

# Kombucha: efeitos *in vitro* e *in vivo*

## Kombucha: *in vitro* and *in vivo* effects

Recebido em: 05/10/2018

Aceito em: 14/05/2019

Stéphaney Christine Guimarães MEDEIROS<sup>1</sup>;

Camile Cecconi CECHINEL-ZANCHETTI<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Pesquisas, Ensino e Gestão em Saúde - IPGS. R. Dr. Freire Alemão, 225, Mont'Serrat, CEP 90450-060. Porto Alegre, RS, Brasil. <sup>2</sup>Universidade do Vale do Itajaí - UNIVALI. Rua Uruguai, 458, CEP 88302-202. Itajaí, SC, Brasil.

E-mail: camilecechinel@gmail.com

### ABSTRACT

The search for a healthier lifestyle has led people to seek out to consume foods with functional properties. Kombucha is a probiotic that has been consumed all over the world, as a refreshing home-made drink, and is also marketed by some companies. The objective of this study was to evaluate kombucha drink, regarding its composition, beneficial effects and toxicological aspects. A critical review of the literature based on scientific articles, books and official documents was carried out in the databases of scientific articles: SciELO, Lilacs, Medline, and Science Direct in Portuguese, English and Spanish languages, published between 2014 and 2018. The descriptor used for the scientific searches was “kombucha”. The bibliographic search was done without the restriction of population and subject to not limit the number of articles. Studies indicated probable benefits related to the chemical composition of kombucha. Antioxidant, antibacterial and antifungal activity, probiotic effect, anticarcinogenic potential, hypoglycemic effect, as well as other therapeutic, and preventive effects of chronic non-transmissible diseases. Few research has been done with humans to assess kombucha benefits, toxicity, and therapeutic uses more accurately. Therefore, more research should be done in order to identify the produced metabolites and to understand their relation with the biological activities, as well as its application in humans.

**Keywords:** probiotic; microbiota; functional beverage; *Camellia sinensis* (L.) Kuntze; Phytotherapy.

### RESUMO

A busca por um estilo de vida mais saudável tem levado as pessoas a procurarem e escolherem produtos mais saudáveis. O kombucha é um probiótico, consumido no mundo todo, como uma bebida caseira refrescante, sendo também comercializada por algumas empresas. Esse trabalho avaliou o kombucha, relacionando composição, efeitos benéficos e aspectos toxicológicos causados por seu consumo. Foi realizada uma revisão crítica da literatura, baseada em artigos científicos, livros e documentos oficiais, nas bases de dados de artigos científicos: SciELO, Lilacs, Medline, e Science Direct, nos idiomas português, inglês e espanhol publicados entre 2014 e 2018, onde foi utilizado o descritor “kombucha”. A busca bibliográfica foi feita sem restrição de população e tema para não limitar o número de artigos. Os estudos apontaram prováveis benefícios relacionados à composição química do kombucha. Os benefícios relatados foram: atividade antioxidante, antibacteriana, antifúngica, efeito probiótico, potencial anticarcinogênico, efeito hipoglicemiante, além de outros efeitos terapêuticos e de prevenção de doenças crônicas não transmissíveis. Poucas pesquisas foram feitas com humanos para avaliar com mais precisão seus benefícios, toxicidade, e usos terapêuticos. Portanto, mais estudos devem ser realizados, com o intuito de identificar os metabólitos produzidos, entender sua relação com as atividades biológicas, assim como sua aplicação em humanos.

**Palavras-chave:** probiótico; microbiota; bebida funcional; *Camellia sinensis* (L.) Kuntze; fitoterapia

## INTRODUÇÃO

Atualmente, a crescente busca por um estilo de vida mais saudável, tem levado as pessoas a procurarem cada vez mais produtos com propriedades funcionais, em vez de priorizar o aspecto sensorial. Essa procura por saúde e bem-estar vem desencadeando diversos segmentos de consumo, dentre eles a procura por alimentos e bebidas funcionais, que trazem efeitos benéficos ao organismo, regulam a absorção de nutrientes, reduzem o risco de doenças crônicas não transmissíveis, melhoram a microbiota intestinal, entre outros (1).

