após um período prolongado de fermentação. Este resultado sugere que a luminosidade das bebidas de kombucha está intimamente ligada ao tempo de armazenamento, podendo afetar a percepção visual do produto. No entanto, Chroma e Hue se mantiveram estáveis no armazenamento.

Com o tempo, a atividade microbiana contínua pode levar à degradação ou conversão de alguns compostos pigmentados. Este fenômeno foi relatado por Jayabalan et al. (2014), que observam que a fermentação prolongada pode levar à degradação de antocianinas e outros pigmentos vegetais. Esse processo resulta em uma coloração mais pálida ou desbotada das amostras. A degradação enzimática dos pigmentos pode ser uma das causas do aumento da luminosidade observada nas amostras a vencer. Esse fenômeno ocorre porque as enzimas presentes no kombucha continuam a agir sobre os pigmentos, reduzindo a intensidade de cor ao longo do tempo.

Em um estudo sobre bebidas de kombucha fermentadas com diferentes frutas, Cardoso et al. (2020) observaram que a prolongada fermentação decorreu em uma amostragem mais pálida, especialmente nas bebidas com frutas ricas em antocianinas, como uvas e morangos. A degradação desses pigmentos ao longo do tempo contribuiu para o aumento da luminosidade.

Apesar da possibilidade de alterações devido ao material da embalagem, manter as bebidas sob refrigeração e ao abrigo da luz, podem ter contribuído para menores reações envolvendo as coordenadas de cor, o que justifica a ausência de interação significativa para Bebida*Tempo ($p > 0,05$). Desta forma, o tipo de embalagem das bebidas também não teve impacto sobre os compostos fenólicos totais, atividade antioxidante (ABTS e DPPH) e nas coordenadas de cor (L, Hue e Chroma) de cada bebida ao longo do armazenamento sob refrigeração e protegido da luz.

Conclusão

Os resultados indicam que as bebidas de kombucha analisadas são influenciadas pela composição dos ingredientes, processo de fermentação e interações microbiológicas e químicas durante a fermentação. A redução na contagem de bactérias acéticas e totais em bebidas de kombucha próximas ao vencimento, em comparação com as bebidas frescas, essa redução pode comprometer tanto a funcionalidade quanto a qualidade sensorial. As análises físico-químicas mostraram variações significativas dependendo do sabor, condizentes com as diferenças normalmente encontradas na literatura. Tanto o pH quanto o teor de álcool em todas as amostras estão dentro dos limites permitidos pela legislação, indicando um controle eficaz do processo de fermentação.

A comparação entre as bebidas frescas e as próximas ao vencimento revela um aumento significativo da turbidez e da luminosidade ao longo do tempo, afetando a aparência e possivelmente a aceitação do produto pelo consumidor. A inclusão de frutas nas bebidas oferece uma variedade de compostos com potencial antioxidante adicional aos já presentes no chá verde. No entanto, observou-se uma redução desses compostos em bebidas próximas ao vencimento, o que implica propriedades funcionais diminuídas ao longo da vida de prateleira.

As análises revelaram ainda que o tipo de embalagem – seja em garrafa de vidro ou lata – não teve efeito significativo sobre as propriedades microbiológicas, físico-químicas e antioxidantes das kombuchas até a data de validade.

Em síntese, este estudo oferece dados relevantes para a indústria e consumidores de kombucha, ao evidenciar a perda de compostos bioativos, como fenólicos e antioxidantes, nas bebidas próximas ao vencimento. Esse declínio pode impactar negativamente a experiência e a expectativa do consumidor, além de comprometer a qualidade do produto. Deve ser analisado o tempo ideal, para garantir a eficácia da bebida funcional e seus benefícios à saúde. As mudanças na aparência e na estabilidade desses compostos, ao longo do tempo de armazenamento, podem afetar a percepção e a satisfação do consumidor, influenciando suas decisões de compra.

Referências

- Akbarirad, H., Pourahmad, R., & Assai, N. (2017). Evaluation of the microbial properties and antioxidant activity of different kombucha beverages. *Journal of Food Science and Technology*, 54(2), 1-10. doi: 10.1007/s13197-017-2507-2
- Association of Official Analytical Chemists. (2000). *Official methods of analysis*. Univ. Michigan, Assoc. Off. Analytical Chem.
- Association of Official Analytical Chemists. (2005). *Official methods of analysis*. Int. (18nd ed.). AOAC.
- Awika, J. M., Dykes, L., Gu, L., Rooney, L. W., & Prior, R. L. (2003). Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(23), 6657-6662. doi: 10.1021/jf034790i
- Barreiro, J. A., Milano, M., & Sandoval, A. J. (1997). Kinetics of colour change of double concentrated tomato paste during thermal treatment. *Journal of Food Engineering*, 33(3-4), 359-371. doi: 10.1016/S0260-8774(97)00078-7
- Bloor, S. J. (2001). Overview of methods for analysis and identification of flavonoids. *Methods in Enzymology*, 335, 3-14. doi: 10.1016/S0076-6879(01)35227-8
- Brandão, T. C., Oliveira, R. L., & Silva, J. C. (2023). Effects of fermentation and storage on bioactive compounds in kombucha: Phenolics, antioxidant capacity, and organic acids. *Journal of Food Science and Technology*, 60(1), 45-52. doi: 10.1007/s13197-023-05649-7

- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2019). Instrução Normativa Nº 41, de 17 de setembro de 2019. Establishes the standards of identity and quality for fermented beverages. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 18 Sep. 2019.
- Cardoso, L. M., Bedani, R., Rossi, E. A., & Isay Saad, S. M. (2007). Effect of green banana pulp on the rheological and colorimetric properties of yogurt. *Food Science and Technology International*, 13(4), 321-328. doi: 10.1177/1082013207081066
- Cardoso, S. M., Ferreira, J. A., Santos, P. M., & Lima, T. C. (2020). Impact of prolonged fermentation on the color of kombucha beverages with different fruits. *Journal of Food Research*, 8(4), 123-130. doi: 10.5539/jfr.v8n4p123
- Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 63–72. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015.
- Chen, G., & Liu, Y. (2020). The impact of packaging materials on the microbial community and organic acid production in kombucha. *Food Research International*, 132, 109058. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109058
- Chen, S., Wang, Y., Chen, P., & Zhang, H. (2014). Characteristics of starch-based films plasticised by glycerol and by the ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate: A comparative study. *Carbohydrate Polymers*, 111, 961-968. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.05.058>.
- Chen, Y., & Zhang, H. (2019). Global transcriptome analysis of *Pseudomonas chlororaphis* P3X revealed its potential biocontrol properties on plant pathogens. *BMC Genomics*, 20(1), 1-15. doi: 10.1186/s12864-019-5923-7
- Cote, C., Valeur, N., & Loza, P. (2019). Antimicrobial activity of hibiscus extracts against common pathogens. *Journal of Herbal Medicine*, 15(3), 112-119. doi: 10.1016/j.hermed.2019.01.004.
- Cvetković, D. D., Markov, S. L., Velićanski, A. S., & Tumbas, V. T. (2014). Antioxidant and antimicrobial activity of kombucha beverages with different content of black tea. *Food and Bioprocess Processing*, 92(2), 369-374. doi: 10.1016/j.fbp.2013.09.002
- D'Souza, J. L., Pandit, M. A., & Nadaf, A. B. (2021). Comparative microbial analysis of commercial and home-made kombucha tea. *LWT*, 140, 110694. doi: 10.1016/j.lwt.2020.110694
- Duarte-Almeida, J. M., Novoa, A. V., Linares, A. F., Lajolo, F. M., & Genovese, M. I. (2007). Antioxidant activity of phenolics compounds from different fruits. *Journal of Food Science*, 72(2), 58-63. doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00279.x.
- Dufossé, L., Fouillaud, M., & Caro, Y. (2019). Kombucha beverage: a natural functional drink with antimicrobial, antioxidant, and health-protective properties. *Beverages*, 5(3), 63. doi: 10.3390/beverages5030063.
- Filippis, F.D et al. A influência de alimentos fermentados na composição e saúde da microbiota intestinal. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, v. 17, n. 11, p. 22-34, 2020. DOI: 10.1038/s41575-019-0191-8.
- Gadaga, T. H., Mabvasvi, T., Mafongoya, P. L., & Chikukura, L. F. (2018). Evaluation of the quality of fermented beverage made from blends of indigenous teas with sugarcane juice during storage. *Food Science & Nutrition*, 6(6), 1497-1504. doi: 10.1002/fsn3.717.

