

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Programa de Pós-graduação em Tecnologia Bioquímica - Farmacêutica

Área de Tecnologia de Alimentos

**Kombucha como alimento potencialmente psicobiótico**

Roberta Paulino Lopes Gaspar

Dissertação para obtenção do título de

Mestre em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristina Stewart Bogsan

São Paulo

2022

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Programa de Pós-graduação em Tecnologia Bioquímico - Farmacêutica

Área de Tecnologia de Alimentos

**Kombucha como alimento potencialmente psicobiótico**

**Roberta Paulino Lopes Gaspar**

Versão Corrigida

Dissertação para obtenção do título de

Mestre em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cristina Stewart Bogsan

São Paulo

2022

Roberta Paulino Lopes Gaspar

Kombucha como alimento potencialmente psicobiótico

Comissão Julgadora  
da  
Dissertação para obtenção do Título de Mestre

Prof. Dr. Cristina Stewart Bittencourt Bogsan – orientador/presidente

Eduardo Purgatto - 1o. examinador

Pedro Augusto Carlos Magno Fernandes - 2o. examinador

Sandra Maria Lima Ribeiro - 3o. examinador

São Paulo, 17 de agosto de 2022.

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:  
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

G249k Gaspar, Roberta Paulino Lopes  
Kombucha como alimento potencialmente  
psicobiótico / Roberta Paulino Lopes Gaspar. - São  
Paulo, 2022.  
61 p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências  
Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.  
Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica -  
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-  
Farmacêutica.

Orientador: Bogsan, Cristina Stewart Bittencourt

1. Alimentos Fermentados. 2. GABA. 3. Ansiedade.  
4. Ansiolítico. 5. Álcool. I. T. II. Bogsan,  
Cristina Stewart Bittencourt, orientador.

Dedico este trabalho a minha família, em especial a minha mãe Joana e meu filho Yuri que, devido a seus distúrbios cognitivos, me motivaram a seguir nesta pesquisa.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me permitiu finalizar este trabalho em meio tantos contratempos e ao universo por me dar a oportunidade dessa experiência;

Agradeço a minha família principalmente meus pais e minha sogra, obrigada pelo amor incondicional e apoio nos momentos mais críticos dessa caminhada, um agradecimento especial ao meu esposo Amauri e meu filho Kauã, pela paciência e compreensão nos momentos de esgotamento e estresse e não há nada mais que eu possa dizer a não ser que Eu Amo Vocês;

Agradeço à Universidade de São Paulo e a todos seus funcionários, pois sem vocês esta instituição não funcionaria;

Agradeço a todos os funcionários da Faculdade de Ciências Farmacêuticas FCF/USP em especial ao Técnico Alexandre;

Quero agradecer à CAPES pelo auxílio financeiro, pois sem bolsa eu não teria condição de fazer o mestrado na USP. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001;

Agradeço incondicionalmente a minha orientadora Cristina Bittencourt Stewart Bogsan a quem admiro, quem acreditou em mim mais do que eu mesma, mesmo quando eu não acreditava que seria possível prosseguir, por ter me acolhido com tanto amor e carinho no âmbito acadêmico e por “SEMPRE” me impulsionar a seguir, você é uma pessoa doida e incrível, um ser humano mais que iluminado, gratidão não consegue definir meu agradecimento por tudo que fez por mim;

Agradeço aos meus colegas de laboratório que ajudaram no meu crescimento intelectual e profissional, em especial Mariana e Daniel que sempre se propuseram a me ajudar em meus

experimentos;

Agradeço em especial ao meu amigo Ícaro, que considero mais que um irmão, gratidão por toda sua ajuda e colaboração que foram essenciais durante todo o mestrado e que jamais terei como pagar todo conhecimento que me passou e claro, pela sua amizade que levarei eternamente, que nos momentos de frustrações nunca me abandonou.

Agradeço também a Regina e Magali pela amizade e por todo o apoio, intelectual e espiritual, gratidão por dividirem tantas experiências durante nossas conversas, que trouxeram paz e conforto deixando o coração quentinho.

Agradeço a Geovana a quem admiro como profissional, tu és porreta bixa, obrigada por se propor a me ajudar e por apontar os erros, mas também os caminhos.

Agradeço aos amigos que acreditaram e vibraram por mim sempre, Zukas, Ane, Dedo, Mai, Fran, Karen eu amo vocês;

Agradeço também a todos que torceram por mim, mesmo que eu não tenha citado aqui.

Gratidão a todos!

## RESUMO

LOPES, R. P. G. **Kombucha como alimento potencialmente psicobiótico**. 61 f. Dissertação – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo. São Paulo. 2022.

Os casos de transtorno de ansiedade têm apresentado crescimento considerável desde o início do século XX, onde a terapia medicamentosa oferecida, geralmente apresenta efeito sedativo, portanto, a busca por tratamentos adjuvantes para tratar quadros de ansiedade se fazem necessários. Estudos indicam que a modulação da microbiota intestinal pode estar relacionada à regulação neural dos indivíduos através de diversas vias, incluindo a aplicação de cepas probióticas e consumo de alimentos fermentados tradicionais como iogurte e kombucha, colaborando para a melhoria da qualidade de vida destes pacientes. Este projeto teve como objetivo buscar os metabólitos e neurotransmissores presentes no kombucha a fim de verificar seu potencial psicobióticos e comparar as aplicações e metabólitos produzidos por cepas probióticas existentes no mercado e em alimentos fermentados tradicionais que atuem no eixo intestino-cérebro. Foram realizadas pesquisas em bases de dados online, como *Pubmed*, *Web of Science*, *Scielo*, *Scopus* e *Google Scholar* no período entre 2002 e 2022 relacionados aos possíveis efeitos dos probióticos em condições de ansiedade, bem como como os mecanismos que envolvem o eixo cérebro-intestino, seja por meio de testes em humanos e em modelos animais. As espécies mais testadas quanto ao seu potencial probiótico e ação nos transtornos de ansiedade encontradas foram *Lactobacillus paracasei*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *Bifidobacterium infantis* e *B. longum*. Cada gênero demonstra um grau diferente na redução da ansiedade dos indivíduos. Os alimentos potencialmente probióticos, incluindo alimentos fermentados tradicionais, além de atuar como complemento à terapia em quadros de ansiedade, tem relevância no setor socioeconômico.

**Palavras-chave:** Alimentos Fermentados Tradicionais, GABA, 5-HT, Ansiedade, Microbiota, Eixo Intestino-Cérebro.



## ABSTRACT

LOPES, R. P. G. **Kombucha as a potential psychobiotic food.** 61 f. Dissertação – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo. São Paulo. 2022.

Anxiety disorder cases have shown considerable growth since the beginning of the 20th century, where the drug therapy offered usually has a sedative effect. Therefore, the search for adjuvant treatments to treat anxiety disorders is necessary. Studies indicate that the modulation of the intestinal microbiota may be related to the neural regulation of individuals in several ways, including the application of probiotic strains and consumption of traditional fermented foods such as yogurt and kombucha, contributing to the improvement of the quality of life of these patients. This project aimed to identify and compare the psychobiotic effect in the gut-brain axis of the metabolites and neurotransmitters produced by kombucha and commercial probiotic strains. The research was carried out in online databases, such as Pubmed, Web of Science, Scielo, Scopus, and Google Scholar in the period between 2002 and 2022 related to the possible effects of probiotics in anxiety conditions as the mechanisms that involve the brain-gut axis either through tests in humans or animal models. The species most tested for their probiotic potential and action on anxiety disorders were *Lactobacillus paracasei*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *Bifidobacterium infantis*, and *B. longum*. Each genus demonstrates a different degree of reducing individuals' anxiety. Potentially probiotic foods, including traditional fermented foods, acting as a complement to therapy in cases of anxiety, have relevance in the socioeconomic sector.

**Key words:** Traditional Fermented Foods, GABA, 5-HT, Anxiety, Microbiota, Gut-Brain Axis.

## Lista de Figuras

Figura 1 – Material utilizado no preparo das amostras.

Figura 2 – Grupos de estudo do experimento de cinética durante o processo de fermentação.

Figura 3 – Curva de tendência da variação de pH normalizada. No eixo Y observa-se a escala do pH e em X observa-se o tempo em horas.

Figura 4 – Valores absolutos de pH dos grupos de estudo analisados ao longo de 120 horas de fermentação.

Figura 5 – Gráfico da concentração de etanol em g/L.

Figura 6 – Preparo da Kombucha.

Figura 7 – Componentes benéficos da Kombucha.

Figura 8 – Distribuição do microbioma ao longo do trato gastrointestinal.

Figura 9 – Vias modulatórias do eixo intestino cérebro.

Figura 10 – Modificação da microbiota por influência do eixo intestino cérebro.

Figura 11 – Representação gráfica da distribuição do nervo vago.

Figura 12 – Comunicação de neurotransmissores entre barreira endotelial intestinal e barreira hematoencefálica.

Figura 13 – Representação gráfica da interação dos metabólitos/neurotransmissores com as vias do eixo intestino – cérebro.

## Lista de Abreviaturas e Siglas

ANVISA	agência nacional de vigilância sanitária
SCOBY	<i>Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast</i>
ISAPP	<i>Internacional Scientific Association for Probiotic and Prebiotic</i>
SNE	sistema nervoso entérico
SNC	sistema nervoso central
GABA	ácido gama aminobutírico
OMS	organização mundial da saúde
IL-6	interleucina 6
TNF- $\alpha$	fator de necrose tumoral alfa
BDNF	fator neuro trófico derivado do cérebro
5-HTP	5- hidroxitriptofano
BAA	bactérias ácido-acéticas
BAL	bactérias ácido-láticas
AGCC	ácidos graxos de cadeia curta

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	8
<b>ABSTRACT</b> .....	9
<i>Lista de Figuras</i> .....	10
<i>Lista de Abreviaturas e Siglas</i> .....	11
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	16
<i>Objetivo Geral</i> .....	16
<i>Objetivos específicos</i> .....	16
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	17
<i>Revisão</i> .....	26
<i>Kombucha</i> .....	17
<i>Amostras</i> .....	17
<i>Cinetica de Acidificação</i> .....	18
<i>Determinação de etanol por Headspace – CG - FID</i> .....	19
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	21
<i>Cinetica de Acidificação</i> .....	21
<i>Determinação de etanol por Headspace – CG - FID</i> .....	23
<b>5. REVISÃO NARRATIVA</b> .....	24
<i>Kombucha</i> .....	25
<i>Microbiota</i> .....	30
<i>Ansiedade</i> .....	30
<i>Eixo intestino-cérebro</i> .....	31
<i>Probióticos</i> .....	40
<i>Psicobióticos</i> .....	41
<i>Kombucha como alimento potencialmente psicobióticos</i> .....	45
<i>Conclusão</i> .....	47
<b>6. FINANCIAMENTO</b> .....	49
<b>ANEXOS</b> .....	58
<b>ANEXO A – Atividades Complementares</b> .....	58
<b>ANEXO B – Histórico Escolar</b> .....	60



## 1. INTRODUÇÃO

Probióticos, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária e a Associação Científica Internacional para Probióticos e Prebióticos (HILL *et al.*, 2014, ANVISA, 2018) são “microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do indivíduo”.

A principal função dos probióticos, é regular a microbiota intestinal, no entanto, eles atuam como adjuvantes no tratamento de diversos quadros patológicos, como no combate a alergias, modulação da microbiota e regulação do sistema imunológico (COPPOLA, 2004).

Os alimentos com potencial probiótico podem ser compostos por diversos microrganismos vivos, os quais podem ser adicionados durante o processo de fabricação ou atuar como agente transformador de matrizes alimentícias durante o processo de fermentação. Esses alimentos podem ser compostos por mono ou multicultura, favorecendo interações positivas, como o mutualismo e a simbiose, ou interações excludentes como a competição, que irão influenciar a seguridade alimentar e os possíveis efeitos benéficos das linhagens utilizadas (MOMBELLI e GISMONDO, 2000).

O kombucha é uma bebida fermentada tradicional, originária da China, preparada a partir da fermentação de chá preto ou verde adoçado (WANG, 2008). A fermentação é promovida pela cultura simbiótica de leveduras, bactérias ácido-acéticas e bactérias ácido-láticas, incorporada em matriz celulósica, chamada *symbiotic culture of bacteria and yeast* (SCOBY) que repousa acima do caldo, formando uma camada fresca em cada fermentação bem-sucedida (MARSH, 2014).

Em virtude dos benefícios oferecidos pelos probióticos, como aumento da imunidade, melhor absorção de nutrientes, modulação da microbiota intestinal, combate às alergias, intolerância a lactose, o consumo destes são promissores para a saúde (COPPOLA, 2004; SAAD, 2006), desde que, utilizadas cepas adequadas para o perfil imunológico apresentado em cada quadro patológico (SHANAHAN, 2003).

