Food Science Today 3:1 (2024)
ISSN 2965-1190

ARTIGO ORIGINAL

FOOD SCIENCE TODAY

Produção de celulose bacteriana (CB) em diferentes meios a partir de culturas de kombucha

Production of bacterial cellulose (BC) in different media from kombucha cultures

Aline da Rosa Almeida [a*], Cristiane Stegemann [b,c], Matheus Vinicius Oliveira Brisola Maciel [d,f], Ayme de Braga da Costa [d], Thaís Regina Coelho Schadeck [d], Henrique de Souza Medeiros [b,e], Morgana Stegemann [b], Rafael Dutra de Armas [d]

[a] Laboratório de Plasmas, Filmes e Superfícies, Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), 89219-710, Joinville, SC, Brasil.
[b] DuMeio – Inovação Sustentável (Startup), 89254-700, Jaraguá do Sul, SC, Brasil.
[c] Centro Universitário UniSENAI – Campus Jaraguá do Sul, Jaraguá do Sul, 89259-590, Brasil.
[d] Faculdade de Saúde, Centro Universitário Católica de Santa Catarina, 89203-005, Joinville, SC, Brasil.
[e] Escola Politécnica, Centro Universitário Católica de Santa Catarina, 89203-005 Jaraguá do Sul, SC, Brasil.
[f] Curso de Nutrição, Instituto Superior e Centro Educacional Luterano Bom Jesus (IELUSC), 89221-665 Joinville, SC, Brasil.

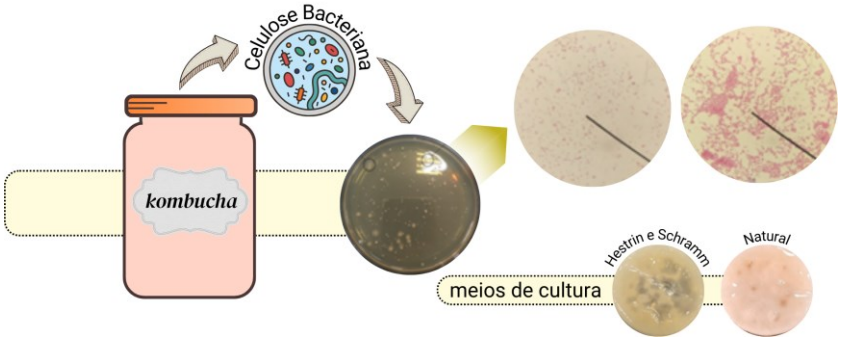
Resumo
A celulose bacteriana (CB) despertou interesse científico significativo devido às suas aplicações potenciais em vários setores, incluindo indústrias médicas, cosméticas, alimentícias, ambientais e de moda. Esse interesse decorre de seus atributos como material biodegradável, biocompatível e com notáveis propriedades mecânicas, proveniente de origens renováveis. Além disso, o seu processo de produção é simples, produzindo apenas resíduos orgânicos e compostáveis. A produção de CB necessita de microrganismos e de um meio de cultura. Embora a bactéria Gram-negativa *Komagataeibacter xylinus* seja reconhecida como particularmente eficiente para a produção isolada de CB, consórcios de microrganismos como o kombucha demonstraram rendimentos promissores sob condições de cultura adequadas. Assim, este estudo busca verificar a diversidade de microrganismos presentes nas amostras de kombucha e sua respectiva produtividade de CB em diversos meios de cultura. Quatro amostras de kombucha (designadas A, B, C e D) juntamente com dois tipos de meios de cultura, HS e natural (composto por chá e açúcar), foram submetidas à experimentação. A enumeração de microrganismos revelou a amostra C como a mais abundante, seguida por A, D e B, com a identificação de três variedades distintas de colônias. Entre estes, dois exibiram características morfológicas semelhantes a bacilos Gram-negativos curtos, característicos de *K. xylinus*, e bacilos Gram-positivos, sugerindo uma cepa de levedura. A produção de CB mostrou-se mais eficiente quando se utilizou o meio de cultura natural, particularmente evidente na amostra C, possivelmente atribuível a parâmetros físicos e químicos favoráveis dentro deste meio de crescimento. Notavelmente, o meio de cultura natural exibiu maior eficácia na produção de CB com culturas derivadas da amostra C do kombucha.

Palavras-chave: Celulose bacteriana (CB), produção de CB, rendimento de CB, kombucha, variabilidade de microrganismos.