- Gaggìa, F., Baffoni, L., Galiano, M., Nielsen, D. S., Jakobsen, R. R., Castro-Mejía, J. L., ... & Di Gioia, D. (2019). Kombucha beverage from green, black and rooibos teas: a comparative study looking at microbiology, chemistry and antioxidant activity. *Nutrients*, 11(1), 1-17. doi: 10.3390/nu11010114.
- Goh, W. N., Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, A., & Karim, A. A. (2012). Fermentation of black tea broth (Kombucha): I. Effects of sucrose concentration and fermentation time on the yield of microbial cellulose. *International Food Research Journal*, 19(1), 109-117.
- Han, W., Xu, Z., & Zhou, Q. (2020). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from *Inonotus obliquus* and evaluation of its anti-tumor activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 147, 891-901. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.11.170.
- Ibrahim, S.S et al. Efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios do chá de kombucha: Uma revisão. *Journal of Functional Foods*, v. 82, p. 104521, 2022. DOI: 10.1016/j.jff.2021.104521.
- Instituto Adolfo Lutz. (IAL) (2008). Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 1. ed. digital. São Paulo: IMESP.
- Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea—Microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, 538–550. doi: 10.1111/1541-4337.12073.
- Jayabalan, R., Malini, K., & Gunasekaran, P. (2021). Antioxidant and antimicrobial properties of beverages obtained by fermenting fruit juices and tea brew. *Fermented Foods and Beverages Series*. doi: 10.1016/B978-0-12-816664-4.00001-0.
- Kallel, L., Desouky, S., Elmarzouki, N., & Al-Qurashi, A. (2012). The influence of polyphenol-rich extracts on the saturation of fermented beverages. *Journal of Food Biochemistry*, 36(5), 547-554. doi: 10.1111/j.1745-4514.2011.00588.x.
- Kanner, J., Harel, S., & Granit, R. (2001). Betalains—A new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5178-5185. doi: 10.1021/jf010456f.
- Kapp, J. M., & Sumner, W. (2019). Kombucha: A systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Annals of Epidemiology*, 30, 66-70. doi: 10.1016/j.annepidem.2019.06.001.
- Koirala, S., & Anal, A. K. (2021). Probiotics-based foods and beverages as future foods and their overall safety and regulatory claims. *Future Foods*, 3, 100013. doi: 10.1016/j.fufo.2021.100013.
- Kumar, V., Joshi, A., & Kumar, P. (2020). Kombucha: Technology, microbiology, production, composition and therapeutic value. *International Journal of Food Science and Technology*, 55(2), 378-388. doi: 10.1111/ijfs.14217.
- Laavanya, D., Shirkole, S., & Balasubramanian, P. (2021). Current challenges, applications and future perspectives of SCOBY cellulose of Kombucha fermentation. *Journal of Cleaner Production*, 295, 126454. doi: 10.1016/j.jclepro.2021.126454.
- Lane, J. H.; Eynon, L. Determination of reducing sugars by Fehling's solution with methylene blue indicator, Normam Rodge, London, 8p., 1934.
- Lin, H. H., Chen, J. H., Wang, C. J., & Wang, C. Y. (2011). Hibiscus sabdariffa extract reduces serum cholesterol in men and women. *Nutrition Research*, 31(6), 429-434. doi: 10.1016/j.nutres.2011.05.010.

- Lin, J., Han, X., Li, X., Yang, Y., Sun, X., & Zhang, J. (2017). Morphology, crystallization and mechanical properties of high-density polyethylene/poly (lactic acid)/cellulose nanocrystals composites. *Journal of Polymers and the Environment*, 25(1), 109-118. doi: 10.1007/s10924-016-0797-6.
- Liu, Y., Wei, S., & Liao, M. (2013). Optimization of ultrasonic extraction of phenolic compounds from *Euryale ferox* seed shells using response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, 49, 837-843. doi: 10.1016/j.indcrop.2013.07.023
- Liu, Y., Zheng, X., Xu, X., Zhou, G., & Zhang, W. (2020). The effect of SCOBY on the quality and microbial community of kombucha. *Journal of Food Science and Technology*, 57(1), 193-202. doi: 10.1007/s13197-019-04091-4.
- Lopez, P., Barreiro, J. A., & Sandoval, A. J. (1997). Thermodynamic properties of tomato paste. *Journal of Food Science*, 62(5), 901-905. doi: 10.1111/j.1365-2621.1997.tb15007.x.
- Ma, Z. F., Ahmad, J., Zhang, H., Khan, I., Muhammad, S., & Chen, Y. (2018). Evaluating the antimicrobial and antioxidant capacity of purple sweet potato extract in a kombucha matrix. *Food Bioscience*, 22, 80-85. doi: 10.1016/j.fbio.2018.01.006.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A., & Clark, D. P. (2012). *Brock Biology of Microorganisms* (13th ed.). San Francisco: Benjamin Cummings.
- Marsh, A. J., O'Sullivan, O., Hill, C., Ross, R. P., & Cotter, P. D. (2014). Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiology*, 38, 171-178. doi: 10.1016/j.fm.2013.09.003
- Mason, T. J., Paniwnyk, L., & Lorimer, J. P. (2015). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 3(3), S253-S260. doi: 10.1016/j.ultsonch.2015.02.009.
- McKay, D. L., & Blumberg, J. B. (2010). A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytotherapy Research*, 20(7), 519-530. doi: 10.1002/ptr.1900.
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). (2019). Mapa define padrões de qualidade e identidade da Kombucha. Brasília.
- Ortiz, L., Ruiz-Moyano, S., Regalado-González, C., Rodríguez, J. M., & García, P. (2020). Kombucha fermentation: microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 322, 108570. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108570.
- Pathare, P. B., Opara, U. L. O., & Al-Said, F. A. (2012). Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A review. *Food Bioprocess Technology*, 5(4), 1173-1181. doi: 10.1007/s11947-012-0840-6.
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290-4302. doi: 10.1021/jf0502698.
- Ramadan, M. F., Farag, M. A., & Rahman, A. A. (2021). Hibiscus sabdariffa L. as a source of nutrients, bioactive compounds, and antioxidants: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 58(3), 1-15. doi: 10.1007/s13197-020-04753-1.
- Scherer, R., & Godoy, H. T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112(3), 654-658. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.06.026.

- Silva, P. H., Andrade, A. P., & Lima, L. A. (2019). Evaluation of phenolic compounds and antioxidant activity in commercial passion fruit beverages. *Food Chemistry*, 276, 23-29. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.09.184.
- Sreeramulu, G., Zhu, Y., & Knol, W. (2019). Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(36), 9805-9813. doi: 10.1021/acs.jafc.9b03947.
- Teoh, A. L., Heard, G., & Cox, J. (2020). Yeast ecology of kombucha fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 330, 108819. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108819.
- Tian, L., Pang, Y., He, J., Tang, L., Bao, Y., & Yang, X. (2020). Antioxidant and anti-inflammatory properties of polyphenols extracted from fruits. *Journal of Food Science and Technology*, 57(12), 4342-4351. doi: 10.1007/s13197-020-04529-7.
- Vázquez, M. J., González, M. J., López, M., García, M., & Medina, M. (2022). Stability of bioactive compounds in kombucha beverages during storage and influence on antioxidant activity. *Food Research International*, 162, 111929. doi: 10.1016/j.foodres.2022.111929
- Velicanski, A. S., Cvetkovic, D. D., Markov, S. L., Tumbas, V. T., Savatovic, S. M., & Antic, M. S. (2014). Antimicrobial and antioxidant activity of kombucha beverage enriched with ginseng. *Food Science and Technology International*, 20(3), 271-278. doi: 10.1177/1082013213479685.
- Velićanski, A., Cvetković, D., & Markov, S. (2014). Characteristics of kombucha fermentation on medicinal herbs from Lamiaceae family. *Food and Bioprocess Technology*, 7(3), 731-742. doi: 10.1007/s11947-013-1094-5
- Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. P., & Taillandier, P. (2018). Understanding kombucha tea fermentation: A review. *Journal of Food Science*, 83(3), 580-588. doi: 10.1111/1750-3841.14068.
- Vitas, J. S., Malbasa, R. V., Grahovac, J. A., & Loncar, E. S. (2018). The combined effect of glucose and ethanol on the growth and fermentation activity of kombucha microflora. *International Journal of Food Microbiology*, 286, 1-9. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.07.032.
- Yang, Z., Baldermann, S., & Watanabe, N. (2022). Current state and perspectives in tea aroma research. *Food Research International*, 137, 109709. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109709.
- Zhang, Y., Li, M., & Zhang, W. (2020). The impact of synthetic additives on the phenolic content and antioxidant activity in plastic-packaged beverages. *Food Additives and Contaminants*, 37(4), 583-590. doi: 10.1080/19440049.2020.1723738.
- Zhou, X., Zhao, Y., & Zhang, Z. (2023). Impact of total sugar and soluble solids content on organic acid production in kombucha fermentation. *Journal of Food Science and Technology*, 60(1), 10-19. doi: 10.1007/s13197-023-05612-9.