A ansiedade é caracterizada pela sensação de ameaça permanente, no qual, o indivíduo fica em estado de alerta por um motivo desconhecido. Frequentemente ela é confundida com o medo, mas o que difere medo de ansiedade é que, em quadros de medo há a identificação do

motivo pela qual se tem essa sensação. Apresentar algum tipo de ansiedade em algum momento da vida é extremamente comum, principalmente quando se é exposto a algum tipo de situação estressante, neste caso, o indivíduo geralmente apresenta sintomas como taquicardia, sudorese, inquietação, aumento da motilidade intestinal e/ou vertigem. No entanto, o desenvolvimento de um quadro de ansiedade pode ser diagnosticado quando esses sintomas ou sensações impedem o indivíduo de realizar suas atividades cotidianas (SADOCK, 2017).

Diversas substâncias que participam do processo de ansiedade e estresse, são obtidas através da comunicação com o sistema nervoso entérico (SNE) e com o sistema nervoso central (SNC) a partir da produção de alguns neurotransmissores, como o ácido gama-aminobutírico (GABA), noradrenalina, dopamina, acetilcolina e serotonina, as quais estão relacionadas também com a microbiota intestinal (MARGIS, R. et al., 2003; COWAN et al., 2017).

Dados preliminares, envolvendo o eixo cérebro – intestino, demonstram interação entre Sistema Nervoso Central (SNC) e Sistema Nervoso Entérico (SNE) por ação da serotonina e influenciam a modulação da microbiota intestinal e desenvolvimento de diversas patologias como ansiedade e depressão, no entanto, os mecanismos de ação ainda não foram totalmente elucidados (VEDOVATO, 2014).

Segundo Marco et al. (2021), alimentos oriundos de modificação da matriz alimentar por crescimento microbiano e conversão enzimática desejados são classificados como fermentados. Essas modificações estão associadas à melhoria das propriedades sensoriais e nutricionais e podem contribuir ou não com benefícios à saúde do consumidor através do estímulo da resposta imune ou mesmo modificação de sua microbiota (MARCO et al., 2021). Em 2019, o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) publicou a Resolução Normativa nº 41 sobre normas de produção e segurança da Kombucha., porém faltam informações quanto à sua funcionalidade.

Baseado nas informações citadas, acredita-se que o uso de alimentos com potencial psicobiótico possam atuar como adjuvantes no tratamento de diversas patologias, oferecendo aos seus usuários possibilidade de tratamento de baixo custo, portanto é de suma importância que seu uso não seja baseado em crença popular e sim através de comprovação científica. Assim sendo, este projeto teve como objetivo avaliar se o kombucha, como alimento

potencialmente probiótico, atua como psicobiótico com ação ansiolítica e quais os mecanismos envolvidos comparando com cepas probióticas já disponíveis no mercado.



## 2. OBJETIVOS

- *Objetivo Geral*

Este trabalho teve como objetivo principal avaliar se o kombucha pode ser considerado um alimento potencialmente psicobiótico.

- *Objetivos Específicos*

Narrativo: Construir uma revisão narrativa para identificar os metabólitos e neurotransmissores presentes no kombucha com potencial psicobiótico e comparar as aplicações e metabólitos produzidos por cepas probióticas potencialmente psicobióticas existentes no mercado que atuem no eixo intestino-cérebro.

Experimental: Verificar perfil fermentativo de acidificação e teor alcoólico afim de comparar com trabalhos anteriores.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### Revisão

A Pesquisa foi realizada em bases de dados online, como Pubmed®, ISI Web of Science®, Scielo®, Scopus®, Google Acadêmico®, de artigos científicos relacionados aos possíveis efeitos dos probióticos em condições de Transtornos de Ansiedade, bem como os mecanismos envolvendo o eixo cérebro-intestino, seja por meio de testes em animais de experimentação ou em humanos.

As palavras-chave “psicobiótico” (*psychobiotic*) “ansiedade” (*anxiety*), “probiótico” (*probiotic*), “gaba”, “5-HT”, “microbiota” (*microbiome*), foram pesquisadas combinadas ou separadamente. Foram considerados artigos publicados entre 2002 e 2022, em sua maioria na língua inglesa e excluídos aqueles que não se enquadraram aos critérios estabelecidos ou diretamente ao tema desenvolvido.

#### Kombucha

O preparo seguiu as recomendações de JABAYALAM, 2014 com algumas modificações: ferver 1 litro de água, preparar um *blend* de chá preto e chá verde nas concentrações de 10g/L e 5g/L respectivamente, suplementado com 50g/L de açúcar refinado e 10% de chá fermentado (*starter*), deixar em infusão por 15 minutos e após removê-las por filtração. Despejar o líquido num recipiente esterilizado, esperar até que o líquido arrefeça à temperatura ambiente (20 - 24°C), acrescentar 24 gramas de *SCOBYS* no recipiente e cobri-lo com uma toalha de papel para protegê-lo contra os insetos e material particulado.

#### Amostras

Foram adquiridos em caráter de doação *SCOBYS* de 4 diferentes kombuchas, sendo, 2 kombuchas de produção caseira e 2 de produção industrial. A manutenção dos *SCOBYS* foi realizada pelo processo de fermentação comum do kombucha, como demonstrado em Silva e colaboradores com modificações. Sucintamente, preparou-se uma infusão com um blend de chá verde e chá preto (*Camellia sinensis*) nas proporções de 5 g/L de chá verde e 10 g/L de chá preto, realizando infusão de 5 minutos a 87°C e 7 minutos à 93°C. Após esta etapa, adicionou-se açúcar na proporção de 50g/L, agitando o líquido até total dissolução. Após atingir temperatura ambiente, o chá adoçado foi distribuído em

diferentes recipientes e a estes foram adicionados 20 g/L de um dos SCOBYs, adicionado de 10% do volume total de kombucha previamente fermentado. Desta forma, cada SCOBY foi mantido em recipiente separado e sua fermentação ocorreu à temperatura de 23°C, durante 5 a 10 dias até a próxima troca do chá.

Figura 1 –Material utilizando no preparo das amostras.



### **Cinética de Acidificação**

Objetivando compreender o processo de acidificação de cada kombucha, foi conduzido um experimento de cinética de acidificação onde foi realizada a verificação do pH dos kombuchas durante o processo de fermentação, de hora em hora durante 240 horas. Os diferentes SCOBYs foram inoculados em chá adoçado nas proporções de 5g/L de chá verde, 10 g/L de chá preto, 50 g/L de açúcar, 20 g/L de SCOBY e 10% de líquido starter, totalizando 500 ml de meio para cada kombucha em duplicata. Após o início da fermentação, o pH foi mensurado a cada hora com medidor de pH de bancada, até o final do experimento assim como o grau Brix do líquido.

Figura 2 – Grupos de estudo do experimento de cinética durante o processo de fermentação.  
(Do autor)



### **Determinação de Etanol por Headspace-GC-FID**

Com objetivo de verificar se teor alcóolico das amostras estão dentro das normas estabelecidas pelo MAPA e FDA, um sistema de GC modelo 6890 (Hewlett-Packard, Little Falls, DE, EUA) equipado com detector de ionização de chama (FID) foi usado para a quantificação de etanol nas amostras. O instrumento foi equipado com uma coluna capilar de sílica fundida Poraplot-Q (10 m x 0,32 mm i.d. x 0,5  $\mu$ m de espessura de filme) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA). Os parâmetros do instrumento foram os seguintes: temperatura do injetor a 220°C; detector a 280°C; e a temperatura do forno foi mantida isotermicamente a 150°C durante toda a corrida de 5 minutos. O modo de injeção foi dividido, com uma razão de divisão de 50:1, e a vazão do gás de transporte de hidrogênio foi de 1,8 ml/min. A injeção foi feita manualmente usando um siring “gas-tight” de 500  $\mu$ L (Hamilton, EUA). Os dados adquiridos foram processados com o software HPCHEM (Hewlett Packard, EUA).

### ***Preparo dos calibradores***

Cinco níveis de concentração de etanol foram preparados em água destilada em triplicata (1, 2,5, 5, 10 e 20 g/L) e 2-propanol (0,6 g/L) foi utilizado como padrão interno (IS). Todos os reagentes foram adquiridos da Sigma-Aldrich (> 99%; St. Louis, EUA). Controles de qualidade (QC) de 3 concentrações diferentes (5, 10 e 20 g/L) foram usados para determinar a precisão e o viés.

### ***Preparo das amostras***

Uma amostra de chá de 200  $\mu$ L foi adicionada a um frasco de headspace de 10 ml contendo 1,8 ml da solução IS (0,6 g/L). Os frascos foram selados imediatamente com uma tampa de borracha e um selo de crimpagem de alumínio e incubados por 30 min a 70°C sem agitação. Uma alíquota de headspace de 500  $\mu$ L foi amostrada manualmente e injetada diretamente no GC.

As amostras foram analisadas em triplicata e seu sinal analítico convertido através de curva de calibração construída no mesmo dia de análise.

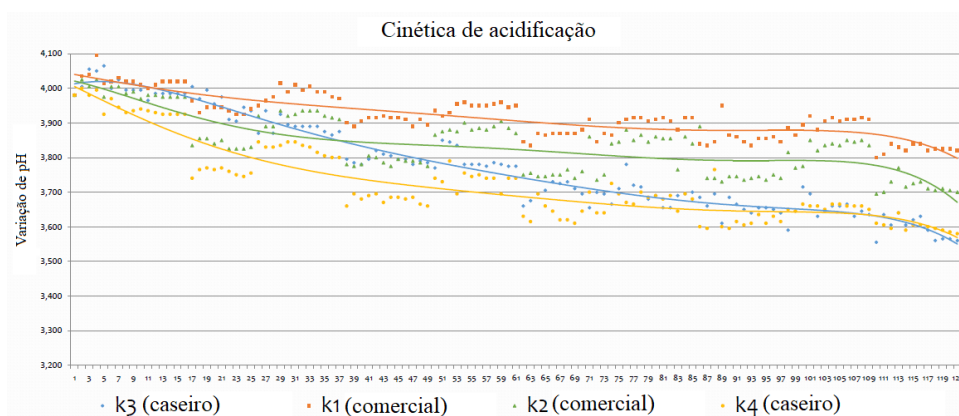
## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para este trabalho, foram adquiridos por doação, 4 diferentes kombuchas. Destes, 2 kombuchas são de origem comercial (k1 e k2) e 2 de origem caseira (k3 e k4). Ainda, k3 é um kombucha de origem canadense, enquanto k4 vem do nordeste brasileiro, do estado da Paraíba. O grupo k1 possui sua origem em São Paulo e o k2 vem da Califórnia (EUA), gerando grupos de origem geograficamente diversificada. Portanto, os kombuchas utilizados neste trabalho são tanto caseiros quanto comerciais com origens no Brasil e na América do Norte. Durante o processo de fermentação e manutenção dos kombuchas, observou-se que os 4 grupos apresentam diferentes características, tanto no processo fermentativo quanto no perfil organoléptico/sensorial. Estes são evidenciados na literatura, uma vez que cada kombucha apresenta um grupo distinto de microrganismos (OLIVEIRA et al., 2022).

### Cinética de acidificação

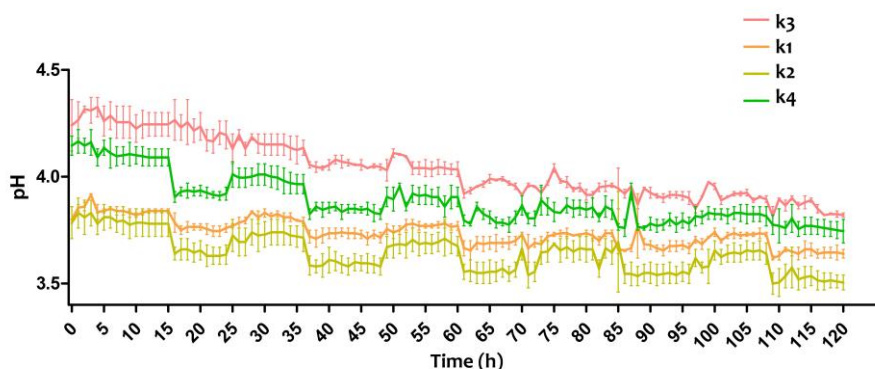
Assim surge a necessidade de identificar o perfil cinético de fermentação de cada kombucha, para que possa haver uma correlação entre o perfil fermentativo e os possíveis microrganismos predominantes nesse intervalo de tempo, do início ao término da fermentação. Assim, foi realizado um experimento de cinética de acidificação, com o intuito de primariamente identificar alterações sutis no decorrer de 240 horas de fermentação à 23°C. Todos os parâmetros iniciais de fermentação foram padronizados, desde volume de chá adoçado, concentração de açúcar, peso dos SCOBYs, volume de líquido *starter* e formato do fermentador.