Os consumidores procuram cada vez mais obter informações sobre os alimentos expostos nas prateleiras, com o intuito de mudar seus hábitos alimentares. Esse comportamento tem incentivado as indústrias a investir em pesquisas de novos ingredientes, e desenvolvimento de novos produtos com alegações à saúde. No Brasil, é possível observar cada vez mais a popularização de alimentos funcionais nas indústrias alimentícias; e a adição de probióticos em alimentos é um exemplo relevante disso (2,3).

Probióticos são microrganismos vivos capazes de prevenir patologias e de manter o indivíduo livre de algumas doenças, especialmente as gastrointestinais. Eles são vinculados à síntese de vitaminas do complexo B, e apresentam importante papel na regulação do trânsito intestinal, modulação do colesterol e sistema imune (2,4).

O kombucha é uma bebida probiótica que tem sido consumida no mundo todo, de forma caseira, ou comercializada por algumas empresas. Originalmente, é uma bebida tradicional asiática, preparada a partir da fermentação da infusão das folhas de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (chá verde ou preto) com adição de sacarose. Para o preparo, é utilizado como inóculo, o chamado “scooby”, uma colônia simbiótica de bactérias e leveduras. A bebida é semelhante a um espumante, com sabor ácido e refrescante, similar à cidra de maçã (5,6).

Existem diferenças na composição e na atividade biológica do kombucha, devido a variedade e quantidade de folhas utilizadas, concentração e escolha do açúcar, tempo de fermentação e composição do “scooby”. Geralmente, ele é fermentado en-

tre sete a dez dias, e seu perfil químico é dominado por ácidos orgânicos (principalmente ácido acético, glicônico e glicurônico) e polifenóis, os quais têm sido associados a diversos benefícios à saúde (5,7).

Entre seus efeitos benéficos destacam-se a redução de níveis glicêmicos, a modulação de dislipidemias, a atividade anti-carcinogênica, antioxidante e desintoxicante. Ainda, seu consumo está associado a melhora da resposta imune e ao tratamento de úlceras gástricas. Outras pesquisas também mostraram que o kombucha inibe bactérias patogênicas como *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescens* e *Staphylococcus aureus* (5,6).

Existem poucos estudos científicos sobre o kombucha e, dessa forma, o presente trabalho teve por finalidade estudar os benefícios e/ou riscos do consumo de kombucha, contribuindo como fonte de informações para estudantes, profissionais na área da saúde, e demais interessados que atuem nesse campo. Diante do exposto, uma revisão acerca do que há disponível na literatura sobre os estudos *in vitro* e *in vivo* sobre kombucha foi realizada.

## MÉTODO

Foi realizada uma revisão crítica da literatura baseada em artigos científicos, livros e documentos oficiais, nas bases de dados: *SciELO*, *Lilacs*, *Medline*, e *Science Direct*, nos idiomas português, inglês e espanhol publicados entre 2014 e 2018. Foi utilizado o descritor “kombucha”. A pesquisa bibliográfica foi realizada sem restrição para não limitar o número de artigos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Composição e fermentação do kombucha

O kombucha é tradicionalmente preparado por meio da fermentação da infusão das folhas de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, especialmente o chá verde ou preto, adoçado, usando uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras não-exclusivas que se desenvolvem mutuamente (8,9). Durante o processo de fermentação, as leveduras hidrolisam a sacarose da base do chá em frutose e glicose, pela

ação da enzima invertase, e produzem etanol e dióxido de carbono. As bactérias acéticas convertem a glicose em ácido glicurônico e a frutose em ácido acético. Além desses, também são encontrados outros ácidos orgânicos como o ácido tartárico, ácido málico e em menor proporção o ácido cítrico, aminoácidos e uma variedade de micronutrientes (10,11).

O processo de fermentação da bebida é feito da seguinte forma: após a fervura da água, são adicionadas as folhas da espécie que será utilizada, que permanecem em infusão por aproximadamente 10 minutos e depois é filtrada. Logo após, é adicionado o açúcar (50 g/L), misturando-o até que este seja dissolvido. Posteriormente, essa infusão deve ser transferida para um recipiente de boca larga, onde é adicionado o “scooby”. Esse recipiente é coberto com gaze, pano ou papel toalha. O kombucha fica incubado em temperatura ambiente (18-26 °C), e após alguns dias, é possível ver uma nova cultura flutuar à superfície do líquido - a cultura-filha. Para preparar a bebida para consumo, a cultura-filha deve ser removida e colocada em outro recipiente com um pequeno volume de chá fermentado, e a bebida remanescente é filtrada e armazenada sob refrigeração, em garrafas bem vedadas (7,12).