CAPÍTULO 2

UTILIZAÇÃO DA SCOBY DE KOMBUCHA NO DESENVOLVIMENTO DE EMBALAGEM BIODEGRADÁVEL PARA PLANTIO DE MUDAS

UTILIZAÇÃO DA SCOPY DE KOMBUCHA NO DESENVOLVIMENTO DE EMBALAGEM BIODEGRADÁVEL PARA PLANTIO DE MUDAS

Carolina Paula Gouvêa de Souza^{1*}; André Sartori Cardeiro¹; Amanda Azevedo Bertolazi; Christiane Mileib Vasconcelos¹

1 Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal, Universidade Vila Velha, UVV, Vila Velha, ES, Brasil.

2 Laboratório de Microbiologia Ambiental e Biotecnologia, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal, Universidade Vila Velha, UVV, Vila Velha, ES, Brasil.

*carolina.gouvea2007@hotmail.com

Resumo: O setor agrícola é um grande consumidor de plásticos e o descarte inadequado traz problemas ambientais. Este estudo objetivou desenvolver uma embalagem a partir da SCOPY de kombucha para plantio de mudas de mamão. As propriedades mecânicas apontaram a embalagem SKZ como a mais adequada, devido sua menor rigidez e maior flexibilidade. Durante o transplante, foram observados que as embalagens menores (6 e 8 cm) restringiam o crescimento das mudas, enquanto a embalagem de 10 cm permitiu maior acúmulo de peso seco, proporcionando adaptação às condições de menor umidade. Na análise de biodegradabilidade, a embalagem teve uma redução média de 65,5% do peso inicial em 7 dias de enterramento e degradação completa (100%) em 14 dias. Os resultados obtidos demonstram o potencial de utilização da SCOPY como componente das embalagens biodegradáveis como substitutos sustentáveis aos plásticos convencionais embora sejam necessárias configurações adicionais, como o controle mais eficiente da umidade do substrato, para maximizar seu desempenho.

Palavras-chave: Embalagem, Sustentabilidade, Biodegradabilidade, Resíduo.

1. Introdução

O aumento da produção e utilização de plásticos tem se tornado uma preocupação global significativa, impactando negativamente o ambiente, a economia e a sociedade. A produção global de plásticos apresentou um aumento, alcançando aproximadamente 390 milhões de toneladas em 2021, em comparação às 367 milhões de toneladas registradas em 2020 ^[1]. Essa tendência, é preocupante, pois agrava os problemas ambientais, como a poluição dos ecossistemas terrestres e marinhos, além de representar sérios riscos à saúde e à biodiversidade ^[2,3]. O uso extensivo de plásticos, aliado à falta de gestão adequada de resíduos, representa uma ameaça significativa ao ambiente^[4].

No âmbito econômico, a dependência de plásticos não biodegradáveis gera custos elevados de gestão de resíduos e impacta negativamente a economia verde. Na agricultura, importante setor econômico do país, o uso de plásticos tem sido benéfico para aumentar a produtividade das culturas, mas também levanta preocupações sobre a gestão de resíduos não degradáveis após o uso^[5]. O setor agrícola é um grande consumidor de plásticos, com estimativas indicando que cerca de 10% da produção total de plástico está associada a usos agrícolas^[6]. Além disso, o descarte e a degradação inadequados de plásticos agrícolas levam à formação de microplásticos, que podem se acumular nos solos e entrar na cadeia alimentar ^[7].

A reciclagem de plásticos usados na agricultura enfrenta desafios importantes, tanto técnicos quanto econômicos. Altas taxas de contaminação por resíduos orgânicos e químicos aumentam os custos de processamento e dificultam a reciclagem eficiente^[6]. Além disso, o baixo valor comercial dos materiais reciclados e os mercados finais limitados desestimulam investimentos na cadeia de reciclagem^[8]. Especificamente, os filmes plásticos, amplamente utilizados no setor, apresentam características que dificultam sua remoção completa do solo sem rasgos, resultando em fragmentos que permanecem e se acumulam no ambiente^[9].

Desta forma, com o aumento do uso de plásticos e seus impactos negativos, a necessidade de desenvolver e adotar alternativas biodegradáveis é urgente. As embalagens

biodegradáveis surgem como uma alternativa para mitigar a poluição por polietileno, sendo projetados para se biodegradarem no solo^[10]. A utilização de embalagens biodegradáveis derivados de resíduos provenientes do processamento de alimentos e bebidas, como de frutas e hortaliças, está sendo investigada como uma solução ambientalmente amigável, embora desafios econômicos e técnicos ainda precisem ser superados para sua viabilidade comercial^[11].

Dentre esses tipos de resíduos, encontra-se a SCOPY (*Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras*) essencial no processo de fermentação do kombucha, uma bebida fermentada

popular. A SCOBY é composta principalmente por celulose bacteriana e pode ser reutilizada diversas vezes, entre 5 e 10 lotes, dependendo da saúde e vitalidade da cultura. Durante cada ciclo de fermentação, uma nova camada da SCOBY se forma, levando ao aumento progressivo de seu volume. Esse processo de multiplicação pode ser benéfico, pois o excesso de SCOBY pode ser utilizado em várias aplicações, incluindo biomateriais ^[12,13]. No entanto, o descarte inadequado e em excesso de SCOBY apresenta desafios ambientais. Geralmente, a SCOBY descartada tem sido tratado como resíduo, muitas vezes destinada a aterros sanitários, onde contribui para o acúmulo de resíduos orgânicos^[12]. Durante sua decomposição em condições anaeróbicas, esses resíduos podem liberar metano, um gás de efeito estufa, impactando nas mudanças climáticas^[14]. Além disso, práticas de descarte inadequadas podem resultar na introdução de espécies microbianas não nativas em ecossistemas locais, podendo desestabilizar o equilíbrio ecológico^[15].

As implicações ambientais do descarte de SCOBY destacam a necessidade de práticas sustentáveis. Embora algumas abordagens inovadoras tenham sido exploradas, como a conversão de SCOBY em materiais biodegradáveis essas soluções ainda não são amplamente adotadas^[12]. A prática crescente de descartar a SCOBY sem explorar seus usos, não apenas representa um desperdício de um recurso valioso, mas também agrava a degradação ambiental. Portanto, é importante promover a conscientização sobre o descarte e a utilização sustentáveis de SCOBY para mitigar seu impacto ambiental^[14].

Desta forma, a SCOBY pode ser uma alternativa inovadora para a produção de embalagens biodegradáveis, oferecendo uma solução sustentável, incluindo sua utilização na agricultura. O uso de materiais como a SCOBY para embalagens agrícolas representa uma inovação promissora, alinhando-se com os objetivos de sustentabilidade econômica, ambiental e social. A transição para embalagens biodegradáveis e a melhoria das práticas de gestão de resíduos são essenciais para mitigar os efeitos adversos dos plásticos de forma eficaz^[16].

Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo obter embalagem de SCOBY de kombucha com características mecânicas mais adequadas na produção de tubetes para plantio de mamão e avaliação quanto aos parâmetros de crescimento vegetal e biodegradabilidade da embalagem no solo.

2. Material e Métodos

2.1 Material

As culturas simbióticas de bactérias e leveduras (SCOBYs) utilizadas no estudo foram cedidas por uma empresa especializada na comercialização de kombuchas no estado do Espírito Santo. Estas culturas foram devidamente armazenadas em recipientes fechados (sem contato com oxigênio) e mantidos em temperatura ambiente por 10 dias, sem a presença do chá como fonte de nutrientes, evitando assim sua multiplicação. As culturas ficaram no Laboratório de Biotecnologia de Alimentos (LABIA) da Universidade Vila Velha (UVV) até o momento da realização dos testes.

2.2 Métodos

2.2.1 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em 2 etapas, sendo elas:

1ª etapa: Desenvolvimento de embalagens com utilização da SCOBY de kombucha, agente plastificante e polímero natural; e seleção da embalagem com características mecânicas mais adequadas na produção de tubetes.

2ª etapa: Utilização da embalagem de SCOBY selecionada, na produção de tubetes para plantio de mudas de mamão e avaliação quanto aos parâmetros de crescimento vegetal e degradabilidade da embalagem no solo.

2.2.2 Definição da matriz polimérica

Inicialmente foram realizados pré-testes para definição do polímero a ser utilizado nas embalagens, além da determinação das quantidades do polímero e agente plastificante a serem incorporados. Após a definição foram preparadas soluções contidas ou não de agente plastificante (0 e 2%) e de diferentes quantidades do polímero (5, 10 e 15%). A composição dos filmes está apresentada na Tabela 1 e foto, na Figura 1.

Tabela 1
Formulação das embalagens de SCOBY de kombucha.

Formulação	Scoby (%)	Polímero (%)	Agente Plastificante (%)
SKZ	98	-	2
SK5	95	5	-
SKZ5	93	5	2
SK10	90	10	-
SKZ10	88	10	2

SK15	85	15	-
SKZ15	83	15	2

A obtenção da embalagem foi realizada pelo método de *casting*, com adaptações^[17]. Inicialmente, as SCOBYs foram purificadas por meio de lavagens sucessivas com água corrente e submetidas em solução de 1% de ácido acético para remoção de resíduos e contaminantes microbiológicos. Em seguida, preparou-se uma solução misturando a SCOBY com o polímero e, em seguida, o agente plastificante. Após homogeneização em liquidificador doméstico, a solução foi submetida à vibração em uma plataforma Protecni® para remoção de bolhas de ar. Posteriormente, a solução foi moldada em formas antiaderentes e submetidas a um processo de secagem sob condições controladas. O processo de secagem foi finalizado quando as embalagens estavam suficientemente secas para serem removidas das formas ainda intactas (Figura 1).

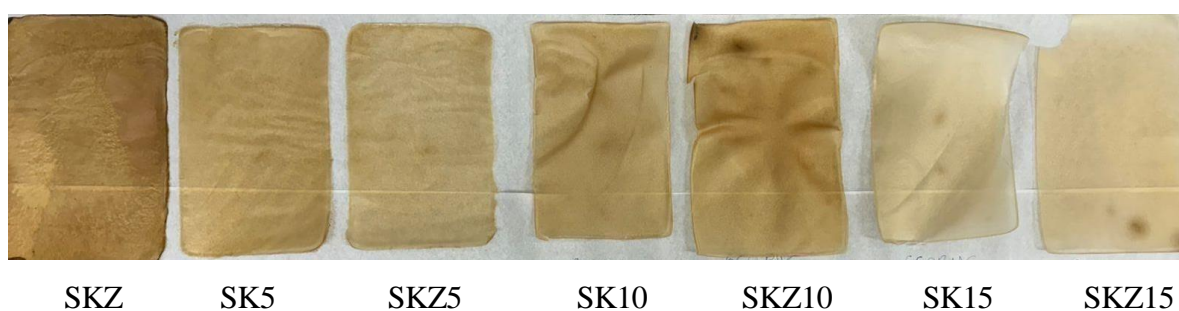


Figura 1. Embalagens de SCOBY com e sem plastificante, e diferentes concentrações de polímero.

2.2.3 Propriedades Mecânicas

As embalagens foram avaliadas em 3 repetições e em triplicata quanto às suas propriedades mecânicas por meio dos ensaios de tração e perfuração, ambos realizados utilizando-se o texturômetro marca Stable Micro Systems, modelo TA.XT ExpressC com célula de carga 13 Kg.

2.2.3.1 Teste de Tração

Os ensaios de tração para ruptura foram realizados de acordo com a ASTM D 882-02, com algumas modificações. Amostras retangulares (100 mm x 25 mm) foram fixadas em probes roller grips (modelo A/TG) e tracionadas a uma velocidade de 10 mm/s, partindo-se de uma distância inicial de 50 mm, até a ruptura. A resistência máxima à tração ($R_{m\acute{a}x}$) foi calculada conforme a equação 1 (de acordo com a sua espessura mínima). A porcentagem de alongação

na ruptura foi calculada conforme a equação 2. A força máxima e o alongamento do corpo de prova na ruptura foram obtidos das curvas força-deformação, com a ajuda do software EXPONENT, versão 4.0.13.0. Estas análises foram realizadas, em triplicata, no Laboratório de Biotecnologia de Alimentos da Universidade Vila Velha (UVV).

$$R_{m\acute{a}x} = F_{m\acute{a}x} / A_{orig} \quad (\text{Equa\c{c}\~{a}o 1})$$

($F_{m\acute{a}x}$: força máxima aplicada (N), A_{orig} : área original da amostra (m^2 ou mm^2 , considerando a espessura mínima)).

$$Er(\%) = \Delta L_r / L_0 \times 100 \quad (\text{Equa\c{c}\~{a}o 2})$$

(ΔL_r : alongamento do corpo de prova na ruptura, L_0 : comprimento inicial da amostra (distância entre as garras)).

2.2.3.2 Teste de Perfuração

A força de perfuração e a deformação no ponto de quebra do material foram determinadas através do teste de perfuração de acordo com a ASTM D 828 para as membranas com espessura de aproximadamente 1 mm.

Nos testes de perfuração, as embalagens biodegradáveis foram fixadas em uma célula com 30,0 mm de diâmetro e perfurados utilizando um probe cilíndrico de aço inoxidável de 3 mm de diâmetro, com uma velocidade de penetração de 1mm/s. A força para perfuração (FP) da embalagem biodegradável foi determinada diretamente nas curvas de Tensão Máxima (TM) x Deformação da embalagem (DE). De acordo com Sobral et al. ^[18], a deformação na perfuração (DP) é calculada utilizando a Equação 3, considerando a tensão distribuída em toda a superfície do corpo de prova e a deformação sendo uniforme.

$$DP = \Delta l / l_0 = [(D^2 + l_0^2)^{0,5} - l_0] / l_0 \quad (\text{Equa\c{c}\~{a}o 3})$$

(l_0 : o comprimento inicial do corpo de prova (raio do círculo da amostra=15 mm), D = deslocamento do probe na perfuração.)

2.2.4 Produção dos tubetes

A embalagem de Scoby selecionado, de acordo com suas características mecânicas, foi utilizada para produção de tubetes. Os tubetes foram moldados em formato cilíndrico similar aos tubetes plásticos, que possuem 12 cm de comprimento e 5 cm de diâmetro.

Assim, foram produzidos tubetes de SCOBY de 5 cm de diâmetro na abertura superior e 6, 8, 10 e 12 cm de comprimento. A Figura 2 mostra os tubetes de SCOBY e de plástico (controle), utilizados no experimento.