Abstract
Bacterial cellulose (BC) has elicited significant scientific interest due to its potential applications across various sectors, including medical, cosmetic, food, environmental, and fashion industries. This interest stems from its attributes as a biodegradable, biocompatible material with notable mechanical properties, sourced from renewable origins. Furthermore, its production process is straightforward, yielding solely organic and compostable waste. The production of BC necessitates microorganisms and a cultured medium. While the Gram-negative bacterium *Komagataeibacter xylinus* is recognized as particularly efficient for BC production in isolation, consortia of microorganisms such as those found in kombucha have demonstrated promising yields under suitable culture conditions. Hence, this study endeavors to ascertain the diversity of microorganisms present in kombucha samples and their respective BC productivity across varied culture media. Four kombucha samples (designated A, B, C, and D), along with two types of culture media, HS and natural (comprising tea and sugar), were subjected to experimentation. Microorganism enumeration revealed sample C as the most abundant, followed by A, D, and B, with the identification of three distinct colony varieties. Among these, two exhibited morphological traits akin to short Gram-negative bacilli, characteristic of *K. xylinus*, and Gram-positive bacilli, suggesting a yeast strain. BC production proved more efficient when utilizing the natural culture medium, particularly evident in sample C, possibly attributable to favorable physical and chemical parameters within this growth medium. Notably, the natural culture medium exhibited heightened efficacy in BC production with cultures derived from kombucha sample C.

Keywords: Bacterial cellulose (BC), BC production, BC yield, kombucha, microorganism variability.

Graphical Abstract



*Corresponding author: Aline R. Almeida. E-mail address: alinerosaufpr@gmail.com
Received: 03 May 2024; Accepted: 22 May 2024; Published: 24 May 2024.
© The Author(s) 2024. Open Access (CC BY 4.0).

ROYALDATASET

1. Introdução

A celulose bacteriana (CB) tem despertado grande interesse científico, sendo objeto de uma variedade de pesquisas e, consequentemente, tornando a sua utilização na indústria muito promissora em diferentes setores (Duarte et al., 2019; Fernandes et al., 2020; Torres et al., 2019; Wang et al., 2008, 2019).

Na literatura encontramos relatos da aplicabilidade de CB para diferentes finalidades. Bianchet e colaboradores (2020) em revisão recente, abordam a aplicabilidade da celulose bacteriana em cosméticos. Pesquisas também foram realizadas com a CB na indústria alimentícia com destaque na utilização como material biodegradável para embalagens de alimentos (Cazón & Vázquez, 2021; Lin et al., 2020). Na área de biomedicina, em sistema regenerativo e medicina diagnóstica, tratamentos de reparação da pele como curativos biotecnológicos à base de CB, para serem utilizados em casos de queimaduras, feridas e úlceras, pois as membranas de CB aceleram o processo de cicatrização e evitam infecções (Oprea et al., 2020; Picheth et al., 2017; Sulaeva et al., 2015; Volova et al., 2019). Também utilizada em composição de meio filtrantes/separação para retirada de metais pesados da água (Núñez et al., 2020; Wahid et al., 2022). Utilização da CB como base para incorporação de partículas e sensores entre outros (Gomes et al., 2020; Núñez et al., 2020; Sriplai & Pinitsoontorn, 2021; Torres et al., 2019; Wang et al., 2019). Na indústria da moda tem despertado grande interesse para sua utilização em fibra de liocel, utilizando CB como matéria-prima deste tecido e também como material semelhante ao couro (Lee, 2016; Ng & Wang, 2016; Stegemann, Almeida, & Medeiros, 2022).

Inicialmente a CB, foi descrita como “uma espécie de pele úmida, inchada, gelatinosa e escorregadia” por Brown (1886), e posteriormente Hibbert e Barsha (1931) analisaram a composição química e as propriedades estruturais do CB observando que esse material é um produto com estrutura quimicamente e equivalente a celulose vegetal (CV), pois a fórmula molecular de ambas são idênticas, embora a CB tenha propriedades únicas em comparação com a celulose derivada de plantas.

A CB, assim como a CV, é um biopolímero natural não ramificado composto por unidades de glicose anidra conectadas por ligações glicosídicas β-1-4, sendo a celulose o principal componente estrutural da parede celular de plantas, fungos e algumas algas e o responsável pela rigidez e textura desses (Szymańska et al., 2022; Ul-Islam et al., 2019).

Sabe-se que o tratamento de remoção das impurezas como lignina, pectina e hemicelulose, conhecido como purificação, são essenciais em CV para diversas aplicações, são realizados utilizando métodos químicos agressivos (Szymańska et al., 2022; Ul-Islam et al., 2019). Por outro lado, na CB os processos de tratamento que são empregados para remover os produtos secundários da fermentação, como ácidos nucleicos, insumos e açúcares, são simples consistindo de lavagem e não utilizam de agentes químicos nocivos, sendo assim a purificação da CB é mais econômica e ambientalmente amigável. Desta forma, a CB apresenta maior índice de cristalinidade e retém maior grau de polimerização após o tratamento de lavagem, em comparação com a CV após a sua purificação (Sederavičiūtė et al., 2019; Szymańska et al., 2022).

Outra característica importante da CB é sua hidrofilicidade, pois está é capaz de absorver quase 100 vezes sua própria massa em água, além de sua biodegradabilidade, biocompatibilidade e importantes propriedades mecânicas provenientes de uma estrutura tridimensional formada por nanofibras 3D de celulose pura organizadas como uma rede coerente (Duarte et al., 2019; Fernandes et al., 2020; Torres et al., 2019; Wang et al., 2019).