Em análise da composição de kombucha, as principais bactérias presentes foram as produtoras de ácido acético (*Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus*, *Komagataeibacter* sp e *Gluconobacter oxydans*), de ácido láctico (*LAB*; *Lactobacillus* sp, *Lactococcus* sp) e leveduras (*Saccharomyces* sp, *Torulopsis* sp, *Pichia* sp, *Brettanomyces* sp, *Zygosaccharomyces kombuchaensis*, *Kloeckera apiculata*, etc). Esses chás também apresentaram altos teores de derivados de purina, cafeína e teofilina, que são necessárias para o crescimento e reprodução dos fungos (13-15). Os principais micronutrientes encontrados na composição do kombucha foram ferro, zinco, magnésio, cálcio e potássio (16).

Sob condições aeróbicas, a colônia simbiótica é capaz de converter, em sete a dez dias, a infusão e o açúcar em uma bebida gaseificada, levemente ácida e refrescante. Quanto maior o tempo de fermentação, maior a produção de compostos fenólicos; contudo, a fermentação prolongada pode resultar no acúmulo de ácidos orgânicos, que podem atingir

níveis prejudiciais para consumo humano. Também foi relatado que o tempo de fermentação superior a um mês pode levar a uma redução na concentração de polifenóis (17). Para melhorar as propriedades antioxidantes do kombucha, outros substratos como frutas, legumes ou ervas podem ser adicionados ao processo de fermentação (18,19). Portanto, a composição e concentração de metabólitos são dependentes da fonte do inóculo, da concentração de açúcar utilizado, forma de preparo e espécie vegetal usada para o preparo da infusão, tempo de fermentação, substratos adicionados e a temperatura do ambiente. Qualquer mudança nas condições de fermentação pode afetar o produto final (18).

É importante ressaltar que apesar de normalmente ser utilizada a infusão de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze para a fermentação do kombucha, outros substratos também têm sido utilizados, como o gengibre (*Zingiber officinale*) (20), cogumelo ganoderma (*Ganoderma lucidum*) (21), ou leite (22).

### Atividades biológicas

**Antioxidante.** A atividade antioxidante do kombucha é devida, principalmente, à sua doação de elétrons, habilidade quelante de metais e também habilidade de doação de hidrogênio. Essa atividade pode ser atribuída aos polifenóis presentes na infusão da *C. sinensis* (L.), especialmente as catequinas, que possuem capacidade de eliminar espécies reativas de oxigênio. A conversão metabólica dos constituintes químicos durante a fermentação microbiana também pode contribuir para o aumento da atividade antioxidante do kombucha, quando comparado à infusão não fermentada (8,10). Um dos compostos orgânicos mais significativos encontrados nesta bebida é o ácido glicurônico, que tem sido tema de interesse nos últimos anos, devido suas propriedades desintoxicantes, eliminando muitos tipos de substâncias tóxicas, como poluentes, produtos químicos exógenos, excesso de hormônios esteroidais e bilirrubina do corpo humano via sistema urinário (23).

Uma pesquisa apontou que a administração oral de kombucha em ratos expostos a pró-oxidantes resultou na diminuição do grau de oxidação lipídica e fragmentação do DNA. Em outro estudo de revisão também foi concluído que o kombucha

fermentado por 14 dias apresentou importante atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*. Essas descobertas evidenciaram que o consumo de kombucha pode ajudar no controle de muitas morbidades, pois o aumento na produção de ERO está relacionado com diversas patologias (8,24).

**Efeito probiótico.** Os probióticos são microrganismos vivos usados para manter o equilíbrio da microbiota intestinal. Eles atuam por meio da produção de substâncias bacteriostáticas e da competição com os patógenos e suas toxinas no intestino, prevenindo o indivíduo de algumas doenças, principalmente gastrointestinais, como diarreias, câncer do cólon, doença de Crohn, intolerância à lactose e síndrome do intestino irritável, auxiliando também no controle do colesterol e aumento da imunidade (2). Probióticos são capazes de sintetizar substâncias bacteriostáticas, como bacteriocinas, ácidos e peróxido de hidrogênio. Algumas espécies de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* sintetizam três tipos de ácidos: láctico, acético e propiônico. Isso faz diminuir o pH localmente, inibindo o crescimento de uma grande variedade de patógenos Gram-negativos, o que, por sua vez, influencia no equilíbrio da microbiota intestinal (4).