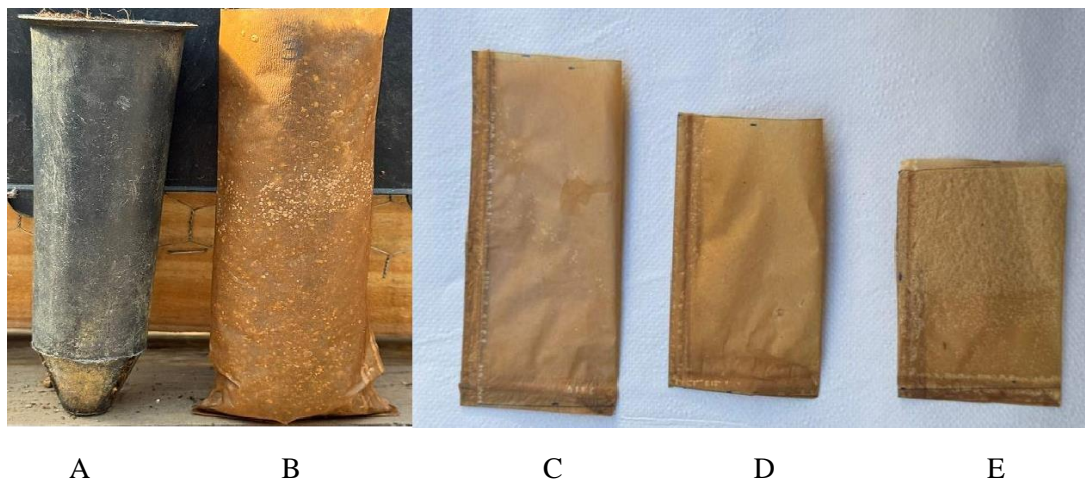


Figura 2- Tubete plástico (A), Tubete de SCOBY de 12 cm (B), 10 cm (C), 8 cm (D) e 6 cm (E), utilizado no experimento.

2.2.5 Plantio vegetal

Essa etapa do experimento foi conduzida na casa de vegetação do Campus Biopráticas da Universidade Vila Velha-ES (Latitude de 20°21'03" S; Longitude de 40°18'08" W; Altitude de 10m), sob condições de luminosidade e temperatura ambiente. As sementes de mamão Feltrin® foram compradas no comércio varejista de Cariacica/ES e para o plantio, foi utilizado como substrato o produto de nome comercial Carolina Soil®, com a adição do fertilizante Forth®.

Os tubetes foram preenchidos manualmente, com batidas para ajuste do substrato, realizando reposição e reprodução dessas etapas até completá-los. Depois, os tubetes foram colocados na grade de apoio, sendo feita uma adaptação para o tamanho dos tubetes menores, e irrigados. Cada tubete recebeu na sequência três sementes de mamão para plantio. A inspeção dos tubetes foi realizada diariamente até a germinação, após 25 dias, para então, haver a retirada das mudas. A Figura 3 ilustra o procedimento realizado.



Figura 3 - Processo de enchimento e apoio dos tubetes de SCOBY e de plásticos.

2.2.6 Transplante das mudas

O transplante das mudas mãe foi realizado manualmente, após 25 dias do processo de germinação, para vasos plásticos de 1,7 L. As mudas foram transplantadas de 3 formas diferentes:

- 1) Transplante da muda sem remoção do tubete de SCOBY (6, 8 e 10 cm com embalagem);
- 2) Transplante da muda após remoção do tubete de SCOBY (6, 8 e 10 cm sem embalagem); e
- 3) Transplante da muda após remoção do tubete de plástico (Tubete de plástico 12cm).

Em cada vaso foi utilizada apenas uma única muda para transplante, removendo as outras que haviam germinado.

A Figura 4 ilustra o início do processo de manipulação dos tubetes de SCOBY. A supervisão das mudas transplantadas ocorreu diariamente para manter o substrato úmido. As mudanças planejadas nos vasos foram observadas por um período de 30 dias.



Figura 4 - Processo de transplante das mudas com e sem tubetes de SCOBY

2.2.7 Análises dos parâmetros de crescimento vegetal

Ao final dos 30 dias após o transplante para o vaso, as plantas foram retiradas e as raízes lavadas com água corrente para remoção do substrato. A parte aérea e as raízes foram separadas,

medidas e pesadas, para determinação do peso fresco. Em seguida, foram acondicionados em sacos de papel grafite e submetidos à secagem em estufa, com circulação forçada de ar a 60 °C, até peso constante^[19].



Figura 5 – Separação da parte aérea e raiz para secagem.

2.2.8 Análise de biodegradabilidade dos tubetes de SCOBY

A degradabilidade dos tubetes de SCOBY foi determinada por meio da medição da perda de massa das embalagens expostas ao solo. Amostras retangulares dos tubetes de SCOBY foram enterrados em vasos contendo substrato e fertilizante, nas mesmas proporções utilizadas para plantio do mamão, a uma profundidade suficiente para que permanecessem completamente cobertos (Figura 4). A irrigação das embalagens foi realizada nos mesmos dias e com a mesma quantidade de água utilizada para as plantas.

A cada 7 dias (7, 14 e 21 dias), uma embalagem era retirada cuidadosamente do vaso, limpa e pesada, permitindo determinar a perda de massa ao longo do período de exposição (equação 4).

$$PM (\%) = \frac{M_0 - M_f}{M_0} \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

(PM: percentual de perda de massa (%); M_0 : massa inicial da amostra (g); M_f : massa da amostra após o tempo (g)).



Figura 6 - Processo de transplante dos tubetes de SCOBY

2.2.9 Análise estatística

Os dados referente às análises mecânicas foram analisados estatisticamente por meio da Análise de Variância (ANOVA), a 5% de probabilidade. Para resultados significativos ($p \leq 0,05$) em relação as embalagens, as médias foram comparadas pelo teste Duncan na mesma probabilidade.

Em relação ao crescimento vegetal, foi realizada uma análise descritiva dos dados, com apresentação das respectivas médias e desvio padrão para cada variável independente analisada.

Todas as análises foram realizadas utilizando o programa estatístico Statistical Analysis System (SAS University Studio Online, Cary, North Carolina).

3. Resultados e Discussão

3.1 Caracterização das embalagens de SCOPY

A avaliação dos materiais da embalagens de SCOPY destinados a aplicações de plantio exige análise de propriedades específicas, particularmente a flexibilidade e a rigidez. A flexibilidade e a facilidade de perfuração são cruciais não apenas para a formação do tubete, mas também, para permitir que as raízes das plantas penetrem no material durante o crescimento. A seleção da formulação ideal para este estudo foi baseada na avaliação dessas propriedades críticas, que influenciam diretamente a usabilidade e a eficácia da embalagem em contextos agrícolas.

As propriedades mecânicas dos materiais biodegradáveis podem ser adaptadas para aumentar sua flexibilidade e características de ruptura. Essa flexibilidade não apenas auxilia no crescimento físico da planta, mas também contribui para a biodegradabilidade do material, garantindo que ele não deixe resíduos nocivos no solo^[20].

As características mecânicas das embalagens nos testes de tração e perfuração, realizadas a partir das formulações descritas na Tabela 1, estão previstas na Tabela 2.

Tabela 2 – Média e Desvio Padrão dos Testes Mecânicos: Resistência Máxima à Tração ($R_{m\acute{a}x}$), Elongação na Ruptura (E), Tensão Máxima à Perfuração (TM) e Deformação da Embalagem (DE) das embalagens de SCOPY.

Formulação	Tração		Perfuração	
	$R_{m\acute{a}x}$ [MPa]	E [%]	TM (g)	DE (mm)
SKZ	0,013±0,0020 ^d	103,10±0,05 ^c	382,40±1,14 ^g	0,96±0,02 ^c
SK5	0,033±0,0014 ^c	102,78±0,06 ^c	642,97±1,27 ^f	0,94±0,01 ^c
SKZ5	0,037±0,0015 ^c	102,81±0,25 ^c	1104,23±1,10 ^d	0,97±0,20 ^c
SK10	0,039±0,0028 ^{bc}	104,12±0,14 ^a	649,18±0,25 ^e	1,16±0,09 ^b
SKZ10	0,047±0,0042 ^{ab}	103,34±0,48 ^{bc}	1592,32±0,12 ^a	1,27±0,90 ^{ab}

SK15	0,038±0,0010 ^{bc}	103,38±0,34 ^{bc}	1292,76±0,50 ^c	1,30±0,02 ^a
SKZ15	0,050±0,0080 ^a	104,00±0,42 ^{ab}	1373,71±0,98 ^b	1,32±0,01 ^a

Médias na mesma coluna, com letras iguais, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo Teste Duncan.