A CB também pode ser obtida pela produção de kombucha, uma bebida probiótica, sendo a CB sintetizada durante o processo de fermentação, por uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras (SCOBY- do inglês *symbiotic culture of bacteria and yeasts*), onde os microrganismos utilizam para a sua síntese uma solução a base de carboidratos (açúcar) e nutrientes (oriundos do chá de *Camellia sinensis*), gerando um biofilme à base de celulose na interface ar-líquido. Está película de CB é considerado um resíduo nas indústrias produtoras de kombucha, mas representa uma importante fonte potencial de CB (Provin et al., 2021; Wang et al., 2019; Wood, 2019).

Segundo a literatura, os microrganismos mais eficientes para a produção de CB são as bactérias Gram negativas pertencente ao gênero *Acetobacter*, *Acetobacter hansenii* e *Acetobacter pasteurianuse* principalmente a *Komagataeibacter xylinus* (anteriormente, *Gluconacetobacter xylinus*) (Provin et al., 2021; Wang et al., 2019). Em estudo para a identificação cepas produtoras de CB obtida da kombucha, Domskiene et al. (2019) observaram, através do sequenciamento genético do DNA, a bactéria *Komagataeibacter xylinus* e componentes de levedura, como *Zygosaccharomyces bailii*.

Diferentes fatores podem afetar a eficiência da produção de CB, dentre eles a cepa de microrganismo e seu potencial de síntese de CB, as condições de crescimento da cultura (pH, temperatura, disponibilidade de oxigênio, etc.), composição do meio de cultura (disponibilidade de nutrientes) e forma de cultivo estática (produzindo um filme gelatinoso na interface ar/líquido do meio de cultura) ou agitado (obtém-se celulose com tamanhos e formas variados) (Sederavičiūtė et al., 2019; Szymańska et al., 2022).

A utilização da kombucha como cultura produtora de CB é extremamente interessante, porém a diversidade e quantidade de microrganismos presentes pode variar muito e ser influenciada pela região em que foi proveniente, afetando diretamente o rendimento de CB. Outro fator importante que se deve levar em consideração é o meio de cultura utilizado e as características físico-químicas deste. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi verificar a variedades de microrganismos presentes em diferentes amostras de kombucha, bem como a sua produtividade de CB em diferentes meios de cultura.

2. Material e Métodos

2.1 Material

As amostras analisadas de cultura de kombucha foram coletadas empiricamente na cidade de Jaraguá do Sul - SC, obtendo assim 4 amostras denominadas A, B, C e D, armazenadas em temperatura ambiente (25 ± 2 °C) até a realização dos experimentos.

Os meios de cultura utilizados foram ágar sangue e o Hestrin e Schramm (HS), contendo glicose 30 g/L, peptona 5 g/L, extrato de levedura 5 g/L, fosfato dissódico 5,1 g/L, ácido cítrico 1,15 g/L, água destilada, ágar 15 g/L, pH 6,7 a 25 ºC, meio natural compostos por infusão de folhas secas de *Camellia sinensis* e açúcar comercial (sacarose) adquiridas no comércio local de Jaraguá do Sul - SC. Demais equipamentos e reagentes de grau analítico.

2.2 Análises físico-químicas

Foram realizadas análises de acidez total, pH e °Brix, conforme os métodos estabelecidos pela AOAC - Association of Official Analytical Chemists (2005).

2.3 Contagem total de microrganismos viáveis

A análise de microrganismos viáveis foi conduzida por contagem total de colônias utilizando dois meios de cultura com composição diferentes e conhecidas: o meio ágar sangue para contagem total, e o Hestrin e Schramm (HS) para crescimento específico de microrganismos produtores de celulose bacteriana (CB), assim verificando quantidade e diversidade de culturas presentes no meio. Inicialmente, foram feitas diluições de todas as amostras até 10^{-3}. Em seguida, procedeu-se com o método de semeadura utilizando o plaqueamento por superfície, onde 0,1 mL de cada diluição da amostra foi inoculada diretamente na superfície do meio sólido e espalhado com o auxílio de uma alça de vidro, incubada a 28 ± 2 °C e o crescimento observado após 48 horas (Brasil, 2013). Todo o experimento foi realizado em triplicata.

2.4 Coloração de Gram

As colônias distintas, de cada uma das amostras, foram isoladas e a partir daí foi realizada a coloração de Gram. Esse processo foi executado através de esfregaço da colônia em lâmina, com a auxílio de água destilada estéreo e alça, com posterior fixação na chama e coloração, primeiro com corante cristal violeta, seguida de Iodo, lavagem com álcool e aplicação de safranina, secagem com papel macio e observação em microscópio ótico, onde para a coloração rosa a parede celular dos microrganismos é Gram positiva e se for roxa, Gram negativa (Brasil, 2013).

2.5. Teste de catalase

Para este teste bioquímico, as colônias distintas e isoladas de bactérias ou leveduras, foram colocadas em uma lâmina com o auxílio de alça e uma gota de peróxido de hidrogênio adicionada sob a lâmina, na qual foi observado o surgimento ou não de bolhas. Este teste tem o intuito de verificar se os microrganismos estudados são anaeróbicos, visto que a maioria deles possuem a enzima catalase, que decompõe o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, resultando na formação de bolhas (Brasil, 2013).