Por ter bactérias, leveduras e fungos que são proveitosos para a microbiota intestinal humana, o kombucha também apresenta função regulatória, agindo como bebida probiótica e um simbiótico, definido como uma combinação de prebióticos e probióticos (25,26).

Marsh e cols (2014) identificaram os lactobacilos como predominantes na composição do kombucha, compondo em aproximadamente 30% a bebida fermentada (27). Hrnjez e cols (2014) analisaram a composição do kombucha fermentado com leite em comparação com iogurte e leite fermentado obtidos comercialmente. O kombucha apresentou maior atividade inibitória da enzima conversora da angiotensina (>60%), além de possuir alto teor de vitamina C (28).

**Potencial antibacteriano e antifúngico.** O kombucha possui capacidade de inibir o crescimento de patógenos, como *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Entamoeba cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Ba-*

*cillus cereus*, *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella sonnei*, *Leuconostoc monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni* e *Candida albicans*. Esta atividade antimicrobiana é atribuída ao baixo pH desta bebida, especialmente devido à presença de ácido acético, de outros ácidos orgânicos e catequinas, assim como outras substâncias que são produzidas durante sua fermentação. O ácido acético e as catequinas são especialmente conhecidos por inibir o crescimento de uma série de microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos. Além da atividade antibacteriana, pode ser destacado o potencial antifúngico atribuído à produção do ácido acético nessa bebida (26).

**Potencial anticarcinogênico.** A Unidade Central de Pesquisa Oncológica da Rússia e a Academia Russa de Ciências afirmaram que o consumo diário de kombucha tem correlação com a resistência ao câncer. Foi relatado que essa bebida fermentada pode agir como um agente anticancerígeno devido à presença dos polifenóis encontrados na infusão, e dos metabólitos secundários produzidos durante o processo de fermentação. Esses polifenóis podem inibir mutações genéticas, a proliferação de células cancerígenas e induzir a apoptose em células tumorais. Foi notado que o consumo de kombucha pode auxiliar pacientes com câncer, pois as catequinas do chá verde (*C. sinensis*) reduzem a proliferação de células de câncer de mama *in vitro* e diminuem o crescimento de tumor de mama em roedores. Os polifenóis presentes também podem auxiliar na eficiência da terapia de radiação/quimioterapia, na promoção da morte de células tumorais de forma específica (26,29).

**Efeito hipoglicemiante.** A hiperglicemia pode desencadear o aumento da produção de radicais livres que são capazes de exacerbar complicações em pacientes com diabetes mellitus. Uma pesquisa com animais induzidos à diabetes por estreptozotocina mostrou a capacidade do kombucha fermentado por *Salacca zalacca*, em reduzir o estresse oxidativo e modular a hiperglicemia, reduzindo entre 30-59% a glicemia de jejum dos animais. Em adição, os níveis de superóxido dismutase (SOD) plasmáticos foram aumentados e a análise imuno-histológica mostrou a regeneração das células beta-pancreáticas nos animais tratados com kombucha (30).

Os compostos fenólicos da bebida também aumentam a secreção de insulina das células beta-pancreáticas. Alimentos contendo compostos fenólicos e ácidos orgânicos auxiliam na diminuição da absorção de glicose do sistema digestivo. O ácido acético ajuda a suprimir a ação da dissacaridase e a diminuir o tempo de esvaziamento gástrico, o que implica na redução dos níveis de glicose no sangue. Ainda, é capaz de aumentar a captação de glicose pelo fígado e músculos para serem convertidos em glicogênio (30).