Figura 3 - Curva de tendência da variação de pH ( $\Delta$ pH) normalizada. No eixo Y observa-se a escala de pH e em X observa-se o tempo em horas. (Do autor)



Apesar de realizar todo o processo de padronização, pode se observar que o pH inicial do processo fermentativo de cada Kombucha teve variação. Isto pode ter relação com a variação de metabólitos situados em cada película e starter. Além disso, após fazer os valores padrão por curva de tendência, pode-se observar que o  $\Delta\text{pH}$  para cada grupo variou muito, com valores correspondente a 0,13; 0,24; 0,52 e 0,50 nos grupos k1, k2, k3 e k4. O grupo k1 apresentou maior estabilidade na fermentação, indicado pela mínima alteração de pH do durante todo o processo. O grupo k2 teve o menor valor de pH (3,55), diferente do k3 que apresentou o maior valor de  $\Delta\text{pH}$ . K4 alcançou alto índice de acidez nas primeiras horas de fermentação, contudo essa cultura era proveniente de uma colônia modificada pela adição de *Saccharomyces boulardii*, uma levedura que possui como característica alta produção de ácido acético. (OFFEI et al., 2019). O perfil de tamponamento esteve presente em todas as amostras, um fator importante no processo de fermentação do kombucha (WATAWANA et al, 2015). O acúmulo de ácidos e gases e perfil microbiológico de cada Kombucha, podem variar durante a fermentação, devido a exposições ambientais. (TEOH et al, 2004 e MARSH et al, 2014). Todavia, a formação de um SCOBY na superfície onde o líquido encontra o ar, pode causar a formação de gases e compostos voláteis na fase líquida do kombucha, porém, mais estudos se fazem necessários. A formação de SCOBY desforme, foi devida a constante perturbação da área, de hora em hora, para medir os limites examinados. As amostras comerciais (k1 e k2) iniciaram sua fermentação em baixo pH, diferente das amostras caseiras (k3 e k4), porém, apresentaram  $\Delta\text{pH}$  menor em relação às mesmas. Essa condição pode ser causada por muitos ciclos repetidos em processos de alta produção, que tornam a mistura estável sugerindo uma regularização das populações microbianas, o que é comum no processo de fermentação desta bebida (LAUREYS et. Al, 2020).

Figura 4 – Valores absolutos de pH dos grupos de estudo analisados ao longo de 120 horas de fermentação. (Do autor)



Esta é a primeira análise cinética do kombucha com intervalo de tempo de 1 em 1 hora realizada na literatura científica e mostra que o processo de fermentação pode muitos metabólicas. Os microrganismos presentes podem ativar a síntese de metabólitos, por exemplo, a produção de ácidos orgânicos em alimentos e bebidas fermentadas. Entretanto, alguns recursos podem estar associados a diferenças notadas. Inicialmente, a área de fermentação é rica em sacarose e tem uma grande quantidade de oxigênio esgotado durante a fermentação. A redução de oxigênio e o aumento ácido carbônico, pode estar relacionado com a atividade das bactérias acéticas, colocando-as nos limites da área de contato fluido ar, embora algumas bactérias acéticas possam indicar migração. É possível que variações na produção de ácidos orgânicos, entre outros compostos, possam causar distúrbios ambientais que possibilitem a modificação do perfil microbiológico natural, em sequências naturais em diferentes épocas. Contudo, pode-se notar que dentro de um período de 80 a 90 horas de fermentação, todos os grupos de estudo apresentaram alterações significativas de pH, seguidas de uma fase de estabilização até o final das medições em 240 horas. Apesar deste acontecimento não ter sido observado na literatura, pode ser um indicador em estudos futuros da sequência natural de microrganismos presentes ao longo do processo de fermentação do kombucha. A cinética de acidificação indica então que cada kombucha possui características diferentes e que mais pesquisas se fazem necessárias para que seja possível interagir com diferentes microrganismos.

### **Determinação de Etanol por Headspace-GC-FID**

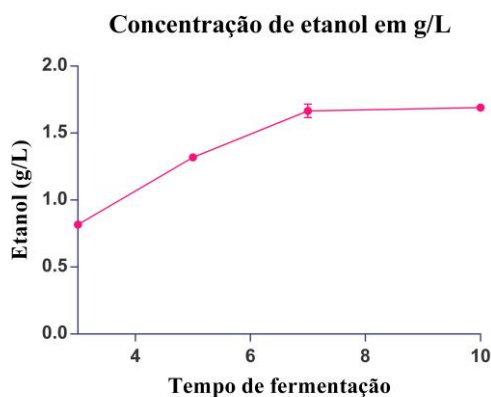
A concentração de etanol foi escolhida como parâmetro, a fim de, relacionar a segurança e interferência sobre o Sistema Nervoso Central, do uso de Kombucha, através do monitoramento do volume alcóolico no processo de fermentação da bebida. Por se tratar de uma substância que pode causar dependência e é caracterizada como droga de abuso, seu uso pode ser vetado, principalmente para alguns grupos, como: gestantes, crianças e etilistas crônicos em processo de remissão, podendo, portanto, contradizer as alegações comuns de benefício à saúde pelo consumo de Kombucha.

Essa análise também busca verificar as alterações das características organolépticas do kombucha, o que poderia interferir na sua aceitação do público-alvo e na capacidade de



desidratação do álcool quando apresentado em grandes volumes.

Figura 5 – Gráfico de fermentação de etanol durante a fermentação.



Os resultados indicam que as amostras apresentaram concentração de etanol abaixo do limite de 0,50% ABV e estão de acordo com os parâmetros estabelecidos pelo MAPA e FDA, o que sugere que o uso de Kombucha parece ser seguro quanto ao seu teor alcóolico, contudo esses resultados não são suficientes, mais estudos e novas avaliações se fazem necessárias para comprovação do uso deste fermentado tradicional na aplicação como adjuvante no tratamento de transtornos de ansiedade.

## 5. REVISÃO NARRATIVA

Os alimentos funcionais existentes na indústria alimentícia têm potencializado ativamente o mercado nacional desenvolvendo produtos que atuam na promoção da saúde e bem-estar do consumidor (MINTEL, 2022). Os probióticos são microrganismos que têm sido alvo de pesquisas, a fim de incorporar suas propriedades benéficas em produtos alimentares funcionais (ARVANITTOYANNIS, 2005). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), os probióticos são definidos como “microrganismos vivos que, quando ingeridos em quantidades adequadas, são capazes de promover efeitos benéficos à saúde do hospedeiro” (FAO/WHO, 2002; HILL et al., 2014; SAYAR et al., 2016). Ao longo da evolução humana, ocorreram mudanças na colonização e na população microbiana devido aos hábitos alimentares, ao ambiente e às condições proporcionadas aos microrganismos, ao convívio familiar e social, ao consumo de antibióticos e ao desenvolvimento de doenças (THURSBY e JUGE, 2017). Estudos têm verificado as interações entre a ansiedade e o microbioma, a qual ocorre através de diversas vias imunológicas, neuronais ou metabólicas reguladas

especialmente pelo eixo cérebro-intestino. (HUANG, 2018). Após avaliar a relação do eixo cérebro-intestino e os efeitos causados pela microbiota intestinal (FOSTER et al., 2013; TILLISCH et al., 2013; BORELLI et al., 2016; KAVVADIA et al., 2017; TRAN et al., 2019), foi sugerido que os psicobióticos apresentam efeito potencial para atuar como coadjuvante nos transtornos de ansiedade. No entanto, pouco se sabe sobre o efeito ansiolítico de alimentos fermentados tradicionais, que podem conter cepas potencialmente psicobióticas. Para elucidar essa questão este trabalho teve como objetivo avaliar se o kombucha, como alimento potencialmente probiótico, atua como psicobiótico com ação ansiolítica e quais os mecanismos envolvidos comparando com cepas probióticas já disponíveis no mercado.

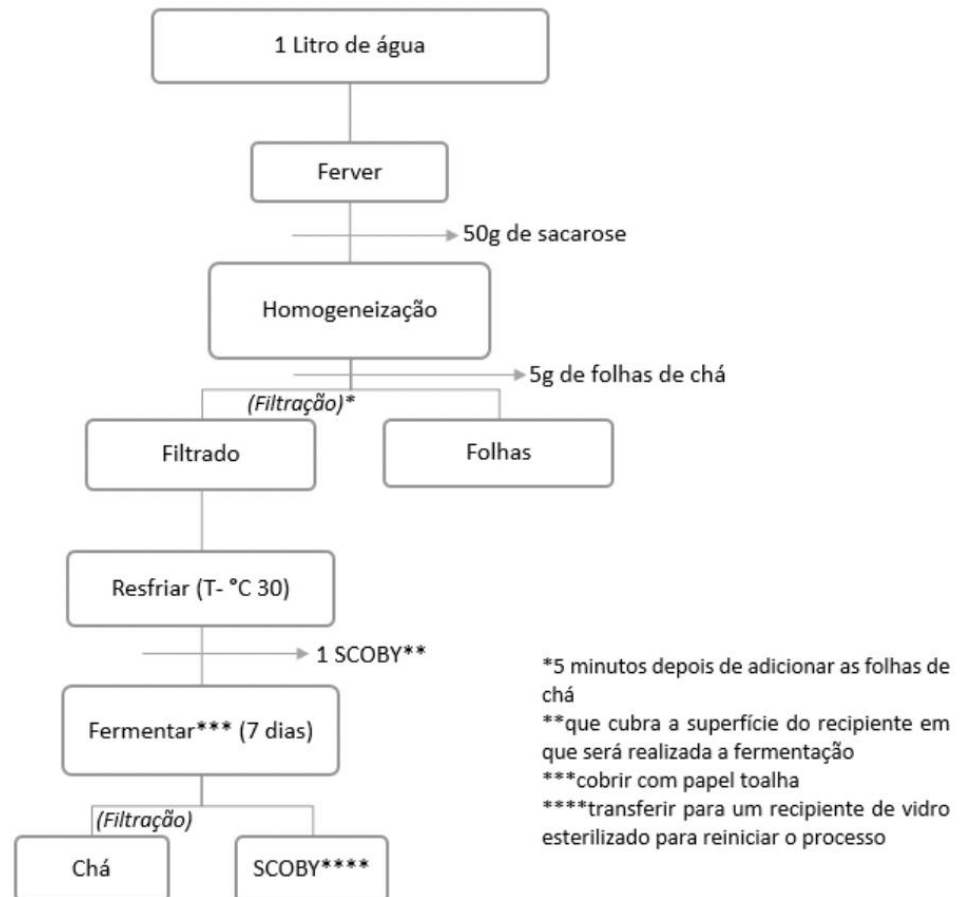
### *Kombucha*

O chá é a bebida funcional mais consumida no mundo. Como resultado da variedade de plantas e diferentes processos de fabricação, existem inúmeros produtos de chá disponíveis no mercado global, tais como chá verde ou preto, *Camellia sinensis* var. *sinensis*, a mais comum, caracterizada por arbustos de folhas pequenas, originária da China e cultivada em regiões de climas frios; e *Camellia sinensis* var. *assamica*, árvore de folhas grandes, descoberta em Assam, na Índia, que cresce melhor em climas tropicais (LI, 2013; NASCIMENTO, 2014).

O kombucha é uma bebida tradicional, originária da China, preparada a partir da fermentação de chá preto ou verde adoçado (WANG, 2008). O consumo de kombucha tem seus primeiros registros nos anos 220 a.C. durante a Dinastia Tsin no nordeste da China já apresentando efeitos sobre a saúde, como por exemplo, energizante e desintoxicante. Mais tarde, em 414 d.C. no Japão, a bebida foi introduzida pelo médico Kombu e usada como tratamento para problemas digestivos do Imperador Inkyo. Na Rússia, a bebida chegou através de rotas comerciais e depois disso foi introduzida na Europa, ganhando popularidade no século 20 principalmente devido aos benefícios à saúde oferecidos (DUFRESNE; FARNWORTH, 2000). Se trata de uma bebida fermentada ligeiramente adocicada, ácida, com mínimo ou nenhum teor alcoólico e refrescante, tendo sua base de infusão de chá e açúcar fermentada por bactérias e leveduras presentes numa cultura simbiótica envolta em uma matriz celulósica denominada SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) e no inóculo de uma fermentação anterior (figura 1). O biofilme característico acima da bebida, ou

o *SCOBY* como é comumente chamado, se renova através de formação de camadas ao longo da fermentação, podendo levar de 2 a 14 dias para a produção da bebida a depender do gosto do consumidor (JAYABALAN; MALBAŠA; SATHISHKUMAR, 2014).