2.6. Crescimento de CB em diferentes meios de cultura

Os testes de crescimento de CB em diferentes meios foram conduzidos usando o meio de cultura sintético caldo HS e meio de cultura natural de infusão de folhas secas de *Camellia sinensis* mais açúcar comercial (sacarose). Em erlenmeyer de 250 mL foram adicionados 50 mL de cada meio de cultura e 50 mL de kombucha, coberta com tecido de algodão sem contato entre meio nutritivo e cobertura, e incubados por 10 dias a 28 ± 2°C de forma estática. Após esse período, a película de CB formada na superfície foi coletada e pesada para verificar taxa de crescimento (Lavasani et al., 2017).

2.7 Análise estatística

Os dados obtidos para as determinações realizadas em triplicata foram expressos como médias e desvio padrão. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a comparação de médias realizada pelo Teste de Tukey com nível de significância de 5%, utilizando-se o programa Statistica 7.0.

3. Resultados e Discussão

A análise da **Tabela 1**, que apresenta a contagem total de colônias em meio ágar sangue e Hestrin e Schramm (HS) para as amostras, fornece insights importantes sobre a eficácia de diferentes meios de cultura na promoção do crescimento microbiano. Em relação a contagem total de microrganismos em ágar sangue, podemos concluir que a amostra C apresenta maior viabilidade de microrganismos seguido de A, D e B; em contrapartida, para o meio HS, não foi possível realizar a contagem devido ao grande crescimento até mesmo na maior diluição.

Por outro lado, a **Tabela 2** apresenta o isolamento de colônias, coloração de Gram e teste de catalase para as amostras de kombucha, oferecendo informações detalhadas sobre as características microbiológicas das amostras de kombucha analisadas. Para o crescimento em meio específico (HS), para as amostras B, C e D foram identificadas 3 variedades de colônia distintas sendo denominadas como, espalhada, pequena e forte. Por outro lado, na amostra A, a presença de colônia forte não foi identificada, apenas as colônias espalhada e pequena.

Tabela 1 Contagem total de colônias em meio ágar sangue e Hestrin e Schramm (HS) para as amostras

Amostra	UFC/mL Ágar sangue	UFC/mL Ágar HS
A	775.000 ± 35.355 ^{a,b}	>3.000.000
B	195.000 ± 35.355 ^{a}	>3.000.000
C	910.000 ± 410.121 ^{b}	>3.000.000
D	425.000 ± 233.345 ^{a,b}	>3.000.000

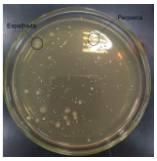
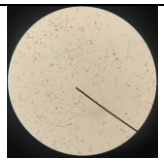
UFC: Unidade formadora de colônias. Valores apresentados como a média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) quando analisadas pelo teste de Tukey.

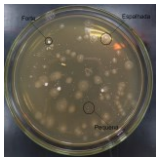
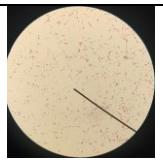
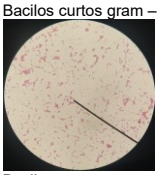
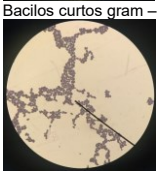
As colônias espalhadas e pequenas apresentaram morfologia de bacilos curto Gram negativo com catalase positiva, características semelhantes a relatada na literatura para o *Komagataeibacter xylinus*, microrganismo produtor de CB. Em contraste, a colônia denominada forte foi caracterizada como bacilos Gram positivo e catalase positivo, sugerindo que se trata de uma cepa de leveduras (**Tabela 2**).

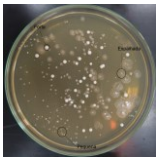
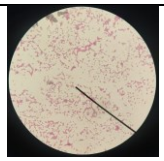
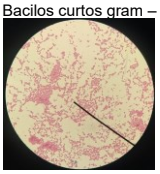
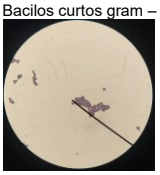
Os achados observados pelo presente estudo corroboram com a literatura que relata a presença de *K. xylinus* microrganismo em forma de bastonete, Gram negativo e catalase positivo e leveduras em amostras de kombucha (Domskiene et al., 2019; Lavasani et al., 2017). A diversidade de microrganismos e a viabilidade dos mesmos presente no meio podem influenciam diretamente na produção de CB, visto que se esses forem produtores de CB podem potencializar essa produção quando a contagem é elevada, enquanto alguns contaminantes podem prejudicar significativamente o desenvolvimento de microrganismos produtores e conseguintemente diminuir a produção de CB (Domskiene et al., 2019).

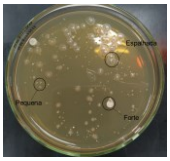
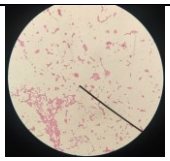
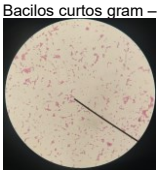
Os resultados de contagem de colônia e identificação da morfologia e coloração de Gram, sugerem que a amostra C deverá ser a mais eficiente na produção de CB por apresentar maior contagem de microrganismos com características de *K. xylinus*, que é conhecido por ser produtor de CB, porém essa afirmação e relação só pode ser feita após observarmos os testes de produção de CB de cada uma das amostras.