Os valores de resistência máxima ($R_{m\acute{a}x}$) e tensão máxima (TM) indicam a capacidade do material de suportar forças aplicadas até a falha, refletindo a rigidez das embalagens^[21]. No entanto, em nosso experimento, a rigidez das embalagens pode dificultar a perfuração das raízes, durante o crescimento da muda, interferindo no seu desenvolvimento. Desta forma, a formulação SKZ, sem adição de polímero, apresentou menor resistência à força máxima em comparação com as demais ($p < 0,05$), podendo facilitar assim, a penetração pelas raízes das plantas.

A Figura 5 ilustra as embalagens de SCOPY em formato de tira, mostrando sua flexibilidade e rigidez antes e depois de ser dobrada ao meio. Essa representação visual ressalta a capacidade do material de manter a integridade estrutural ao mesmo tempo em que fornece características necessárias para aplicações práticas, corroborando os resultados encontrados de resistência e tensão máximas.



Figura 5 – Amostras das embalagens de SCOPY antes e após a dobra manual.

As amostras de embalagens de SCOPY SK5, SK10, SKZ10, SK15 e SKZ15, demonstraram falhas estruturais, tornando-as inadequadas para moldagem no formato de tubetes. Apenas as amostras SKZ e SKZ5 mantiveram sua integridade sob estresse mecânico. No entanto, a amostra SKZ5, em particular, apresentou uma rigidez acentuada, conforme observado na imagem, onde a embalagem não se dobra completamente quando submetida a força de dobramento.

A importância dessa característica é apoiada por pesquisas que indicam que materiais com menor rigidez podem facilitar o crescimento das raízes, permitindo que elas rompam as barreiras da embalagem de forma mais eficaz^[22,23]. Em contraste, amostras que incluíram agentes plastificantes, particularmente aquelas com maiores concentrações de polímeros,

SKZ10 e SKZ15, demonstraram maior rigidez ($p < 0,05$) e exigiram maior tração para romper. Esse resultado enfatiza que a interação entre plastificantes e polímeros atua nas propriedades mecânicas de embalagens, a adição de plastificantes, pode modificar a estrutura do polímero, concentrações mais altas de polímero, leva a um aumento da rigidez devido à formação de uma rede mais densa que limita o movimento das cadeias, levando a uma maior resistência à tração^[24,25,26].

Os resultados de alongação (E) e deformação (DE) dos testes mecânicos das embalagens de SCOPY fornecem a flexibilidade e adaptabilidade desses materiais sob estresse. Os valores de alongação e deformação indicam até que ponto o material pode esticar antes de quebrar ou perfurar. As formulações com concentrações menores de polímero diferem significativamente ($p \leq 0,05$) daquelas com concentrações maiores para $R_{m\acute{a}x}$ e DE. Essa diferenciação destaca o impacto da concentração de polímero nas características de desempenho da embalagem, particularmente em termos de flexibilidade e funcionalidade geral^[27].

Concentrações menores de polímero tendem a resultar em rigidez reduzida e flexibilidade aumentada. Isso é particularmente relevante em aplicações agrícolas, onde a capacidade das raízes das plantas de penetrar na embalagem é crucial para um crescimento saudável. Isso se alinha com as observações feitas por Shaikh et al.^[26] que enfatizam a importância de otimizar as propriedades mecânicas em embalagens biodegradáveis para melhorar sua funcionalidade em aplicações alimentares e agrícolas. Contudo, a depender da finalidade da embalagem, as formulações com concentrações maiores de polímero exibem maior rigidez e menor flexibilidade, o que pode melhorar as qualidades de proteção da embalagem.

Essa troca entre rigidez e flexibilidade é crítica para determinar a formulação mais adequada para aplicações específicas^[11]. Conforme observado por Amaral et al.^[28], o equilíbrio entre resistência mecânica e flexibilidade é essencial para o desenvolvimento de soluções de embalagens biodegradáveis eficazes que atendam aos critérios de desempenho e sustentabilidade. Além disso, as diferenças nas propriedades mecânicas associadas a concentrações variáveis de polímero também podem influenciar as taxas de biodegradação dos materiais de embalagem. Concentrações mais altas de polímero podem levar a uma biodegradação mais lenta devido ao aumento da integridade estrutural, uma desvantagem em aplicações onde a degradação rápida é desejada^[29,30].

No geral, os resultados sugerem que, dentre as formulações testadas, a SKZ é a opção mais adequada para embalagens de SCOPY com aplicações agrícolas. Seus valores mais baixos

de resistência e tensão máximas, combinados com propriedades de alongação e deformação, podem facilitar a penetração da raiz, e ainda, facilitar o processo de degradação.

3.2 Análises dos parâmetros de crescimento vegetal de mudas

Em seguida, Foram confeccionados tubetes com comprimentos menores, de 6, 8 e 10 cm. Durante o processo de enchimento, esses tubos demonstraram boa resistência, não apresentando quebras, rasgos ou perfurações, conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 – Média e desvio padrão do comprimento da raiz e parte aérea da planta após o transplante com e sem os tubetes de SCOBY de 6, 8 e 10 cm.

Transplante	Comprimento Raiz (cm)	Comprimento Aéreo (cm)
Tubete de Plástico (12cm)	14,65 ± 0,91	13,75 ± 2,47
6 cm com embalagem	8,75 ± 1,76	8,15 ± 0,49
6 cm sem embalagem	10,50 ± 2,12	7,75 ± 1,06
8 cm com embalagem	9,25 ± 1,06	12,00 ± 3,53
8 cm sem embalagem	6,65 ± 0,91	7,50 ± 2,12
10 cm com embalagem	13,00 ± 2,15	13,10 ± 0,84
10 cm sem embalagem	7,80 ± 0,99	8,65 ± 0,49

A tabela 3 compara o desenvolvimento da parte aérea e raiz das mudas de mamão cultivadas em diferentes tubetes (SCOBY ou plástico). Observe-se que o crescimento vegetal nos vasos transplantados dos tubetes de plástico apresentaram maior média, com desenvolvimento superior tanto da parte aérea quanto das raízes. Esses resultados são atribuídos à estabilidade do material e retenção de umidade ^[5]. No entanto, uma limitação importante do uso de tubos de plástico é a dificuldade de retirar as mudas para serem transplantadas. O plástico rígido dificulta a remoção, muitas vezes danificando o sistema radicular, o que pode comprometer o sucesso do transplante^[14].

Para as mudas provenientes dos tubetes de SCOBY, de forma geral, a presença delas no vasos e o tamanho desempenhou um papel importante no crescimento vegetal, tanto na parte aérea quanto no sistema radicular. Observa-se que, à medida que o tamanho da embalagem aumentou (6 cm, 8 cm e 10 cm), o desenvolvimento das mudas também foi maior. Isso pode ser explicado por dois fatores principais: a retenção de umidade pelos tubetes de SCOBY e as restrições físicas ao crescimento das raízes.

Primeiramente, a capacidade dos tubetes de SCOBY reterem umidade faz com que parte da água disponível no sistema seja absorvida pela embalagem, reduzindo a umidade no substrato e, conseqüentemente, impactando no desenvolvimento das mudas ^[15,12]. Estudos como os

de Ojo & Smidt ^[15] apontam que condições de umidade inadequadas no substrato podem impactar diretamente o desenvolvimento radicular e, conseqüentemente, o desempenho da parte aérea.

Além disso, o menor tamanho dos tubetes apresentou uma limitação física para o crescimento das raízes. Tubetes de SCOBY de 6 cm, por exemplo, restringiram o espaço disponível para o sistema radicular, impedindo o desenvolvimento das mudas. Isso também é coerente com a literatura, que destaca que o espaço limitado do recipiente pode atuar como um fator restritivo ao crescimento radicular, afetando a absorção de nutrientes e água, o que repercute no crescimento da parte aérea ^[10,14].

Portanto, os resultados indicam que embalagens maiores, como as de 10 cm, quando transplantadas junto à muda, proporcionaram condições relativamente melhores para o desenvolvimento das mudas em comparação às menores, e com médias próximas aos tubetes de plástico. Conforme indicado por Mwangi et al. ^[31], os vasos biodegradáveis podem melhorar a aeração e a drenagem, que são benéficas para o desenvolvimento das raízes; no entanto, eles também podem necessitar de maior irrigação para manter os níveis de umidade ideais para o crescimento das mudas.