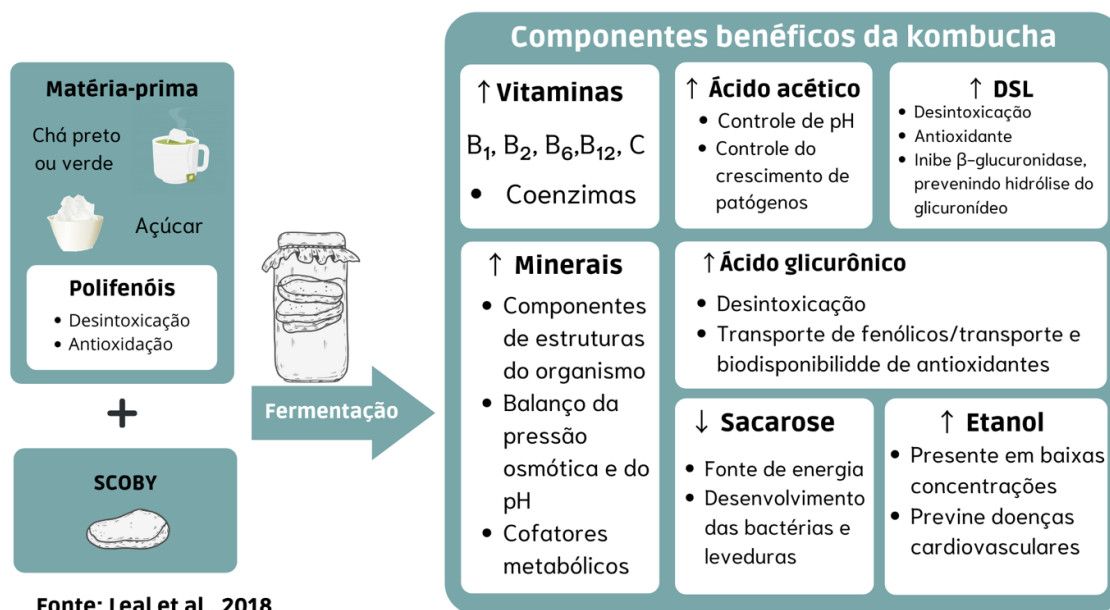
Figura 6 – Preparo da Kombucha (adaptado de ROLIM et al., 2020).



A porção da bebida e do biofilme (SCOBY) possuem perfis microbiológicos semelhantes com diferentes proporções de microrganismos. Bactérias ácido-acéticas (BAA) e leveduras são os grupos predominantes, ocorrendo também bactérias ácido-láticas (BAL). Podem ser encontrados bactérias dos gêneros *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, e leveduras dos gêneros *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Brettanomyces*, *Candida*, *Torulospora*, *Koleckera*, *Pichia*, *Mycotorula*, e *Mycoderma* (JAYABALAN et al., 2014; MARSH et al., 2014).

De forma geral, BAA e leveduras conduzem a fermentação e influenciam o produto final, tanto o SCOBY quanto a bebida: leveduras convertem sacarose em frutose e glicose gerando etanol; BAA convertem glicose em ácido glucônico e frutose em ácido acético; e, ácido acético estimula leveduras a produzirem etanol que estimula BAA a produzirem ácido acético ( DUFRESNE; FARNWORTH, 2000). Por influência da microbiota, a bebida também apresenta outros compostos importantes (Figura 2), como por exemplo, outros ácidos orgânicos como glucurônico, láctico, tartárico, oxálico, málico, succínico e pirúvico, vitaminas hidrossolúveis do complexo B e vitamina C, aminoácidos, amins biogênicas, enzimas hidrolíticas, dióxido de carbono, polifenóis e DSL (ácido D-Sacarico-1,4-lactona) (LEAL et al., 2018).

Figura 7 – Componentes benéficos da Kombucha (Adaptado de ROLIM et al., 2020 e LEAL et al., 2018).



Em 2019, no Brasil, foi determinada a Resolução Normativa n. 41 do MAPA de setembro de 2019 passou a vigorar em julho de 2021 e definiu normas de produção bem como padrões de composição química, tal como o pH, teor alcoólico e a acidez volátil para garantir a identidade dessa categoria de bebida (MAPA, 2019). Embora a comprovação científica pré mercado da segurança e funcionalidade dos alimentos no Brasil seja uma exigência legal, ainda não existem regulamentações para produção de alimentos, bebidas e fermentados

tradicionais, como kombucha, essa regulamentação se faz necessária para proteger a saúde da população, reduzir os riscos associados ao consumo desses produtos e não induzir o consumidor ao engano.

No Kombucha, os microrganismos, metabólitos e compostos dos ingredientes são responsáveis pelos efeitos à saúde. Entre os efeitos benéficos já estudados estão antihiperlipidêmico (SOUZA et al., 2020;), antilipêmico, antioxidante (LOBO; DIAS; SHENOY, 2019), hepatoprotetor, e antimicrobiano. Dentre os microrganismos encontrados no Kombucha, são bactérias produtoras de ácido acético e ácido glucônico, sendo o gênero *Acetobacter* predominante sendo a *Acetobacter xylinum* predominante no SCOBY (GREENWALT et al., 2000). Na bebida, foram identificados por sequenciamento da porção ribossomal 16S, predominantemente os gêneros bacterianos *Gluconacetobacter*, *Lactobacillus* e *Acetobacter*, sendo que o tipo do chá e sua composição influenciam diretamente na proporção encontrada dessas bactérias (MARSH et al., 2014; COTON et al., 2017). As leveduras predominantes encontradas são *Brettanomyces/Dekkera*, *Schizosaccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Torulaspota*, *Zygosaccharomyces*, *Pichia*, *Mycotorula*, *Mycoderma* (GREENWALT et al., 2000; KOZYROVSKA et al., 2012; JAYABALAN et al., 2014).

Segundo KNIVSBERG et al. 2002 a dieta pode ter relação com problemas neurológicos e comportamentais, sendo que em crianças autistas que fazem ingestão de dieta com restrição de glúten e caseína, houve uma melhora no nível de concentração, no contato visual, no desenvolvimento da linguagem verbal, e redução em quadros gastrointestinais.

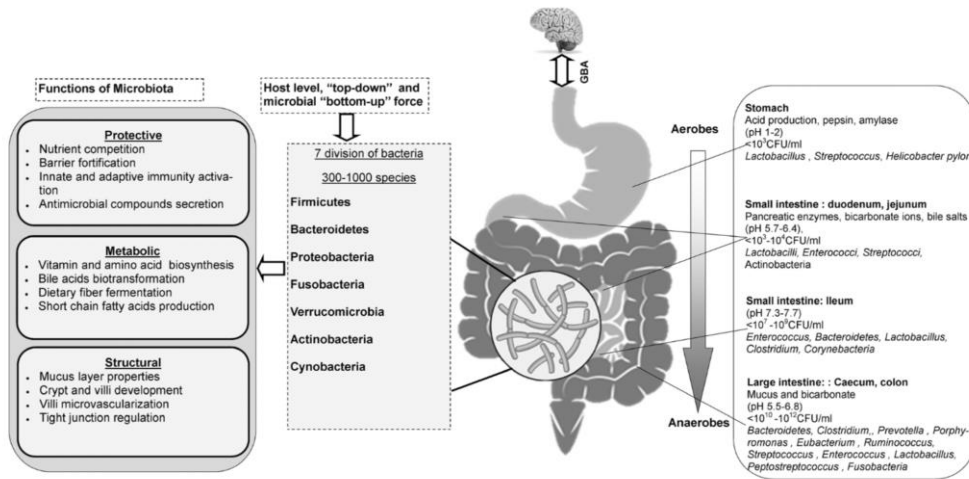
Estudos recentes buscam verificar a ação dos probióticos na promoção à saúde, sobre a influência da microbiota intestinal, sistema imune (PAIXÃO, 2016) e a interação entre o microbioma, genes e comportamentos de ansiedade que abordam os mecanismos regulados pelo eixo cérebro-intestino na saúde do hospedeiro (HUANG, 2018). Do mesmo modo, o consumo de alimentos fermentados tem sido relacionado a saúde mental e seus transtornos, como por exemplo ansiedade e depressão, devido a atuação sobre o eixo intestino-cérebro através de compostos biogênicos provenientes dos metabólitos dos microrganismos e/ou dos ingredientes utilizados.

### *Microbiota*

A microbiota intestinal é colonizada por milhares de microrganismos benéficos, comensais e patogênicos que vivem em interação intrínseca com o hospedeiro. A homeostase entre eles é essencial para a saúde e bem-estar do hospedeiro, porém, seu desequilíbrio pode desencadear o desenvolvimento de diversas patologias, inclusive os transtornos de ansiedade (PAIXÃO, 2016). Os microrganismos que compõem a microbiota intestinal podem pertencer aos domínios Bacteria, Archaea e Eucaria, apresentando diversas funções regulatórias, dentre elas a proteção contra patógenos, regulação imunológica, secreção de metabólitos, produção de vitaminas, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), neurotransmissores e seus precursores (DONALDSON et al., 2016; THURSBY e JUGE, 2017).

A distribuição desses microrganismos em cada segmento intestinal é heterogênea, pois dependem da acidez, temperatura, pH, disponibilidade de nutrientes e outras variáveis. O intestino delgado é a porção com maior contato com alimentos e medicamentos, que altera o pH de forma mais abrupta do que no cólon. Como resultado, a população microbiana é dominada por anaeróbios facultativos (Firmicutes e Proteobacterias) resistentes aos efeitos de antimicrobianos e ácidos biliares, facilitando a digestão de carboidratos simples (figura 3). No cólon, a escassez de fontes simples de carbono favorece o crescimento de anaeróbios fermentativos (Bacteroidetes e Firmicutes), onde são metabolizados polissacarídeos que não foram metabolizados no intestino delgado (DONALDSON et al., 2016). No entanto, existe uma diferença inter-individuos da composição da microbiota, tornando a microbiota uma assinatura pessoal, a qual pode ser influenciada pelo estilo de vida, local em que vive, dieta, pessoas que convivem ao seu redor, histórico de consumo de medicamentos antibióticos e fenótipo (THURSBY e JUGE, 2017).

Figura 8 – Distribuição do microbioma ao longo do Trato Gastrointestinal (Adaptado de ADAK & KHAN, 2018)



O desequilíbrio da microbiota intestinal conhecido como disbiose, reduz a capacidade de absorção de nutrientes e vitaminas, além de aumentar a permeabilidade intestinal, promovendo o aumento das populações de microrganismos patogênicos presentes na microbiota, sendo geralmente associado ao uso indiscriminado de antibióticos e desregulação do sistema imunológico em contato com microrganismos específicos (FRANCINO, 2014). A disbiose também foi associada à má alimentação, infecção recorrente, estresse e uso de antibióticos, onde há um aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias (SCHIRMER et al., 2016). Estes podem ativar a inflamação neural e alterar a síntese de neurotransmissores como serotonina, dopamina e glutamato, e um aumento observado no cortisol secretado no cérebro através do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Essa alteração na síntese de serotonina pode estar associada ao desenvolvimento de ansiedade e depressão (MILLER et al, 2013).

### Ansiedade

Transtornos de Ansiedade são um grupo de transtornos mentais caracterizados por sentimentos de ansiedade e medo, que incluem transtorno de ansiedade generalizada, transtorno do pânico, fobias, transtorno da ansiedade social, transtorno obsessivo compulsivo

(TOC) e transtorno de estresse pós-traumático (WHO, 2017). O número de pessoas que sofrem de transtornos de ansiedade cresceu exponencialmente nos últimos anos. Em 2015, o Global Disease Prevalence Study Group identificou um aumento de 14,9% na prevalência mundial de transtornos de ansiedade em relação a 2005 (GBD 2015 DISEASE AND INJURY INCIDENCE AND PREVALENCE COLLABORATORS, 2016). Ter algum tipo de ansiedade em algum momento da vida é considerado normal, principalmente ao longo de exposições a alguns tipos de estresses, onde o paciente apresenta sintomas de taquicardia, sudorese, inquietação, aumento da motilidade intestinal e/ou vertigem. No entanto, o desenvolvimento de um quadro de ansiedade é diagnosticado como patológico quando esses sintomas ou sensações impedem o paciente de realizar suas atividades diárias (SADOCK, 2017).

O tratamento tradicional envolve psicoterapias com psicólogos e terapia medicamentosa com ansiolíticos e antidepressivos. Os efeitos colaterais como efeitos sedativos dos medicamentos utilizados são muitas vezes incomodas aos pacientes e a utilização de métodos auxiliares ao tratamento poderiam ser considerados para que a qualidade de vida do paciente seja melhorada (SADOCK, 2017).

Em 2017, a OMS apresentou relatório onde se constata que os transtornos de ansiedade afetam 260.000.000 no mundo, com muitos desses casos evoluindo para depressão, uma das doenças que mais contribuiu para o aumento da taxa de suicídio nos últimos anos, onde a prevalência é maior em mulheres jovens (RIBEIRO et al., 2010). O tratamento usual desses distúrbios envolve um processo amplo e longo, no qual o paciente deve ser submetido a psicoterapias e tratamento medicamentoso com ansiolíticos e/ou antidepressivos. As reações adversas e os efeitos colaterais que esses medicamentos causam, podem levar o paciente a um estado sedativo e dependente, pois alguns desses medicamentos são classificados como entorpecentes ou entorpecentes, necessitando de acompanhamento médico contínuo para avaliação do quadro e ajuste de dose (RIBEIRO et al., 2010), portanto, o uso de métodos alternativos pode auxiliar o tratamento e proporcionar uma melhor qualidade de vida ao paciente.