**Outros efeitos terapêuticos.** Um estudo mostrou uma melhora significativa na progressão da esclerose múltipla em ratos que consumiram kombucha durante 21 dias. A esclerose múltipla (EM) é uma doença inflamatória autoimune do sistema nervoso central, que aflije cerca de 2,5 milhões de pessoas em todo o mundo. EM é caracterizada pela destruição da bainha de mielina que rodeia os axônios neuronais no sistema nervoso central, um processo que resulta na neurodegeneração e, conseqüentemente, na formação de placas escleróticas no cérebro. O estresse oxidativo também pode induzir a patogênese da EM. Sendo assim, a atividade antioxidante do kombucha induziu a redução da expressão de moléculas inflamatórias, diminuiu a nefrotoxicidade e a hepatotoxicidade induzida por estresse oxidativo, bem como se mostrou benéfica também em ratos diabéticos e com ulceração gástrica (31).

Achados revelaram que a administração de kombucha também induziu efeitos curativos interessantes em casos de hipercolesterolemia, particularmente em termos de funções hepatorenais em ratos, reduzindo o processo de peroxidação lipídica, e reforçando o sistema de defesa antioxidante na modelo aterogênico experimental. O efeito benéfico do kombucha foi presumivelmente atribuído à sua potente atividade antioxidante (32). Os flavonoides presentes no kombucha podem auxiliar na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), quando ingeridos de forma regular, devido aos seus efeitos antioxidantes, anticarcinogênicos, anti-inflamatórios, antiaterogênicos, hipoglicemiantes, além do potencial antibacteriano e antiviral, os quais refletem-se diretamente na prevenção e tratamento de diversas patologias

(29). Além disso, a maioria das enzimas e ácidos bacterianos encontrados no kombucha é semelhante aos produtos químicos produzidos pelo corpo para o propósito do processo desintoxicante. Estudos relataram que essa capacidade se deve principalmente à capacidade do ácido glicurônico em se ligar a moléculas tóxicas e de aumentar sua excreção (26). Ainda, Pakravan e cols (2017) avaliaram o uso intradérmico do kombucha com finalidades estéticas como *anti-aging*, com resultados promissores em modelo animal (33).

### Aspectos toxicológicos

Alguns indivíduos relataram tontura e náusea após consumir kombucha. Reações alérgicas, icterícia e dor de cabeça também foram relatados. Assim, seu consumo deve ser evitado por gestantes e lactantes. Dois casos de doença grave inexplorada também foram relatados após o consumo de kombucha (34,35).

Um casal que havia consumido kombucha por seis meses, apresentou intoxicação por chumbo sintomática, necessitando de terapia de quelação; porém, foi postulado que os ácidos na bebida eluíram o chumbo do pigmento de esmalte usado no pote de cerâmica onde foi feita a fermentação. Outros casos de envenenamento por chumbo em adultos foram identificados. A presença *Bacillus anthracis* no kombucha fermentado também foi relatada, porém concluiu-se que foi devido a condições anti-higiênicas no prepare do fermentado.

Há alguns relatos de que o consumo de kombucha pode ser prejudicial quando a preparação for feita incorretamente. Os materiais mais indicados para sua produção são vidro e aço inox. Outro fator indispensável é um recipiente com bocal largo para que haja troca de ar com o ambiente, pois é nessa superfície que se formará a nova película acima da antiga; e a cobertura com gaze limpa ou pano que impeçam a entrada de insetos e contaminantes na bebida (7,25,34).

Vijayaraghavan e cols (2000) estudaram a potência de toxicidade oral subaguda do kombucha em modelo animal, e concluíram que o consumo de kombucha por 90 dias não demonstrou toxicidade (36).

## CONCLUSÃO

A maioria das pesquisas realizadas sobre as propriedades do kombucha corroboram que seu consumo pode trazer benefícios à saúde, tanto por sua composição, devido às cepas presentes, quanto pelas propriedades benéficas dos constituintes químicos presentes na infusão de *Camellia sinensis*. Artigos utilizando

modelos animais e estudos clínicos são escassos, porém, essenciais para avaliar com mais precisão seus efeitos terapêuticos e possíveis toxicidades.

## AGRADECIMENTOS

As autoras são gratas ao Instituto de Pesquisas, Ensino e Gestão em Saúde – IPGS (Brasil).