Tabela 2 Isolamento de colônias, coloração de Gram e teste de catalase para as amostras de kombucha

A	Colônias	Coloração de Gram	Catalase
	Espalhada	 Bacilos curtos gram –	 +
	Pequena	 Bacilos curtos gram –	 +

B	Colônias	Coloração de Gram	Catalase
	Espalhada	 Bacilos curtos gram –	 +
	Pequena	 Bacilos curtos gram –	 +
	Forte	 Bacilos gram +	 +

C	Colônias	Coloração de Gram	Catalase
	Espalhada	 Bacilos curtos gram –	 +
	Pequena	 Bacilos curtos gram –	 +
	Forte	 Bacilos gram +	 +

D	Colônias	Coloração de Gram	Catalase
	Espalhada	 Bacilos curtos gram –	 +
	Pequena	 Bacilos curtos gram –	 +
	Forte	 Bacilos gram +	 +

A **Tabela 3** apresenta a composição físico-química, incluindo pH, acidez, e concentração de sólidos (°Brix), enquanto a **Tabela 4** apresenta a produção de celulose bacteriana em meio Hestrin e Schramm e em meio natural das amostras de kombucha.

Com relação a produção de CB em meio sintético (HS) a amostra B se destacou, seguida de C, A e D, sendo que esta última não apresentou característica adequadas. Quando utilizado o meio de cultura natural (N) observou-se que a amostra C obteve uma produção significativa seguida de A, B e D (**Tabela 4**), esses resultados podem estar relacionados com os parâmetros físico-químicos observados nas amostras (**Tabela 3**).

Tabela 3 Composição físico-química de das amostras de kombucha

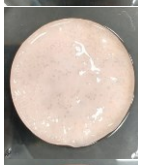
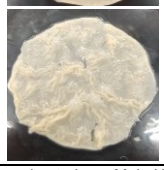
Amostra	pH	Acidez (mol/L)	Acidez (% de ácido acético)	°Brix
A	2,30	$0,33 \pm 0,01^{a}$	$1,98 \pm 0,05^{a}$	4,0
B	2,00	$0,40 \pm 0,00^{b}$	$2,40 \pm 0,03^{b}$	4,0
C	2,40	$0,13 \pm 0,00^{c}$	$0,78 \pm 0,01^{c}$	3,5
D	2,50	$0,10 \pm 0,00^{d}$	$0,62 \pm 0,01^{d}$	3,0

Valores apresentados como a média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna ou letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) quando analisadas pelo teste de Tukey.

Sabe-se que a produtividade da CB depende de diversos fatores, dentre eles a composição do meio de crescimento como nutrientes (fonte de carbono, fonte de nitrogênio, microelemento, entre outros), pH, temperatura de incubação, oxigênio dissolvido, viscosidade do meio de cultivo, além do método de cultivo (estático ou agitado), inóculo e características relacionadas a essas cepas como a idade e viabilidade das mesmas (Mohammadkazemi et al., 2015; Pacheco et al., 2017; Yim et al., 2017).

Trabalhos recentes avaliaram a influência da composição do meio de cultura na produção de CB, e Yim et al. (2017) evidenciaram que o meio de cultivo ideal para a produção de biotecidos de CB foi de chá verde como fonte de nitrogênio e sacarose para fonte de carbono. Por outro lado, Zeng et al. (2011) realizaram uma otimização estatística das condições de cultivo para produção de celulose bacteriana utilizando xarope de bordo como fonte de carbono, observando que o uso de 1,51 g/L de xarope de bordo é comparável ao uso de 1,60 g/L de frutose pura, o que é extremamente interessante para países produtores de xarope de bordo como o Canadá e os Estados Unidos (Wang et al., 2019; Yim et al., 2017; Zeng et al., 2011).

Tabela 4 Produção de CB em meio Hestrin e Schramm (HS) e natural (N) para as amostras testadas

Amostra	Meio Hestrin e Schramm		Meio Natural	
	Imagem	Produção (g)	Imagem	Produção (g)
A		4,42 ± 2,19^{aA}		9,02 ± 4,16^{abA}
B		6,70 ± 0,80^{bA}		5,90 ± 0,75^{abA}
C		5,34 ± 0,64^{abA}		14,54 ± 2,25^{bB}
D		0,96 ± 0,20^{cA}		2,78 ± 1,18^{aA}

CB: Celulose bacteriana; Meio Hestrin e Schramm (HS): Glicose 30 g/L, peptona 5 g/L, extrato de levedura 5 g/L, fosfato dissódico 5,1 g/L, ácido cítrico 1,15 g/L, água destilada, ágar 15 g/L, pH 6,7 a 25ºC; Meio Natural (N): Infusão folhas secas de *Camellia sinensis* e açúcar comercial (sacarose) a 25ºC; Valores apresentados como a média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna ou letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) quando analisadas pelo teste de Tukey.