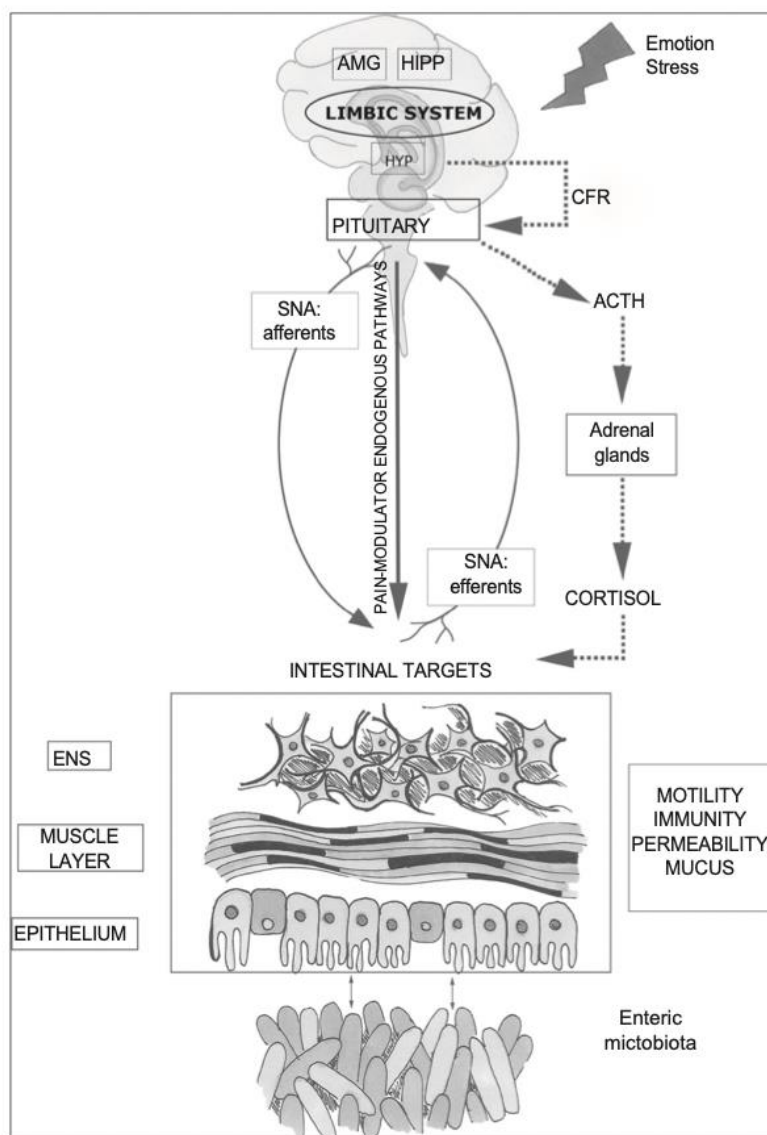
### *Eixo intestino-cérebro*

A interação do eixo intestino-cérebro ocorre por meio da interação de células do Sistema Nervoso Entérico (SNE) com células do Sistema Nervoso Central (SNC), principalmente via nervo vago pelas vias aferentes que modulam funções endócrinas como a motilidade intestinal e secreção de mucina. O desequilíbrio dessa comunicação pode causar quadros como diarreia ou constipação, promovendo uma reação inflamatória no intestino pelo aumento de citocinas pró-inflamatórias como a Interleucina 6 (IL-6), Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ) e Histamina, e nas vias eferentes para ingestão de dieta inadequada ou utilização de antibióticos que modificam a sinalização da microbiota intestinal para o cérebro. Além disso, a modulação de neurotransmissores como Ácido Gama Aminobutírico (GABA) e Serotonina, por células do sistema imunológico da mucosa intestinal que interferem, enviam sinais como a alteração dos níveis do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) e 5-hidroxitriptofano (5-HTP) no cérebro mostrando a influência da microbiota no cérebro e no comportamento como ocorre em condições patológicas como ansiedade e depressão (SILVESTRE 2015).

Segundo SHERWIN (2016), processos de neurotransmissão e neuro inflamação do eixo-cérebro-intestino relacionados ao aprendizado e humor parecem ser regulados pela microbiota intestinal, através da mediação via nervo vago, metabólitos bacterianos e sistema imunológico, sendo assim, a disbiose pode contribuir para o desenvolvimento de patologias neurológicas e modificações de humor como ocorre em quadros de ansiedade.

O nervo vago compõe um dos nervos cranianos do sistema nervoso parassimpático. Começa no tronco cerebral, passa pelo pescoço, tórax e vai até o abdômen, está relacionado ao controle do humor, digestão e frequência cardíaca (figura 4). As fibras aferentes também estabelecem uma conexão entre o cérebro e o trato gastrointestinal, conectando-se ao eixo hipotálamo-hipófise-adrenal que recebe estímulos dos neurotransmissores e citocinas produzidos pelas interações da microbiota intestinal e podem desencadear efeitos positivos ou negativos dependendo da substância produzida (BREIT et al., 2018).

Figura 9 – Vias Modulatórias do Eixo Intestino-Cérebro (Adaptado de Garaboti et al., 2015).



Segundo HOBAN et al. (2017), transtornos de ansiedade podem ter relação por interação da microbiota intestinal com o cérebro, por expressões de genes. Estudos realizados com camundongos *germ-free* demonstraram explícitas alterações na fisiologia da amígdala cerebral, comparando o aumento do tamanho da amígdala com maior resposta ao estresse e ansiedade, baixa qualidade no processo de cópias do DNA e RNA em nível celular, e hiperatividade neural, demonstrando a capacidade de interação genética e morfológica dos microorganismos simbióticos.

Diversas substâncias que participam do processo de ansiedade e estresse, são obtidas através da comunicação com sistema nervoso entérico (SNE) com o sistema nervoso central

(SNC) a partir da produção de alguns neurotransmissores, como o ácido gama-aminobutírico (GABA), noradrenalina, dopamina, acetilcolina, serotonina, dopamina e noradrenalina), relacionadas com a microbiota (MARGIS, R. et al., 2003; COWAN et al., 2017).

Segundo COATES et al, 2006 as células enteroendócrinas presentes no trato gastrointestinal são responsáveis pela síntese de aproximadamente 95% da serotonina produzida no organismo através da biotransformação do triptofano, sendo que essas células realizam mais biossíntese de serotonina que os neurônios serotoninérgicos centrais ou periféricos, com isso uma desregulação nesta síntese pode ser um agravante para quadros de ansiedade, tendo em vista que a serotonina é o principal neurotransmissor envolvido.

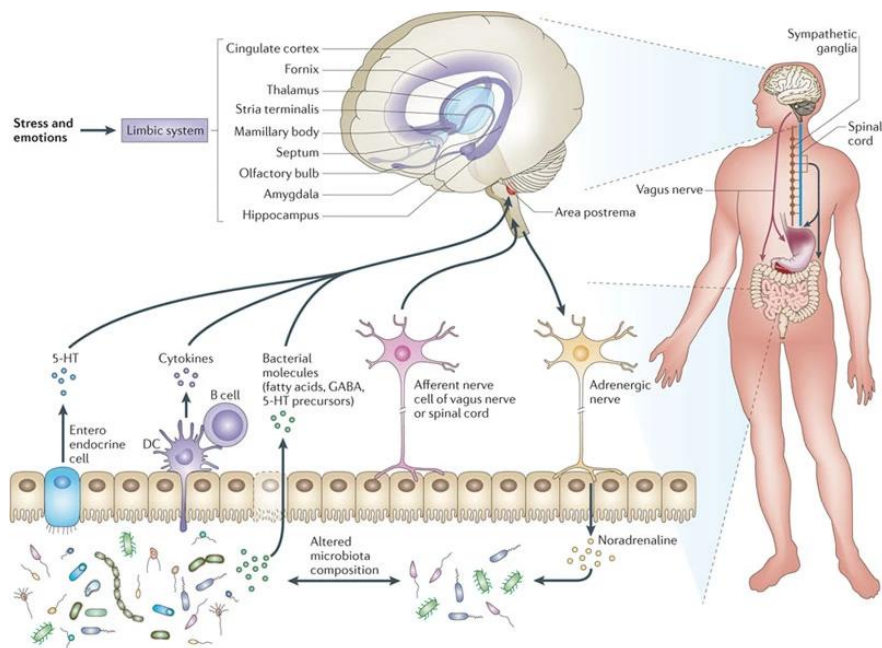
Dados preliminares, envolvendo o eixo cérebro – intestino, demonstram interação entre Sistema Nervoso Central (SNC) e Sistema Nervoso Entérico (SNE) por ação da serotonina e influenciam a modulação da microbiota intestinal e desenvolvimento de diversas patologias como ansiedade e depressão, no entanto, os mecanismos de ação ainda não foram totalmente elucidados (VEDOVATO, 2014).

A bidirecionalidade do eixo intestino-cérebro permite que o cérebro influencie na atividade intestinal (incluindo a atividade das células efectoras do sistema imune) e o intestino influencie a atividade cerebral de humor, cognição e saúde mental. Sobretudo, a comunicação ocorre devido a ligação entre os sistemas nervosos entérico e central, mais especificamente entre sistema nervoso autônomo, eixo hipotálamo-pituitária-adrenal e nervos do sistema gastrointestinal, abrangendo mecanismos de ação por vias endócrina, humoral, metabólica e imunológica (APPLETON, 2018).

Após estudo realizado em camundongos, foi possível verificar que o diabetes mellitus tipo 2 (DM2) pode desencadear aumento da inflamação e disbiose associada a níveis elevados de marcadores gliais no cólon e no cérebro que ativam a inflamação. Considerando que a inflamação é um dos fatores que desencadeiam o desenvolvimento de doenças neurológicas e comportamentais, há, portanto, uma relação entre o aumento desses marcadores e a ansiedade. Ainda neste estudo pode-se verificar que a suplementação com probiótico foi capaz de aumentar a população de bactérias benéficas favorecendo a recuperação da microbiota após a disbiose e a redução dos níveis inflamatórios e atividade das células gliais, sugerindo que o uso de probiótico parece ser um grande promissor no tratamento de patologias como DM2 e ansiedade (HOSSEINIFARD, 2019).

(HUANG et al.; 2018) mostraram que camundongos geneticamente modificados inicialmente exibem diferentes níveis de ansiedade naturalmente, e que a modificação da microbiota por intervenções moduladas por antibióticos e transplante de microbiota fecal aumentou os níveis de ansiedade nesses camundongos (figura 5). O uso de psicobióticos reduziu o nível de ansiedade desses camundongos, e o aumento dos níveis de butirato na microbiota desses animais parece estar ligado a esse mecanismo de interação entre melhora da microbiota com redução dos níveis de ansiedade, porém mais estudos são necessários verificar a relação da microbiota, genética e ansiedade mediada pelo eixo intestino-cérebro.

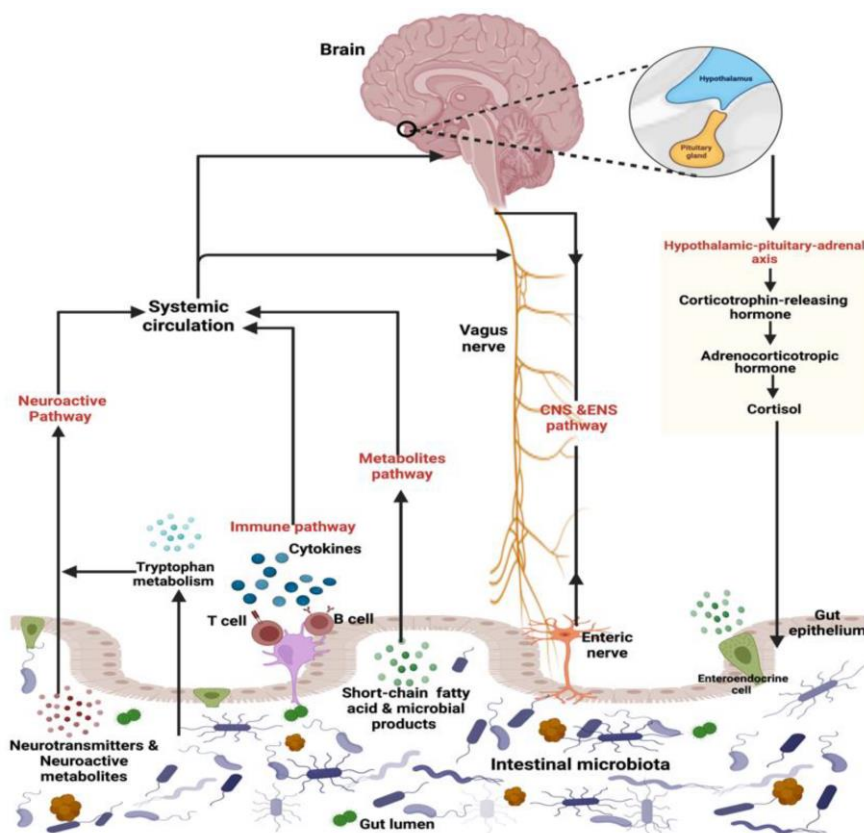
Figura 10 – Modificação da microbiota por influência do eixo intestino-cérebro. (Adaptado de Collins et al., 2012)



A comunicação no eixo cérebro-intestino pode ocorrer por vias neurais, humorais e metabólicas de acordo com estudos realizados *in vitro* e em animais (BUTLER et al., 2019; CHENG et al., 2019).