## REFERÊNCIAS

1. Leal JM, Suárez LV, Jayabalan R, Oros JH, Escalante-Aburto A. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA - J Food*. 2018;16(1):390–399. DOI: 10.1080/19476337.2017.1410499.
2. Oliveira JL, Almeida C, Bomfim NS. A importância do uso de probióticos na saúde humana. *Unoesc & Ciência – ACBS*. 2017; 8(1):7-12.
3. Marin M, Madruga NA, Rodrigues RS, Machado MRG. Caracterização físico-química e sensorial de bebida probiótica de soja. *B. CEPPA* 2014;32(1):93-104.
4. Juiz PJ, Ribeiro BK, Passos RA. O estado da arte sobre a atividade antimicrobiana e imunomoduladora de probióticos. *REBRAPA* 2017;8(3):141-155. DOI: 10.3895/rebrapa.v8n3.3971.
5. Filippis F, Troise AD, Vitaglione P, Ercolini D. Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during Kombucha tea fermentation. *Food Microbiol*. 2018;73:11-16. DOI: 10.1016/j.fm.2018.01.008.
6. Gramza-Michałowska A, Kulczyński B, Xindi Y, Gumienna M. Research on the effect of culture time on the kombucha tea beverage's antiradical capacity and sensory value. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment*. 2016;15(4):447–457. DOI: 10.17306/J.AFS.2016.4.43.
7. Jayabalan R, Malbaša RV, Lončar ES, Vitas JS, Sathishkumar M. A review on kombucha tea - microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *CRFSFS* 2014;13:538-550. DOI: 10.1111/1541-4337.12073
8. Sun T, Li J, Chen C. Effects of blending wheat-grass juice on enhancing phenolic compounds and antioxidant activities of traditional kombucha beverage. *JFDA* 2015;23:709-718. DOI: 10.1016/j.jfda.2015.01.009
9. Chakravorty S, Bhattacharya S, Chatzinotas A, Chakraborty W, Bhattacharya D, Gachhui R. Kombucha tea fermentation: microbial and biochemical dynamics. *Int. J. Food. Microbiol*. 2016;220:63–72. DOI: 10.1016/j.ij-foodmicro.2015.12.015
10. Lobo RO, Dias FO, Shenoy CK. Kombucha for healthy living: evaluation of antioxidant potential and bioactive compounds. *IFRJ* 2017;24(2):541-546.
11. Santos MJ. Kombucha: caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração. [Dissertação] Lisboa: Faculdade de Ciências e Tecnologia Universidade Nova de Lisboa. 2016.
12. Carvalho SP. Desenvolvimento de vinagres a partir de chás e infusões. [Dissertação] Lisboa: Universidade de Lisboa, Lisboa. 2016.
13. Essawet NA, Cvetković D, Velićanski A, Čanadanović-Brunet J, Vulić J, Maksimović V, Markov S. polyphenols and antioxidant activities of kombucha beverage enriched with coffeeberry® extract. *Chem. Ind. Eng. Quim*. 2015;21(3):399-409. DOI: 10.2298/CICE-Q140528042E.
14. De Roos J, De Vuyst L. Acetic acid bacteria in fermented foods and beverages. *Curr Opin Biotechnol*. 2018;49:115-119. DOI: 10.1016/j.copbio.2017.08.007.
15. Marsh AJ, Hill C, Ross RP, Cotter PD. Fermented beverages with health promoting potential: past and future perspectives. *Trends Food Sci. Technol*. 2014;38(2):113–124. DOI: 10.1016/j.tifs.2014.05.002.
16. Buzia OD, Fasie V, Mardare N, Diaconu C, Gurau G, Tatu AL. formulation, preparation, physico-chemical analysis, microbiological peculiarities and therapeutic challenges of extractive solution of kombucha. *Rev. chim*. 2018;69(3):720-724.
17. Amarasinghe H, Weerakkody N, Waisundara V. Evaluation of physicochemical properties and antioxidant activities of kombucha “tea fungus” during extended periods of fermentation. *Food Sci Nutr*. 2018:659–665. DOI: 10.1002/fsn3.605.
18. Villarreal-Soto SA, Beaufort S, Bouajila J, Souchard JP, Taillandier P. Understanding kombucha tea fermentation: a review. *J Food Sci*. 2018;83(3):580-588. DOI: 10.1111/1750-3841.14068.
19. Liamkaew R, Chattrawanit J, Danvirutai P. Kombucha production by combinations of black tea and apple juice. *Sci. & Tech. RMUTT J*. 2016;6(2):139-146.