O crescimento bacteriano em cultura estática, como o desenvolvido neste trabalho, pode ser modelado com quatro fases diferentes, sendo que a maior parte do CB é produzida durante as fases B e C, evidenciadas na **Fig. 1**, que normalmente ocorrem até o décimo dia de incubação (Wang et al., 2019).

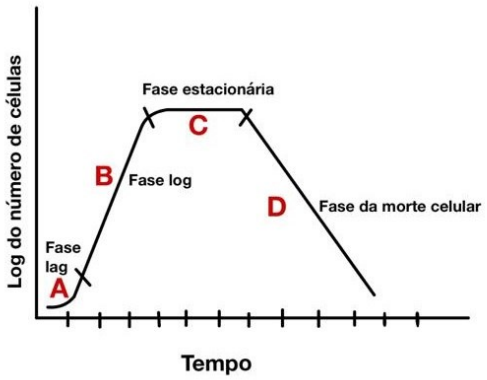


Fig. 1 Representação esquemática geral da curva de crescimento microbiológico

O pH/acidez do meio é considerado um parâmetro crítico para a alta produtividade de CB, pois durante o processo inicial de incubação, o consumo de ácido acético e a produção de ácido glicídico podem permanecer constantes em termos de pH e ambiente de fermentação. No entanto, se o teor de glicose no meio de cultura for maior que o do ácido acético, as bactérias podem converter ativa e continuamente a glicose em ácido glucônico durante o processo de fermentação, pois a oxidação da glicose pela glicose desidrogenase ligada à membrana forma ácido glucônico, ocasionando assim um decréscimo no pH, podendo chegar até 3 e consequentemente aumentando a acidez do meio, o que pode diminuir ou até mesmo inibir a produção de CB, visto que está é prejudicada por pHs baixos/meios ácidos (Wang et al., 2019; Zeng et al., 2011). Desta forma meios com pH baixo não são adequados para o crescimento de bactérias produtoras de CB, com resultados experimentais indicando que a biossíntese de CB cessou quando o valor de pH estava fora da faixa adequada para a formação de CB ($4 < pH < 7$) (Wang et al., 2019).

Com relação aos nutrientes presentes no meio de cultura e a relação com a produção de CB, para o presente estudo as fontes de carboidrato variaram em relação ao meio de crescimento utilizado, HS (glicose) e N (sacarose), este fator pode ter influenciado na produção de CB, visto que para a maioria das amostras testadas o meio N apresentou uma maior produção de CB. Tabaii e Emtiazi (2016) avaliaram a produção de CB em meio HS substituindo a glicose por outras fontes de carbono e observaram que o rendimento e as características da celulose bacteriana foram influenciados pelo tipo de fonte de carbono. Yim et al. (2017) observaram que o rendimento de CB foi maior quando adicionado sacarose no meio de crescimento, seguida de mel, frutose e xarope de milho como fontes de carbono em meio contendo chá como substrato, com incubação por 12 dias a 26°C. Zeng et al. (2011) investigaram o rendimento da produção de CB usando xarope de bordo, glicose, frutose e sacarose como fonte de carbono e relataram que o rendimento para a glicose foi o mais baixo em comparação com as outras fontes de carbono, sendo que entre os três açúcares puros testados a sacarose foi a que apresentou maior rendimento. Desta forma os relatos da literatura corroboram com o que pode ser observado no presente estudo com relação a fonte de carbono utilizada.

Com relação composição do meio de cultura a fonte de nitrogênio utilizada também pode influenciar na produção de CB. Alguns autores relatam que a utilização de chás (*Camellia sinensis*) podem proporcionam maior produção de CB quando comparado com o meio sintético HS, sendo está uma opção viável financeiramente para produção em larga escala, visto que a utilização de chá como substrato para a síntese de CB é mais barata em relação ao meio HS e, ainda pode gerar um rendimento de CB maior (Nguyen et al., 2008; Yim et al., 2017).

4. Considerações Finais

As culturas de kombucha apresentaram uma grande variação de microrganismos presentes, o que pode ter afetado diretamente a produção de CB, a depender também do meio de cultura utilizado. No presente estudo, a amostra C de kombucha se destacou por apresentar elevada contagem de microrganismos iniciais o que promoveu uma maior produção de CB, principalmente em meio natural. Quanto ao meio de cultura utilizado, o natural foi mais eficiente em comparação com o meio HS, o que pode estar relacionado com os fatores físico-químicos ou até mesmo ao fato da cultura de kombucha ser proveniente de meio natural e está estar adaptada a esse tipo de meio. O trabalho apresenta significativa contribuição cientifica, o que torna interessante pesquisas adicionais futuras para o isolamento de cepas e verificação da produção em diferentes meios de cultura além de caracterização da CB obtida.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer ao Centro Universitário Católica de Joinville pelo apoio técnico durante trabalho. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-Brasil (CNPq)-Código Financeiro n.º 350722/2022-6, e pela Fundação de Amparo à Pesquisa de Santa Catarina (2022TR001116) pelo financiamento parcial deste estudo.