O nervo vago (figura 6) se apresenta como via neural principal no eixo cérebro-intestino (FOSTER e al., 2013; BORELLI et al., 2016). Experimentos em camundongos cujos nervos vagos foram retirados identificaram esse nervo como o maior modulador da via neural (BRAVO et al., 2012), pois o efeito ansiolítico após a administração de cepas probióticas que foi observado em camundongos normais não foi observado para os camundongos sem o nervo vago apontando que o nervo vago é importante na comunicação entre o eixo (BERCIK et al, 2011).

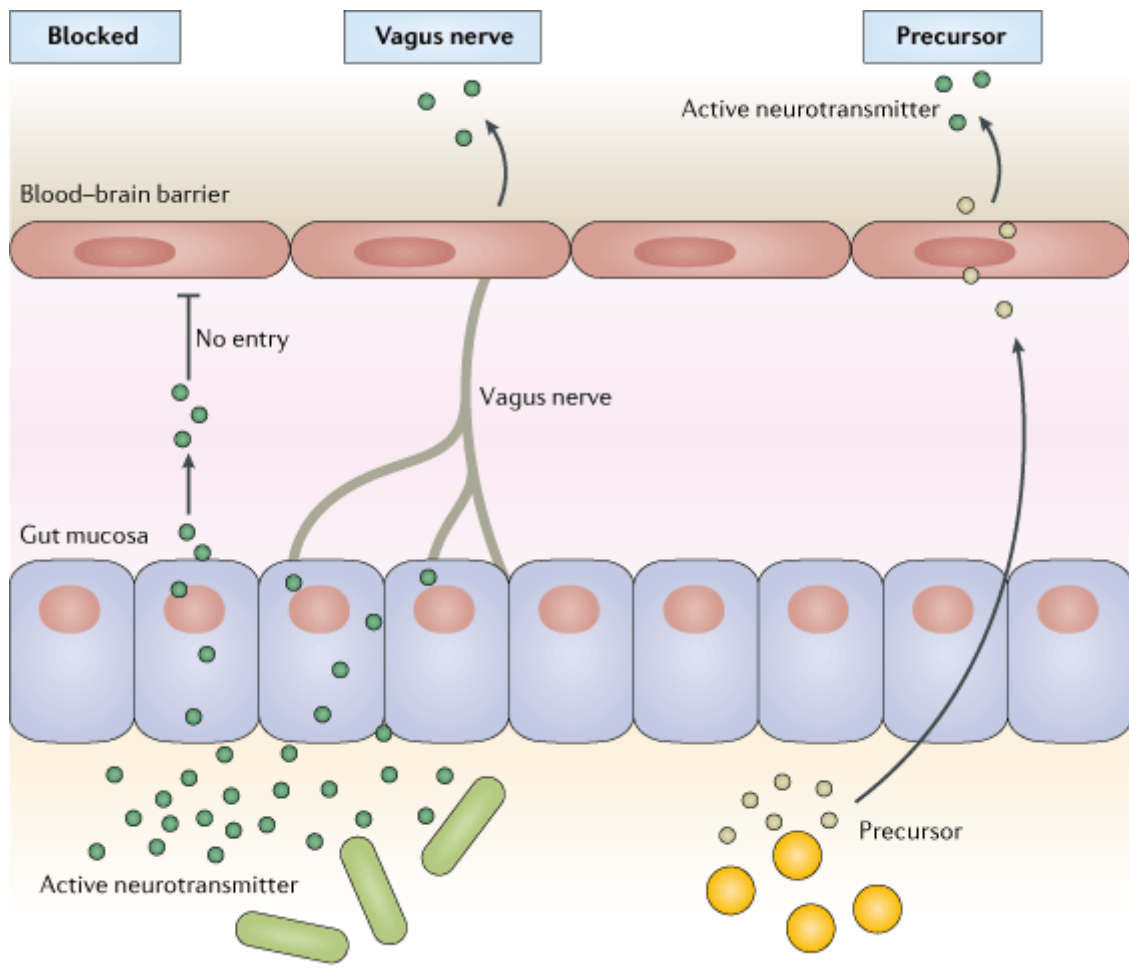
Figura 11 – Representação gráfica da distribuição do Nervo Vago (Adaptado de Alharthi et al., 2022).



Quando ocorre um desequilíbrio na microbiota intestinal, ocorre uma produção aumentada de citocinas pró-inflamatórias (SCHIRMER et al., 2016), sendo este considerado um mecanismo humoral de regulação do eixo intestino-cérebro.

Citocinas pró-inflamatórias podem ativar inflamação neural e alteram a concentração de neurotransmissores como a serotonina, dopamina e glutamato no cérebro e a queda desses neurotransmissores já foi associada com o desenvolvimento de ansiedade e depressão (MILLER et al, 2013). Algumas cepas probióticas e da microbiota intestinal sintetizam neurotransmissores como o GABA e serotonina e seus precursores como o triptofano. O GABA é um neurotransmissor inibitório que causa relaxamento do Sistema Nervoso Central. A falta de GABA está relacionada ao desenvolvimento de depressão e ansiedade (Figura 7). Nesse contexto, o ácido gama-aminobutírico (GABA - *gamma-aminobutyric acid*) é um dos compostos estudados por ser o principal neurotransmissor inibidor do sistema nervoso central de mamíferos e por estar amplamente distribuído na natureza visto que é sintetizado por plantas, microrganismos e animais, mostrando-se como um composto acessível para utilização em benefício a saúde (DIEZ-GUTIÉRREZ et al., 2020).

Figura 12 – Comunicação de neurotransmissores entre barreira endotelial intestinal e barreira hematoencefálica (Adaptado de Johnson & Foster, 2018).



A enzima glutamato descaboxilase produzida como metabólito de algumas bactérias simbióticas ao longo do processo de fermentação, atua na descarboxilação do L-glutamato e por seguinte na conversão em GABA, sua comunicação ocorre por vias aferentes do intestino com o sistema nervoso central. Ao agir nos neurônios, ocorre a ativação dos canais de cloro que resulta em uma maior entrada de moléculas deste mineral para o meio intracelular, ocorrendo uma hiperpolarização que interfere na despolarização de sinapses nervosas. Com isso, a ação inibitória do sistema nervoso central, suprime o sistema imuno inflamatório com diminuição de citocinas, induzida de hipotensos e tranquilizantes (LYTE, 2011; KOMATSUZAKI et al., 2008; BJURSTOM et al., 2008; MARTIN, et al., 2011; OLIVEIRA, 2008).

As descobertas sobre células gliais, principalmente astrócitos, indicam que a função dessas células não é apenas de suporte e nutrição aos neurônios e homeostase do SNC, mas que também podem dar origem à novas células neuronais, modular função sináptica, participar da expressão de receptores de neurotransmissores como GABA e sintetizar citocinas inflamatórias como IL-1 $\beta$ , sugerindo que a disfunção sináptica dessas células podem estar associadas ao desenvolvimento de doenças neurológicas (GOMES, 2013).

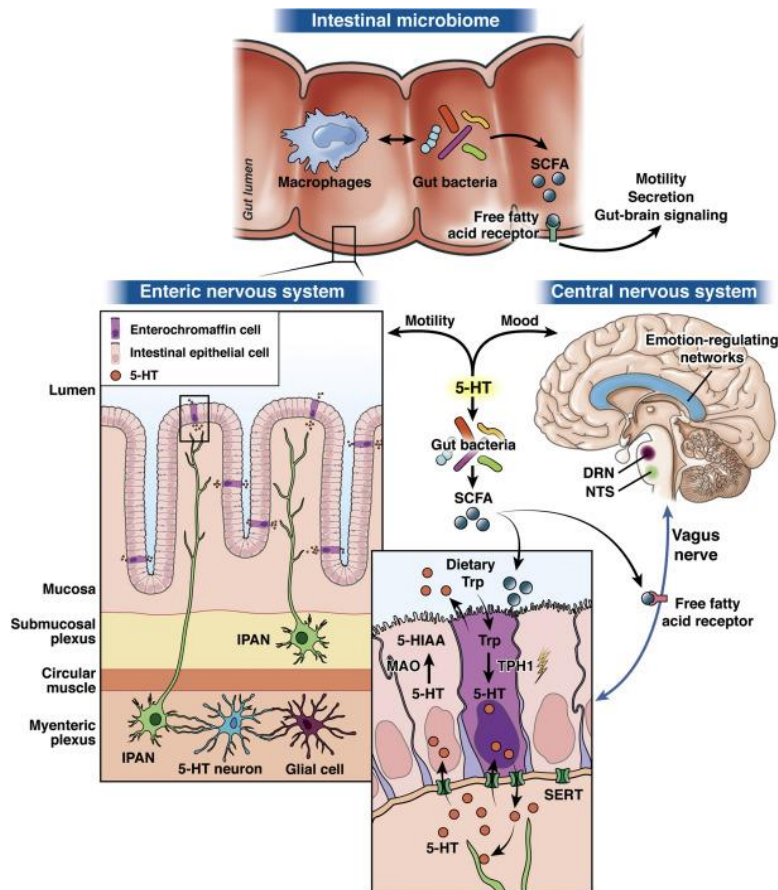
Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) são sinalizados por células enteroendócrinas e enterocromafinas contidas no intestino, essa produção advém da digestão de fibras provenientes da alimentação dos microorganismos presentes, resultando em metabólitos de AGCC, fornecimento energético para células intestinais, e maior aproveitamento energético. Além disso, um estudo clínico demonstrou que estimulação de células L com posterior secreção de peptídeo YY e GLP-1, influencia na ingestão alimentar e alteração comportamental (MARTIN et al., 2018; COLLEN, 2016).

No sistema nervoso central a amígdala cerebral tem importante papel no sistema límbico, participando da ativação de estressores responsáveis pelas emoções e comportamentos sociais. Receptores glicocorticóides adquiridos ao longo da vida são ativados pelas vias aferentes, tornando sensíveis esses receptores aos efeitos do estresse, o que pode levar a uma alteração funcional e estrutural dessas estruturas, dificultando ou inibindo sua capacidade de adaptação das sinapses frente aos estímulos (COWAN, 2017; HOBAN et al., 2017; MARTIN et al., 2018).

Os órgãos viscerais se comunicam por vias aferentes com a amígdala. No intestino a comunicação através de diferentes vias, sendo uma delas através de seus próprios metabólitos de triptofano, ácido graxo de cadeia curta, via nervo vago e síntese de neurotransmissores. As células enterocromafinas (ECCs) localizadas no intestino possuem comunicação com o cérebro através de fibras nervosas aferentes semelhantes a sinapses, sendo responsável pela síntese de cerca de 90% de serotonina (5-HT) corporal, além de 5% presente no sistema nervoso central. Com base em estudos, a baixa quantidade plasmática de triptofano refletiu em uma maior ativação da amígdala durante tarefas de reconhecimentos emocionais e aumento de conexão com o córtex pré-frontal (COWAN et al., 2017; MARTIN et al., 2018).



Figura 13 – Representação gráfica da interação dos metabólitos/ neurotransmissores com as vias do eixo intestino-cérebro (Adaptado de Margolis et al., 2021)



O triptofano proveniente da dieta é processado pelas bactérias intestinais para produzir metabólitos capazes de entrar no sistema nervoso central (SNC). No cérebro, esses metabólitos atuam como ligantes do receptor de aril-hidrocarboneto (AHR) - um fator de transcrição expresso em células chamadas micróglia e astrócitos que mediam as respostas à inflamação no SNC. ROTHHAMMER e colegas (2018), relataram que, quando ativado na micróglia, o AHR se liga aos genes que codificam as proteínas VEGF-B e TGF- $\alpha$ , inibindo a expressão do primeiro e promovendo o do último. Qualquer VEGF-B liberado da micróglia aumenta a capacidade de resposta dos astrócitos à inflamação do SNC. Por outro lado, o TGF- $\alpha$  diminui a capacidade de resposta dos astrócitos.

### *Probióticos*

Alimentos com potencial probiótico podem ser compostos por diversos microrganismos vivos, os quais podem ser adicionados durante o processo de fabricação ou atuar como agente transformador de matrizes alimentícias durante o processo de fermentação. Esses alimentos podem ser compostos por mono ou multicultura, favorecendo interações positivas como o mutualismo e a simbiose ou interações excludentes como a competição, que irão influenciar a segurança alimentar e os possíveis efeitos benéficos das linhagens utilizadas (MOMBELLI e GISMONDO, 2000).