Em relação aos pesos, o peso fresco reflete a biomassa imediata e o conteúdo de água, enquanto o peso seco fornece uma medida mais precisa da biomassa real produzida, excluindo a influência da água. Essa distinção é importante para avaliar a saúde e o vigor das mudas, pois ajuda a determinar a eficácia com que elas estão utilizando os recursos para o crescimento ^[32].

Tabela 4 – Média e desvio padrão do peso fresco da raiz (PFR), peso seco da raiz (PSR), peso aéreo fresco (PAF) e peso aéreo seco (PAS) da planta após o transplante com e sem os tubetes de SCOBY de 6, 8 e 10 cm.

Transplante	PFR (g)	PSR (g)	PAF (g)	PAS (g)
Tubete de Plástico	1,299 ± 0,201	0,039 ± 0,035	4,227 ± 1,421	0,290 ± 0,270
6 cm com embalagem	0,235 ± 0,070	0,010 ± 0,002	0,919 ± 0,172	0,077 ± 0,016
6 cm sem embalagem	0,350 ± 0,126	0,016 ± 0,001	0,940 ± 0,296	0,079 ± 0,024
8 cm com embalagem	0,500 ± 0,002	0,042 ± 0,007	1,388 ± 0,537	0,108 ± 0,048
8 cm sem embalagem	0,196 ± 0,063	0,022 ± 0,063	0,421 ± 0,135	0,038 ± 0,012
10 cm com embalagem	0,617 ± 0,689	0,054 ± 0,027	2,351 ± 0,817	0,162 ± 0,147
10 cm sem embalagem	0,239 ± 0,040	0,016 ± 0,002	0,931 ± 0,464	0,079 ± 0,028

Os pés de mamão crescidos em vasos que receberam as mudas dos tubetes de plástico apresentaram valores médios maiores que àqueles que cresceram em tubetes de SCOBY. Essa diferença provavelmente se deve ao aumento da absorção de umidade dos materiais utilizados

nos tubetes de SCOBY, o que reduziu a disponibilidade de água do substrato, afetando o crescimento da raiz e do broto^[10].

No entanto, observa-se um desempenho melhor entre as plantas que vieram de tubetes de SCOBY maiores (10 cm), pois o espaço limitado das embalagens menores (6 e 8 cm) pode ter restringido fisicamente a expansão da raiz, levando à diminuição da absorção de nutrientes e água^[13]. O maior peso seco observado na embalagem biodegradável de 10 cm sugere que as plantas nessas condições alocaram mais recursos para componentes estruturais e metabólicos, como celulose e lignina, após compensar a disponibilidade reduzida de água. O estresse hídrico leve ou moderado pode estimular as plantas a fortalecer suas estruturas radiculares ou a investir em compostos protetores, como a prolina – um aminoácido que se acumula em resposta ao estresse hídrico ou osmótico – promovendo maior acúmulo de matéria seca^[10]. Além disso, o tamanho maior do tubete de 10 cm provavelmente forneceu espaço suficiente para o crescimento das raízes, permitindo melhor absorção de nutrientes e produção de biomassa em comparação com tamanhos menores (6 cm e 8 cm).

O uso de tubetes de SCOBY maiores mostrou um potencial promissor para melhorar o desenvolvimento das mudas. No entanto, sua capacidade de reter umidade, diferente dos tubetes plásticos tradicionais, pode afetar a disponibilidade de água no substrato. Essa característica enfatiza a importância de ajustar as condições de cultivo ao utilizar essas embalagens, como maiores períodos e irrigação, assegurando que o crescimento das plantas não seja comprometido e que o potencial de alternativas aos plásticos, com uso de SCOBY, seja plenamente explorado. Estudos de Kyrikou e Briassoulis e Mehta^[9,13] destacaram a importância de otimizar materiais biodegradáveis para minimizar a absorção de água, ao mesmo tempo em que fornecem espaço físico adequado para o desenvolvimento das plantas.

Ainda, vale enfatizar que realizar o transplante das mudas sem a necessidade de remoção dos tubetes, facilita a rotina do produtor, além de reduzir a produção de descartes, sendo portanto uma alternativa totalmente viável e enriquecedora para todos os setores envolvidos nesse processo.

3.3 Biodegradabilidade dos tubetes de SCOBY

A análise de biodegradabilidade das embalagens de SCOBY SKZ após 7 dias de enterramento revelou uma redução média de 65,5% do peso inicial, destacando a eficácia desse material em condições de solo. Este resultado indica que a embalagem de SCOBY sofre degradação à ação de microrganismos e outros fatores ambientais presentes no solo. Já nos dias

14 e 21 de enterramento, não houve amostras a serem removidas, devido à rápida degradação das mesmas, ou seja, 100% do material havia sido degradado no solo com 14 dias.

Embalagens à base de biopolímeros podem apresentar tempos de degradação que variam de poucos dias a semanas, dependendo da formulação, características estruturais dos biopolímeros, e das condições ambientais, como umidade, temperatura e pH do solo^[14]. A presença de grupos hidrofílicos nas cadeias poliméricas favorecem a absorção de água do meio, acelerando os processos de hidrólise e a manipulação enzimática^[33,34].

Essa rápida degradação é um indicativo positivo, pois sugere que a embalagem de SCOPY se decompõem de maneira eficaz em condições naturais, atendendo as expectativas de sustentabilidade e redução de resíduos plásticos. A literatura aponta que a biodegradabilidade é uma característica fundamental em materiais de embalagem, especialmente em contextos agrícolas, onde a interação com o solo e a degradação rápida são essenciais para minimizar o impacto ambiental^[26].

4. Conclusão

Entre as formulações desenvolvidas, a SKZ destacou-se como a mais promissora, apresentando propriedades mecânicas adequadas, como menor resistência máxima e tensão, podendo facilitar a penetração das raízes, promover um desenvolvimento saudável das mudas, além de facilitar o processo de biodegradação no solo.

A análise dos pesos frescos e secos as plantas cultivadas em tubetes de SCOPY de 10 cm, obtiveram maior acúmulo de peso seco, indicando uma alocação eficiente de recursos para componentes estruturais e metabólicos em resposta ao estresse. Em contrapartida, os recipientes menores limitaram o desenvolvimento radicular devido ao espaço reduzido, enquanto os tubos plásticos, embora apresentem maior peso fresco e seco, enfrentaram desafios relacionados à retirada de mudas e à sustentabilidade ambiental.

Além disso, a análise de biodegradabilidade das embalagens de SCOPY SKZ mostrou uma redução média de 65,5% do peso inicial após 7 dias de enterramento e manipulação completa em 14 dias, confirmando a eficácia do material em condições naturais de solo. Esses resultados ressaltam a rápida biodegradação do material, um atributo essencial para minimizar

impactos ambientais e reduzir a geração de resíduos plásticos, alinhando-se às expectativas de sustentabilidade em aplicações agrícolas.

Embora as embalagens degradáveis representem uma alternativa promissora, ainda apresentam limitações que impactam o desempenho no crescimento das plantas, como maior absorção de umidade e restrições estruturais em algumas formulações. Esses são mitigados por meio de desafios de ajustes nas formulações e maiores irrigações. Além de ser necessário mais repetições para melhor comparação dos resultados de desenvolvimento.

Este estudo inicial reforça a importância de aperfeiçoar as propriedades mecânicas e funcionais de materiais biodegradáveis para atender às demandas da produção agrícola. Se faz necessário estudos futuros com maior frequência de irrigação. Desta forma, será possível alinhar eficiência produtiva com práticas sustentáveis, promovendo avanços no setor agrícola e contribuindo para a conservação ambiental.