20. Salafzoon S, Mahmoodzadeh Hosseini H, Halabian R. Evaluation of the antioxidant impact of ginger-based kombucha on the murine breast cancer model. *J Complement Integr Med.* 2017;15(1). DOI: 10.1515/jcim-2017-0071.
21. Sknepnek A, Pantić M, Matijašević D, Miletić D, Lević S, Nedović V, Nikšić M. Novel kombucha beverage from lingzhi or reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum*, with antibacterial and antioxidant effects. *Int J Med Mushrooms.* 2018;20(3):243-258. DOI: 10.1615/IntJMedMushrooms.2018025833.
22. Kanurić KG, Milanović SD, Ikonić BB, Lončar ES, Iličić MD, Vukić VR, Vukić DV. Kinetics of lactose fermentation in milk with kombucha starter. *J Food Drug Anal.* 2018; 26(4):1229-1234. DOI: 10.1016/j.jfda.2018.02.002.
23. Nguyen NK, Nguyen PB, Nguyen HT, Le PH. 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 - Food Sci Technol.* 2015;64:1149-1155. DOI: /10.1016/j.lwt.2015.07.018.
24. Ofori JA. Kombucha protects against arsenic-induced protein peroxidation in rats. *J Ghana Sci Assoc* 2015; 16(2).
25. Bruschi J, Sousa R, Modesto K. O ressurgimento do chá de kombucha. *Rev Inic Cient Ext.* 2018;162-168.
26. Watawana MI, Jayawardena N, Gunawardhana CB, Waisundara VW. Health, wellness, and safety aspects of the consumption of kombucha. *J. Chem.* 2015;2015:1-11. DOI: 10.1155/2015/591869.
27. Marsh AJ, O'Sullivan O, Hill C, Ross RP, Cotter PD. Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiol.* 2014;38:171-178. DOI: 10.1016/j.fm.2013.09.003.
28. Hrnjez D, Vaštag Ž, Milanović S, Vukić V, Iličić M, Popović LJ, Kanurić K. The biological activity of fermented dairy products obtained by kombucha and conventional starter cultures during storage. *J Funct Foods.* 2014;10:336-345. DOI: 10.1016/j.jff.2014.06.016.
29. Moraes A, Souza V. Chá verde e suas propriedades funcionais nas doenças crônicas não transmissíveis. *REINPEC* 2016;2(16):216-225. DOI: 10.20951/2446-6778/v2n1a16.
30. Zubaidah E, Apriyadi TE, Kalsun U, Widyastuti E, Estiasih T, Srianta I, Blanc P. *In vivo* evaluation of snake fruit kombucha as hyperglycemia therapeutic agent. *IFRJ* 2018;25(1):453-457.
31. Marzban F, Azizi G, Afraci S, Sedaghat R, Seyedzadeh MH, Razavi A, Mirshafiey A. Kombucha tea ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis in mouse model of multiple sclerosis. *Food Agric Immunol.* 2015;26(6):782-793. DOI: 10.1080/09540105.2015.1036353.
32. Bellasoued K, Ghrab F, Makni-Ayadi F, Van Pelt J, Elfeki A, Ammar E. Protective effect of kombucha on rats fed a hypercholesterolemic diet is mediated by its antioxidant activity. *Pharm Biol.* 2015;53(11):1699-709. DOI: 10.3109/13880209.2014.1001408.
33. Pakravan N, Mahmoudi E, Hashemi SA, Kamali J, Haggiaghay R, Rahimzadeh M, Mahmoodi V. Cosmeceutical effect of ethyl acetate fraction of Kombucha tea by intradermal administration in the skin of aged mice. *J Cosmet Dermatol.* 2017;19. DOI: 10.1111/jocd.12453.
34. Martini, N. Kombucha. *J Prim Health Care* 2018;10(1):93-94. DOI: 10.1071/HC15930.
35. Holbourn A, Hurdman J. Kombucha: is a cup of tea good for you? *BMJ Case Reports.* 2017. DOI: 10.1136/bcr-2017-221702.
36. Vijayaraghavan R, Singh M, Rao PV, Bhattacharya R, Kumar P, Sugendran K, Kumar O, Pant SC, Singh R. Subacute (90 days) oral toxicity studies of Kombucha tea. *Biomed Environ Sci.* 2000;13(4):293-299.