A indústria de alimentação saudável evoluiu e se tornou ativa no mercado com a conscientização da população em relação aos cuidados com a saúde (Global Food and Drink Trends, 2022), a partir de então muitos alimentos foram criados para prover um público mais preocupado com a saúde com demanda crescente (Arvanitoyannis & Van Houwelingen-Koukaliaroglou, 2005). Um exemplo desses produtos são os alimentos funcionais, que além de suas funções nutricionais básicas, oferecem benefícios à saúde (CRUZ, et al., 2009). Dentre os quais podemos ressaltar os alimentos probióticos definidos como alimentos contendo “micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro” (FAO/OMS, 2002; HILL et al., 2014).

### *Psicobióticos*

Psicobióticos fazem parte dos probióticos e quando ingeridos em quantidade adequada oferecem benefícios à saúde mental através da interação com a microbiota do hospedeiro (DINAN; STANTON; CRYAN, 2013). De forma geral, os microrganismos psicobióticos produzem substâncias neuroativas e precursores, como dihidroxifenilalanina (DOPA), precursor de serotonina, GABA, ácidos graxos de cadeia curta, lipolissacarídeos, que entram em contato com a barreira intestinal adentrando na mucosa, e a partir daí, atuar diretamente sobre a terminação vagal e o cérebro, ou então, atuar sobre o sistema imunológico produtor de citocinas neuroativas que cruzam a barreira hematoencefálica, ou ainda, atuar diretamente cruzando as barreiras sanguínea intestinal (*gut-blood barrier*) (figura 7) (OLESKIN; SHENDEROV, 2019).

Psicobióticos têm sido testados como tratamento alternativo principalmente sobre estresse, ansiedade e depressão, como fisiopatologias comuns e frequentes atualmente

(MIRZAEI et al., 2019), melhorando comportamento, humor, cognição, memória, entre outros fatores (SMITH et al., 2019).

Após estudo realizado em *Lactobacillus plantarum* em camundongos, pode ser observado redução da ansiedade e de comportamentos depressivos e um declínio significativo nos níveis de inflamação e cortisol (DUARY et al., 2012), além de aumento significativo nos níveis de serotonina (LIU et al., 2015; LIU e outros, 2016).

RAO e colegas (2009) analisaram durante 2 meses, 35 pacientes que receberam *Lactobacillus casei* diariamente e observaram redução nos níveis de ansiedade, diferentemente do grupo placebo. *Lactobacillus casei* também foi avaliado após a administração em um grupo de 47 alunos composto por homens e mulheres que consumiram probióticos ou placebo por 8 semanas antes dos testes escolares. O grupo que ingeriu o probiótico apresentou níveis mais baixos de cortisol plasmático em comparação ao grupo placebo. Além disso, após duas semanas dos testes, o grupo probiótico apresentou um aumento significativo nos níveis de serotonina presentes nas fezes, indicando uma possível alteração na microbiota intestinal desses indivíduos (KATO-KATAOKA et al., 2016). Luo e colaboradores (2014) observaram a redução dos níveis de ansiedade e depressão após a administração de *Lactobacillus helveticus*, associada ao aumento dos níveis de serotonina e Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) (LIANG et al., 2015).

WEI e colegas (2019) descobriram em seu estudo com camundongos que *Lactobacillus paracasei* reverteu comportamentos depressivos e reduziu os níveis de serotonina induzidos por cortisol, além de aumentar os níveis de BDNF. TILLISCH et al. (2013) observaram que mulheres saudáveis que consumiram duas vezes ao dia, durante quatro semanas, leite fermentado probiótico com *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* e *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* apresentou alterações na atividade cerebral em locais relacionados ao processamento de emoções e sensações durante o tratamento. Em um estudo randomizado, duplo-cego, contendo um grupo controle e um grupo placebo, investigaram o efeito de um iogurte probiótico adicionado de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* associado a cápsulas contendo *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus bififormis* ssp. *bififormis* e *Streptococcus thermophilus*, em que pode ser observada uma redução significativa nos níveis de cortisol, o que reduziu o estresse e manteve a homeostase

corporal (MOHAMMADI et al., 2016). Messaoudi e colaboradores (2011), realizaram um grupo controle duplo-cego com placebo em paralelo com pessoas saudáveis, dando-lhes uma mistura de *Lactobacillus helveticus* e *B. longum* ou placebo por 30 dias. A avaliação dos níveis de ansiedade foi realizada por meio de questionários, onde pode-se observar que os níveis de ansiedade, depressão e estresse no grupo tratado com probióticos foram menores em relação aos do grupo controle.

Os efeitos dos probióticos *B. bifidum*, *B. lactis*, *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. salivarius* e *Lactococcus lactis* foram avaliados em 71 pacientes depressivos, administrados por oito semanas. Houve melhora cognitiva, porém, não houve diferença significativa nos níveis de depressão e ansiedade após análise do questionário (CHAHWAN et. Al, 2019). *Lactobacillus rhamnosus* teve um efeito psicobiótico em humanos e ratos. Para verificar esse potencial em peixes-zebra, foi administrado *L. rhamnosus*, pois possuem um BDNF com 91% de similaridade com o de humanos e vias de síntese, metabolismo e sinalização de serotonina semelhantes ao de humanos e camundongos. Portanto, pode-se observar um aumento na expressão de BDNF do peixe-zebra que apresentou um comportamento mais exploratório interessante, mesmo quando mantido em cativeiro (BORELLI et al., 2016). NADEEM et al., 2019. concluíram que *L. rhamnosus* administrado a ratos pode reduzir o nível de ansiedade e depressão, pois após sua ingestão houve alterações na expressão do receptor GABA, reduzindo os níveis plasmáticos de cortisol e aumentando a síntese do GABA próprio neurotransmissor.

Tabela 1 – Efeitos promovidos pelo consumo de cepas probióticas específicas.

<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<b>Em zebrafish: expressão aumentada de BDNF: explora o espaço.</b>	<b>BORELLI et al., 2016</b>
	Em camundongo: redução da ansiedade e depressão, aumento de GABA, redução do cortisol sanguíneo.	NADEEM et al., 2019
	Em camundongo: redução do nível de ansiedade.	HUANG et al., 2018
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Em camundongo: redução dos níveis inflamatórios; redução do comportamento ansioso e depressivo.	DUARY et al., 2012
	Em camundongo: redução do cortisol e aumento da serotonina.	LIU et al., 2015 e LIU et al., 2016
<i>Lactobacillus casei</i>	Em humanos: redução de ansiedade quando comparado ao grupo placebo.	RAO et al., 2009
	Em humanos: Diminuição do cortisol e aumento da serotonina, quando comparado ao grupo placebo.	KATO – KATAOKA et al., 2016
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Em camundongo: redução dos níveis de ansiedade.	LUO et al., 2014
	Em camundongo: Aumento dos níveis de serotonina e BDNF.	LIANG et al., 20155
<i>Bifidobacterium animalis subsp. Lactis, Streptococcus thermophilus</i>	Em mulheres: mudança na atividade cerebral em regiões relacionadas ao processamento de emoções e sensações.	TILLISCH et al., 2013
<i>Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium lactis</i>	Em humanos: redução dos níveis de cortisol e redução do estresse.	MOHAMMADI et al., 2016
<i>Lactobacillus helveticus, Bifidobacterium longum</i>	Em humanos: Redução dos níveis de ansiedade, depressão e estresse, quando comparado ao grupo controle.	MESSAOUDI et al., 2011
<i>B. bifidum, B. lactis, L. acidophilus, L. brevis, L. casei, L. salivarius, Lactococcus lactis</i>	Em humanos: melhoria das funções cognitivas.	CHAHWAN et al., 2019

HUANG, 2018 e colaboradores demonstrou que camundongos geneticamente modificados apresentam inicialmente níveis diferentes de ansiedade naturalmente, e que a modificação da microbiota modulada com antibiótico e transplante de microbiota fecal aumentaram esses níveis de ansiedade nesses camundongos. Já o uso de psicobióticos reduziu o nível de ansiedade desses camundongos, sendo que o aumento nos níveis de butirato na microbiota desses animais parecem estar interligados a esse mecanismo de interação entre melhora da microbiota com redução de níveis de ansiedade, porém mais estudos se fazem necessários para verificar a relação da microbiota, genética e ansiedade mediados pelo eixo intestino-cérebro.

Após estudo realizado em camundongos, foi possível verificar que diabetes mellitus tipo 2 (DM2) pode desencadear aumento da inflamação e disbiose associada a altos níveis de marcadores gliais no colón e no cérebro que ativam inflamação. Considerando que a inflamação é um dos fatores que desencadeia o desenvolvimento de doenças neurológicas e comportamentais, existe, portanto, uma relação entre o aumento desses marcadores e ansiedade. Ainda neste estudo pode se averiguar que a suplementação com probiótico foi capaz de aumentar a população de bactérias benéficas favorecendo a recuperação da microbiota causada pela disbiose e a diminuição dos níveis inflamatórios e atividade de células gliais, sugerindo que o uso de probiótico parece ser um grande promissor, no tratamento de patologias como DM2 e ansiedade (HOSSEINIFARD, 2019).

Um estudo realizado com participantes idosos saudáveis investigou a frequência de consumo de chá afim de verificar sua ação nas redes funcionais e estruturais no cérebro com objetivo de revelar o papel do consumo de chá na organização do cérebro. Os resultados obtidos mostram que a organização estrutural do cérebro ficou mais eficiente com consumo de chá pela supressão da assimetria hemisférica na rede de conectividade estrutural. Para o que bebia chá frequentemente, a força da conectividade funcional foi maior, oferecendo uma possível evidência da contribuição positiva do consumo de chá na estrutura do cérebro com possível efeito protetor no declínio relacionado à idade na organização cerebral. (JUNHUA LI, 2019).

### *Kombucha como alimento potencialmente psicobióticos*

O consumo de alimentos fermentados tradicionais tem se tornado cada vez mais popular e apresenta um crescimento exponencial de seu público-alvo, devido as alegações de benefícios a saúde.

Kombucha é classificado como um alimento fermentado tradicional, pois, através do metabolismo exercidos por uma grande diversidade de microrganismos presentes em sua cultura celulósica e líquido inicial, adicionados à matriz alimentar, pode apresentar um potencial probiótico.

O uso desses alimentos também tem sido utilizado pela credence popular, como adjuvante ao tratamento de a distúrbios neuronais, na qual, autismo, ansiedade e depressão se destacam e são definidos como psicobióticos, pois, através da nutrição e manutenção dos microrganismos presentes na microbiota intestinal, ocorre a produção de metabólitos que podem estar relacionados a uma regulação na síntese de neurotransmissores, bem como a diminuição de fatores infamatórios importantes para o controle destas patologias.

A teoria do eixo intestino-cérebro e a manutenção da saúde mental por essa via, já é em estabelecida na literatura, estudos evidenciam um importante papel da microbiota intestinal nas funções cognitivas e emocionais.

Apesar dos estudos serem promissores e bem estabelecidos, o mecanismo de ação destas vias é complexo e ainda não foi completamente elucidado, om isso, para averiguar essas alegações e mecanismos muitos estudos ainda se fazem necessários.

### *Conclusão*

Com o dia a dia agitado e os problemas contemporâneos, torna-se cada vez mais difícil realizar uma alimentação saudável e nutritiva, com isso a população cada vez mais insere alimentos inflamatórios que podem influenciar o sistema imunológico de forma inadequada. No mau funcionamento deste sistema, os microrganismos comensais que vivem em interação com o organismo humano encontram uma oportunidade para ativar a inflamação em vários tecidos do corpo humano, o que contribuirá para a evolução de quadros patológicos como a ansiedade. Os casos de transtornos de ansiedade têm aumentado em todo o mundo, apontando a necessidade de atenção por parte das autoridades de saúde a fim de prevenir um problema de saúde pública e encontrar formas alternativas ou complementares ao tratamento

medicamentoso aplicado e promover uma melhor qualidade de vida aos indivíduos.

O tratamento medicamentoso tradicional normalmente aplicado, além de apresentar diversos efeitos colaterais, pode causar dependência nos pacientes. Estudos científicos podem elucidar os benefícios promovidos pelos probióticos a fim de reduzir as doses dos medicamentos utilizados e, assim, oferecer um tratamento adjuvante, acessível a toda a população. O uso de probióticos já se mostrou promissor em estudos anteriores, atuando como adjuvante no tratamento da ansiedade, podendo auxiliar na absorção de nutrientes, modulação do sistema imunológico e de fatores inflamatórios e produção de metabólitos responsáveis pela modulação da expressão de neurotransmissores e proteínas, que por diferentes vias pode reduzir ou melhorar os sintomas de ansiedade para que funcione em conjunto com os tratamentos farmacológicos existentes e minimize o desenvolvimento de transtornos de ansiedade. Após uma revisão da literatura, fica clara a escassez de trabalhos científicos sobre o tema abordado em humanos. Sendo majoritariamente investigado em animais, conseqüente a necessidade de mais estudos que possam verificar mais desses fenômenos em ensaios clínicos, a fim de garantir eficácia e segurança à saúde do indivíduo.