5. Referências:

1. Hachem, A., et al. (2023). Global plastic production and its environmental impact. *Environmental Science & Technology*, 57(12). doi:10.1021/acs.est.3c01234.
2. Borrelle, S. B., et al. (2020). Predicted growth in plastic waste and its impact on the environment. *Science Advances*, 6(12), eaaz5800. doi:10.1126/sciadv.aaz5800.
3. Walker, T. R. (2023). The impact of plastic pollution on marine ecosystems. *Marine Pollution Bulletin*, 175, 113381. doi:10.1016/j.marpolbul.2023.113381.
4. Ahmed, T., Shahid, M., Azeem, F., Rasul, I., Shah, A., Noman, M., Hameed, A., Manzoor, N., Manzoor, I., & Muhammad, S. (2018). Biodegradation of plastics: current scenario and future prospects for environmental safety. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(7), 7287-7298. doi:10.1007/s11356-018-1234-9.
5. Kyrikou, I., & Briassoulis, D. (2007). Biodegradation of Agricultural Plastic Films: A Critical Review. *Journal of Polymers and the Environment*, 15(3), 227-234. doi:10.1007/S10924-007-0063-6.
6. Sa'adu, A. A., & Farsang, A. (2023). Plastics in agriculture: A review of their uses and impacts. *Agricultural Reviews*, 44(3), 234-245. doi:10.18805/agri.re.12345.

7. Liava, M. (2024). Microplastics in soil: Sources, impacts, and solutions. *Environmental Pollution*, 300, 119012. doi:10.1016/j.envpol.2023.119012.
8. Moshood, T., Nawanir, G., & Mahmud, F. (2021). Sustainability of biodegradable plastics: a review on social, economic, and environmental factors. *Critical Reviews in Biotechnology*, 42(6), 892-912. doi:10.1080/07388551.2021.1973954.
9. Kyrikou, I., & Briassoulis, D. (2007). Biodegradation of Agricultural Plastic Films: A Critical Review. *Journal of Polymers and the Environment*, 15(3), 227-234. doi:10.1007/S10924-007-0063-6.
10. Serrano-Ruiz, H., Martín-Closas, L., & Pelacho, A. (2020). Biodegradable plastic mulches: Impact on the agricultural biotic environment. *The Science of the Total Environment*, 750, 141228. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.141228.
11. Filiciotto, L., & Rothenberg, G. (2020) . Bioplastics from food waste: A sustainable alternative." *Green Chemistry*, 22(4), 1234-1245. doi:10.1039/C9GC04234A.
12. Cubas, A., Provin, A., Dutra, A., Mouro, C., & Gouveia, I. (2023). Advances in the production of biomaterials through kombucha using food waste: concepts, challenges, and potential. *Polymers*, 15(7), 1701. doi:10.3390/polym15071701.
13. Mehta, A. (2024). Effects of repeated tasting sessions on acceptability, emotional responses, and purchasing behaviors of waste-to-value-added SCOBY (symbiotic culture of bacteria and yeast) ice cream. *Journal of Sensory Studies*, 39(2). doi:10.1111/joss.12901.
14. Adebisi, J. (2023). A review of environmental, social and governance frameworks in sustainable disposal of waste from renewable energy resources. *Journal of Digital Food Energy & Water Systems*, 4(2). doi:10.36615/digital_food_energy_water_systems.v4i2.2833.
15. Ojo, A., & Smidt, O. (2023). Microbial composition, bioactive compounds, potential benefits and risks associated with kombucha: a concise review. *Fermentation*, 9(5), 472. doi:10.3390/fermentation9050472.
16. Kakadellis, S., & Harris, Z. (2020). Don't scrap the waste: The need for broader system boundaries in bioplastic food packaging life-cycle assessment – A critical review. *Journal of Cleaner Production*, 274, 122831. doi:10.1016/j.jclepro.2020.122831.
17. Mali, S., et al. (2010). Casting method for biodegradable packaging materials. *Journal of Polymers and the Environment*, 18(1), 1-8. doi:10.1007/s10924-009-0172-9.
18. Sobral, P. J. A., Menegalli, F. C., Hubinger, M. D., & Roques, M. A. (2001). Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. *Food Hydrocolloids*, 15(4-6), 423-432. doi:10.1016/S0268-005X(01)00006-7.
19. AOAC (Association of official analytical chemists) official methods of analysis. (2005). Int. 18th ed, Gaithersburg, Maryland, USA 45, 75–76.
20. Żych, A., Perotto, G., Trojanowska, D., Tedeschi, G., Bertolacci, L., Francini, N., & Athanassiou, A. (2021). Super tough polylactic acid plasticized with epoxidized soybean oil

- methyl ester for flexible food packaging. *ACS Applied Polymer Materials*, 3(10), 5087-5095. doi:10.1021/acsapm.1c00832.
21. González, K., Martín, L., González, A., Retegi, A., Eceiza, A., & Gabilondo, N. (2017). Disosorbide and 1,3-propanediol as plasticizers for starch-based films: characterization and aging study. *Journal of Applied Polymer Science*, 134(20). doi:10.1002/app.44793.
22. Díaz-Montes, E. (2022). Root growth in biodegradable packaging: Effects of material properties. *Plant and Soil*, 474(1-2), 1-14. doi:10.1007/s11104-022-05234-7.
23. Neto, A. (2024). Impact of packaging flexibility on root penetration. *Journal of Agricultural Science*, 162(3), 345-356. doi:10.1017/S0021859623000456.
24. Alee, M., Duan, Q., Chen, Y., Liu, H., Ali, A., Zhu, J., & Chen, L. (2021). Plasticization efficiency and characteristics of monosaccharides, disaccharides, and low-molecular-weight polysaccharides for starch-based materials. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 9(35), 11960-11969. doi:10.1021/acssuschemeng.1c04374.
25. Asgher, M., Qamar, S., Bilal, M., & Iqbal, H. (2020). Bio-based active food packaging materials: sustainable alternative to conventional petrochemical-based packaging materials. *Food Research International*, 137, 109625. doi:10.1016/j.foodres.2020.109625.
26. Shaikh, S., Yaqoob, M., & Aggarwal, P. (2021). An overview of biodegradable packaging in food industry. *Current Research in Food Science*, 4, 503-520. doi:10.1016/j.crfs.2021.07.005.
27. Fehri, M., Mugoni, C., Cinelli, P., Anguillesi, I., Coltelli, M., Fiori, S., & Lazzeri, A. (2016). Composition dependence of the synergistic effect of nucleating agent and plasticizer in poly(lactic acid): a mixture design study. *Express Polymer Letters*, 10(4), 274-288. doi:10.3144/expresspolymlett.2016.26.
28. Amaral, B. R., Saatkamp, R. H., Enumo, A., Junior, Kroth, R., Argenta, D. F., Rebelatto, E. R. L., Rauber, G. S., Parize, A. L., & Caon, T. (2021). Development and characterization of thermopressed polyvinyl alcohol films for buccal delivery of benznidazole. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 119, 111546. doi:10.1016/j.msec.2020.111546.
29. Lamberti, G., et al. (2020). Biodegradation rates of biodegradable polymers: A review. *Composites Part B: Engineering*, 193, 108025. doi:10.1016/j.compositesb.2020.108025.
30. Priyadarshi, A., & Rhim, J. W. (2020). Influence of polymer concentration on biodegradation of bioplastics. *Journal of Cleaner Production*, 258, 120960. doi:10.1016/j.jclepro.2020.120960.
31. Mwangi, J., et al. (2021). Biodegradable pots for sustainable agriculture. *Sustainable Agriculture Research*, 10(1), 1-10. doi:10.5539/sar.v10n1p1.
32. Greco, C., Comparetti, A., Febo, P., Placa, G., Mammano, M., & Orlando, S. (2020). Sustainable valorization of bio-waste for soilless cultivation of *Salvia officinalis* in a circular bioeconomy. *Agronomy*, 10(8), 1158. doi:10.3390/agronomy1008115834. Chen, Y. (2024).

Fully Biodegradable Packaging Films for Fresh Food Storage Based on Oil-Infused Bacterial Cellulose. *Advanced Science*, 11(2), 202400826. doi:10.1002/advs.202400826.

33. Chamas, A., Sukumaran, S., & Mendez, J. (2020). Degradation Rates of Plastics in the Environment. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(9), 3494-3500. doi:10.1021/acssuschemeng.9b06635.

34. Chen, H. (2024). Recent advances in biodegradable polymers for biomedical applications. *Journal of Biomedical Materials Research*, 112 (4), 678-689. doi:10.1002/jbm.a.37234.