Contribuições dos Autores

A.R.A.: Curadoria de Dados, Redação - Preparação do Rascunho Original. C. S.: Redação - Revisão e Edição. M.V.O.B.M.: Curadoria de Dados. A.B.C.: Curadoria de Dados. T.R.C.S.: Curadoria de Dados. H.S.M.: Supervisão. M.S.: Supervisão. R.D.A.: Supervisão. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

Disponibilidade de dados e materiais

Os dados que dão suporte aos resultados deste estudo estão disponíveis através do autor correspondente, Aline da Rosa Almeida, mediante solicitação razoável.

Conflitos de Interesses

Os autores declaram que não têm interesses conflitantes.

Financiamento

Este estudo foi parcialmente financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-Brasil (CNPq)-Código Financeiro n.º 350722/2022-6, e pela Fundação de Amparo à Pesquisa de Santa Catarina (2022TR001116).

Referências

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. (2005). *Official Methods of analysis of AOAC International. 18. ed. Washington: AOAC, 2005.* (18th ed.). AOAC International.

Bianchet, R. T., Cubas, A. L. V., Machado, M. M., & Moecke, E. H. S. (2020). Applicability of bacterial cellulose in cosmetics – bibliometric review. *Biotechnology Reports*, *27*(III), e00502. https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00502

Brasil. (2013). Módulo 7: Detecção e identificação de micobactérias de importância médica. In Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Ed.), *Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde* (pp. 19–43). ANVISA.

Brown, A. J. (1886). XLIII. - On an acetic ferment which forms cellulose. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, *49*(545), 432–439. https://doi.org/10.1039/CT8864900432

Cazón, P., & Vázquez, M. (2021). Bacterial cellulose as a biodegradable food packaging material: A review. *Food Hydrocolloids*, *113*, 106530. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106530

Domskiene, J., Sederaviciute, F., & Simonaityte, J. (2019). Kombucha bacterial cellulose for sustainable fashion. *International Journal of Clothing Science and Technology*, *31*(5), 644–652. https://doi.org/10.1108/IJCST-02-2019-0010

Duarte, É. B., Andrade, F. K., Lima, H. L. S., Nascimento, E. S. do, Carneiro, M. J. M., Borges, M. de F., Luz, E. P. C. G., Chagas, B. S. das, & Rosa, M. de F. (2019). Celulose bacteriana: propriedades, meios fermentativos e aplicações. *Documentos (Embrapa Agroindústria Tropical)*, *186*, 1–37. https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1109174

Fernandes, I. de A. A., Pedro, A. C., Ribeiro, V. R., Bortolini, D. G., Ozaki, M. S. C., Maciel, G. M., & Haminiuk, C. W. I. (2020). Bacterial cellulose: From production optimization to new applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, *164*, 2598–2611. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.255

Gomes, N. O., Carrilho, E., Machado, S. A. S., & Sgobbi, L. F. (2020). Bacterial cellulose-based electrochemical sensing platform: A smart material for miniaturized biosensors. *Electrochimica Acta*, *349*. https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.136341

Hibbert, H., & Barsha, J. (1931). Studies on Reactions Relating To Carbohydrates and Polysaccharides: Xxxix. Structure of the Cellulose Synthesized By the Action of Acetobacter Xylinus on Glucose . *Canadian Journal of Research*, *5*(5), 580–591. https://doi.org/10.1139/cjr31-096

Lavasani, P. S., Motevaseli, E., Shirzad, M., & Modarressi, M. H. (2017). Isolation and identification of *Komagataeibacter xylinus* from Iranian traditional vinegars and molecular analyses. *Iranian Journal of Microbiology*, *9*(6), 338–347.

Lee, Y. A. (2016). Case study of renewable bacteria cellulose fiber and biopolymer composites in sustainable design practices. *Environmental Footprints and Eco-Design of Products and Processes*, 141–162. https://doi.org/10.1007/978-981-10-0522-0_6

Lin, D., Liu, Z., Shen, R., Chen, S., & Yang, X. (2020). Bacterial cellulose in food industry: Current research and future prospects. *International Journal of Biological Macromolecules*, *158*, 1007–1019. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.230

Mohammadkazemi, F., Azin, M., & Ashori, A. (2015). Production of bacterial cellulose using different carbon sources and culture media. *Carbohydrate Polymers*, *117*, 518–523. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.008

Ng, F. M. ., & Wang, P. W. (2016). Natural Self-grown Fashion From Bacterial Cellulose: A Paradigm Shift Design Approach In Fashion Creation. *Design Journal*, *19*(6), 837–855. https://doi.org/10.1080/14606925.2016.1208388

Nguyen, V. T., Gidley, M. J., & Dykes, G. A. (2008). Potential of a nisin-containing bacterial cellulose film to inhibit Listeria monocytogenes on processed meats. *Food Microbiology*, *25*(3), 471–478. https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.01.004

Núñez, D., Cáceres, R., Ide, W., Varaprasad, K., & Oyarzún, P. (2020). An ecofriendly nanocomposite of bacterial cellulose and hydroxyapatite efficiently removes lead from water. *International Journal of Biological Macromolecules*, *165*, 2711–2720. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.055

Oprea, M., Panaitescu, D. M., Nicolae, C. A., Raluca, A., Frone, A. N., Raditoiu, V., Trusca, R., & Casarica, A. (2020). Nanocomposites from functionalized bacterial cellulose and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate). *Polymer Degradation and Stability*, *179*. https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2020.109203

Pacheco, G., Nogueira, C. R., Meneguin, A. B., Trovatti, E., Silva, M. C. C., Machado, R. T. A., Ribeiro, S. J. L., da Silva Filho, E. C., & da S. Barud, H. (2017). Development and characterization of bacterial cellulose produced by cashew tree residues as alternative carbon source. *Industrial Crops and Products*, *107*(May), 13–19. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.026

Picheth, G. F., Pirich, C. L., Sierakowski, M. R., Woehl, M. A., Sakakibara, C. N., de Souza, C. F., Martin, A. A., da Silva, R., & de Freitas, R. A. (2017). Bacterial cellulose in biomedical applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, *104*, 97–106. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.171

Provin, A. P., dos Reis, V. O., Hilesheim, S. E., Bianchet, R. T., de Aguiar Dutra, A. R., & Cubas, A. L. V. (2021). Use of bacterial cellulose in the textile industry and the wettability challenge—a review. *Cellulose*, *28*(13), 8255–8274. https://doi.org/10.1007/s10570-021-04059-3

Sederavičiūtė, F., Bekampienė, P., & Domskienė, J. (2019). Effect of pretreatment procedure on properties of Kombucha fermented bacterial cellulose membrane. *Polymer Testing*, *78*(February). https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2019.105941

Sriplai, N., & Pinitsoontorn, S. (2021). Bacterial cellulose-based magnetic nanocomposites: A review. *Carbohydrate Polymers*, *254*, 117228. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117228

Stegemann, C., Almeida, A. d R., & Medeiros, H. de S. (2022). Biofabricação: um horizonte sustentável para o mundo da moda. *Revista E-TECH: Tecnologias Para Competitividade Industrial - ISSN - 1983-1838*, *15*(2), 1–18. https://doi.org/10.18624/etech.v15i2.1214

Sulaeva, I., Henniges, U., Rosenau, T., & Potthast, A. (2015). Bacterial cellulose as a material for wound treatment: Properties and modifications: A review. *Biotechnology Advances*, *33*(8), 1547–1571. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.07.009

Szymańska, M., Hoppe, J., Dutkiewicz, M., Sobolewski, P., Palacz, M., Janus, E., Zielińska, B., & Drozd, R. (2022). Silicone polyether surfactant enhances bacterial cellulose synthesis and water holding capacity. *International Journal of Biological Macromolecules*, *208*(March), 642–653. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.124

Tabaii, M. J., & Emtiazi, G. (2016). Comparison of bacterial cellulose production among different strains and fermented media. *Applied Food Biotechnology*, *3*(1), 35–41. https://doi.org/10.22037/afb.v3i1.10582

Torres, F. G., Arroyo, J. J., & Troncoso, O. P. (2019). Bacterial cellulose nanocomposites: An all-nano type of material. *Materials Science and Engineering: C*, *98*, 1277–1293. https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.01.064

Ul-Islam, M., Khan, S., Ullah, M. W., & Park, J. K. (2019). Comparative study of plant and bacterial cellulose pellicles regenerated from dissolved states. *International Journal of Biological Macromolecules*, *137*, 247–252. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.232

Volova, T. G., Shumilova, A. A., Nikolaeva, E. D., Kirichenko, A. K., & Shishatskaya, E. I. (2019). Biotechnological wound dressings based on bacterial cellulose and degradable copolymer P(3HB/4HB). *International Journal of Biological Macromolecules*, *131*, 230–240. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.068

Wahid, F., Zhao, X. Q., Cui, J. X., Wang, Y. Y., Wang, F. P., Jia, S. R., & Zhong, C. (2022). Fabrication of bacterial cellulose with TiO2-ZnO nanocomposites as a multifunctional membrane for water remediation. *Journal of Colloid and Interface Science*, *620*, 1–13. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2022.03.108

Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., & Li, X. (2008). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*, *106*(2), 804–810. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.062

Wang, J., Tavakoli, J., & Tang, Y. (2019). Bacterial cellulose production, properties and applications with different culture methods – A review. *Carbohydrate Polymers*, *219*(May), 63–76. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.05.008

Wood, J. (2019). Bioinspiration in Fashion-A Review. *Biomimetics*, *4*(1). https://doi.org/10.3390/biomimetics4010016

Yim, S. M., Song, J. E., & Kim, H. R. (2017). Production and characterization of bacterial cellulose fabrics by nitrogen sources of tea and carbon sources of sugar. *Process Biochemistry*, *59*, 26–36. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.07.001

Zeng, X., Small, D. P., & Wan, W. (2011). Statistical optimization of culture conditions for bacterial cellulose production by Acetobacter xylinum BPR 2001 from maple syrup. *Carbohydrate Polymers*, *85*(3), 506–513. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.02.034