## **5. FINANCIAMENTO**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITARIA (ANVISA). 26 de julho de 2018. Resolução da Diretoria Colegiada RDC Nº 241. **Diário Oficial da União**, seção 1. p. 97.
- ARVANITTOYANNIS, I. S.; KOUKALIAROGLOU, M. V. H.; 2005. Functional foods: a survey of health claims, pros and cons, and current legislation. **Food Science & Nutrition**, p. 385-404.
- ARVANITTOYANNIS, I. S.; KOUKALIAROGLOU, M. V. H.; 2005. Functional foods: a survey of health claims, pros and cons, and current legislation. **Food Science & Nutrition**, p. 385-404.
- BJURSTOM H.; WANG J. Y.; ERICSSON I.; BENGTSSON M.; LIU Y.; MENDU S. K.; NAVIKAS S. I.; BIRNIR B.; 27 de Agosto de 2008. GABA, a natural immunomodulator of T lymphocytes. **Journal of Neuroimmunology**, p. 44-50.
- BORELLI, L.; ACETO, S.; AGNISOLA, C.; DE PAOLO, S.; DIPINETO, L.; STILLING, R.M.; DINAN, T.G.; CRYAN, J.F.; MENNA, L.F.; FIORETTI, A. Probiotic modulation of the microbiota-gut-brain axis and behavior in zebrafish. **Scientific Reports**, v. 6, n. 30046, p. 1-9, 2016.
- BREIT, S.; KUPFERBERG, A.; ROGLER, G.; HASLER, G. Vagus Nerve as Modulator of the Brain-Gut Axis in Psychiatric and Inflammatory Disorders. **Front Psychiatry**. v. 9, n. 44, p. 1-15, 2018.
- BRENELLI, E. C. S. 2003. A extração de cafeína em bebidas estimulantes – Uma Nova Abordagem para um Experimento Clássico em Química Orgânica. **Química Nova**, p.136-138.
- CARDOSO, L. V. Otimização e validação de método empregando SPE e LC-APCI-MS/MS para determinação de fármacos em água de superfície e de abastecimento público. 2011. 90 f. **Dissertação (Mestrado em Química)**. Escola de química e alimentos, Universidade Federal do Rio Grande.
- CARVALHO M. S.; MAS C. D.; NUNES D. F. S.; YONAMINE C. M.; HAYASHI M. A. F.; 12 de março de 2017. Metabolismo do triptofano em transtornos mentais: Um enfoque na esquizofrenia. **Revista de Ciências da Saúde Vittalé**, vol. 29, p. 44-56.
- CHAHWAN, B.; KWAN, S.; ISIK, A.; VAN HEMERT, S.; BURKE, C.; ROBERTS, L. Gut feelings: a randomized, triple-blind, placebo- controlled trial of probiotics for depressive symptoms. **J Affect Disord**. v. 253, p. 317–26, 2019.
- COLLEN, Alanna. 10% Humano. Rio de Janeiro: **Sextante**, 2016.
- COPPOLA, M. DE M., & GIL-TURNES, C. 2004. Probióticos e resposta imune. **Ciência Rural**, p. 1297–1303.
- COWAN C. S. M.; HOBAN A. E.; SILVA A. P. V.; DINAN T. G.; CLARKE G.; CRYAN J. F.; 17 de novembro de 2017. Gutsy moves: The amygdala as a critical node in microbiota to brain signaling. **Periódico BioEssays**, p. 1-12.
- CRAWLEY, J.; GOODWIN, F. K. 24 de abril de 1980. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, p. 167–170.

CRUZ, G. F. R.; FERREIRA M. C. O.; SILVA J. G.; CUCATTO J. S. T. 13 e 14 de novembro de 2017. O comportamento do consumidor de alimentos funcionais. **SINGEP Simpósio Internacional de Gestão de Projetos, Inovação e sustentabilidade**, VI Ed.

CRUZ, G. F. R.; FERREIRA M. C. O.; SILVA J. G.; CUCATTO J. S. T. 13 e 14 de novembro de 2017. O comportamento do consumidor de alimentos funcionais. **SINGEP Simpósio Internacional de Gestão de Projetos, Inovação e sustentabilidade**, VI Ed.

DONALDSON, G.P.; LEE, S. M.; MAZMANIAN, S. K. Gut biogeography of the bacterial microbiota. **Nat Rev Microbiol**. v. 14, n. 1, p. 20-32, 2016.

DUARY, R. K.; BHAUSAHEB, M. A.; BATISH, V. K.; GROVER, S. Anti-inflammatory, and immunomodulatory efficacy of indigenous probiotic *Lactobacillus plantarum* Lp91 in colitis mouse model. **Mol. Biol. Rep.** v. 39, n. 4, p. 4765–75, 2012.

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

FAO/WHO (2002) Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Disponível em: [http://www.who.int/foodsafety/publications/fs\\_management/en/probiotics.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf). Acesso em 23 Junho de 2019.

FOSTER, J. A.; MC VEY NEUFELD, K. A. Gut–brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. **Trends in Neurosciences**, v. 36, n. 5, p. 305-312, 2013.

FRANCINO M. P. Early development of the gut microbiota and immune health, antibiotics, and the human gut microbiome: Dysbiosis and accumulation of resistances. **Pathogens Journal**. V. 3, n. 3, p. 769-790, 2014.

FRANCINO, M. P. 24 de Setembro de 2014. Early development of the gut microbiota and immune health, antibiotics, and the human gut microbiome: Dysbiosis and accumulation of resistances. **Pathogens Journal**, p. 769-790.

FUNDACAO DO TRABALHO (FUNTRAB). 19 de abril de 2017. Depressão e ansiedade são as principais causas de adoecimento e afastamento do trabalho. Disponível em: <http://www.funtrab.ms.gov.br/depressao-e-ansiedade-sao-as-principais-causas-de-adoecimento-e-afastamento-do-trabalho/>. Acesso em: 12 de março de 2019.

FUNDACAO DO TRABALHO (FUNTRAB). 19 de abril de 2017. Depressão e ansiedade são as principais causas de adoecimento e afastamento do trabalho. Disponível em: <http://www.funtrab.ms.gov.br/depressao-e-ansiedade-sao-as-principais-causas-de-adoecimento-e-afastamento-do-trabalho/>. Acesso em: 12 de março de 2019.

FUSTER J. M.; maio de 2001. The prefrontal cortex-an update: Review time is of the essence. **Cell Press**, vol. 30, p. 319–333.

GBD 2015 DISEASE AND INJURY INCIDENCE AND PREVALENCE COLLABORATORS. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. **The Lancet**, v. 388, n. 10053, p. 1545-1602, 2016.

GOMES, F. C. A.; TORTELLI V. P.; DINIZ L. 18 de março de 2013. Glia: dos velhos conceitos às novas funções de hoje e as que ainda virão. **Revista Estudos Avançados**, p. 61-84.

HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G. R.; MERENSTEIN, D. J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R. B.; FLINT, H. J.; SALMINEN, S.; CALDER, P. C.; SANDERS, M. E. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**. v. 11, p. 506–514, 2014.

HOBAN A. E.; STILLING R. M.; MOLONEY G.; SHANAHAN F.; DINAN T. G.; CLARKE G.; CRYAN J. F.; 16 Maio de 2017. The microbiome regulates amygdala-dependent fear recall. **Molecular Psychiatry**, p. 1134-1144.

HOSSEINIFARD, E. S.; MORSHEDI M.; VALENLIA K. B.; ASL M. S. 02 de março de 2019. The novel insight into anti-inflammatory and anxiolytic effects of psychobiotics in diabetic rats: link between gut microbiota and brain regions. **European Journal of Nutrition**.

HOSSEINIFARD, E. S.; MORSHEDI M.; VALENLIA K. B.; ASL M. S. 02 de março de 2019. The novel insight into anti-inflammatory and anxiolytic effects of psychobiotics in diabetic rats: link between gut microbiota and brain regions. **European Journal of Nutrition**.

HUANG, E.; KANG, S.; PARK, H.; PARK, S.; JI, H.; HOLZAPFEL, W. H.; 04 de dezembro de 2018. Differences in anxiety levels of various murine models in relation to the gut microbiota composition. **Biomedicines Journal**, p. 1-12.

HUANG, E.; KANG, S.; PARK, H.; PARK, S.; JI, Y.; HOLZAPFEL, W. H. Differences in Anxiety Levels of Various Murine Models in Relation to the Gut Microbiota Composition. **Biomedicines**. v. 6, n. 113, p.1-12, 2018.

HUBER, L. Fevereiro de 1998. Validation of analytical methods: review and strategy. **LC/ GC International**, p. 96-105.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia. DOQ-CGCRE-008 – Revisão 1. Orientações sobre validação de Métodos de Ensaio Químicos, 2003.

JAYABALAN, R.; MALBASA, R.; LONCAR, E. S.; VITAS, J.; 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(4), p. 538-550.

KATO-KATAOKA, A.; NISHIDA, K.; TAKADA, M.; KAWAI, M.; KIKUCHI-HAYAKAWA, H.; SUDA, K.; ISHIKAWA, H.; GONDO, Y.; SHIMZU, K.; MATSUKI, T.; KUSHIRO, A.; HOSHI, R.; WATANABE, O.; IGARASHI, T.; MIYAZAKI, K.; KUWANO, Y.; ROKUTAN, K. Fermented milk containing *Lactobacillus casei* strain Shirota preserves the diversity of the gut microbiota and relieves abdominal dysfunction in healthy medical students exposed to academic stress. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 82, n. 12, p. 3649–58, 2016.

KAVVADIA, M.; DE SANTIS, G. L.; ALWARDAT, N.A.A.A.; BIGIONI, G.; ZEPPIERI, C.; CASCAPERA, S.; DE LORENZO, A. Psychobiotics As Integrative Therapy for Neuropsychiatric Disorders with Special Emphasis on the Microbiota-Gut-Brain Axis. **Biomedicine & Prevention**, v. 2, n. 111, p. 81-88, 2017.

KNIVSBERG AM, REICHELTL KL, HØIEN T, NODLAND M. (2002) A randomized, controlled study of dietary intervention in autistic syndromes. **Nutritional Neuroscience**, p. 251-261.

K, C. S.; LOBO, R. O.; DIAS, F. O. Kombucha (Bio-Tea): An Elixir for Life? In: GRUMEZESCU, A. M. (ed.). **Nutrients in Beverages**. [S.l.]: Academic Press, 2019. v. 12, cap. 16, p. 591 – 616. ISBN 978-0-12-816842-4.

KOMATSUZAKI N.; NAKAMURA T.; KIMURA T.; SHIMA J.; 07 de fevereiro de 2008. Characterization of glutamate decarboxylase from a high  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA)-producer, *Lactobacillus paracasei*. **Taylor & Francis Online**, p. 278-285.

LAUREYS, D.; BRITTON, S. J.; CLIPPELEER, J. D. 2020. Kombucha Tea Fermentation: A Review. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 78, n. 3, p. 165 - 174.

LEAL, J. M., SUÁREZ, L. V., JAYABALAN, R. OROS, J. H., ABURTO, A. E. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. **CYTA - Journal of Food**. v. 16, n. 1, p. 390-399, 2018.

LI, S.; LO, C.; PAN, M.; LAI, C.; HO, C. (2013). Black tea: chemical analysis and stability. **Food & Function**, p. 10-18.

LIANG, S.; WANG, T.; HU, X.; LUO, J.; LI, W.; WU, X.; DUAN, Y.; JUN, F. Administration of *Lactobacillus helveticus* NS8 improves behavioral, cognitive, and biochemical aberrations caused by chronic restraint stress. **Neuroscience**, v. 310, p. 561-77, 2015.

LIU, W. H.; YANG, C. H.; LIN, C. T.; LI, S. W.; CHENG, W. S.; JIANG, Y. P.; WU, C. C.; CHANG, C. H.; TSAI, Y. C. Genome architecture of *Lactobacillus plantarum* PS128, a probiotic strain with potential immunomodulatory activity. **Gut Pathog.** v. 7, n. 22, 2015.

LIU, Y. W.; LIU, W. H.; WU, C. C.; JUAN, Y. C.; WU, Y. C.; TSAI, H. P.; WANG, S.; TSAI, Y. C. Psychotropic effects of *Lactobacillus plantarum* PS128 in early life-stressed and naive adult mice. **Brain Res.** v. 1631, p. 1-12, 2016.

LUO, J.; WANG, T.; LIANG, S.; HU, X.; LI, W.; JIN, F. Ingestion of *Lactobacillus* Strain Reduces Anxiety and Improves Cognitive Function in the Hyperammonemia Rat. **Science China Life Sciences**. v. 57, n. 3, p. 327-35, 2014.

LYTE M.; 06 de julho de 2011. Probiotics function mechanistically as delivery vehicles for neuroactive compounds: Microbial endocrinology in the design and use of probiotics. **Periódico BioEssays**, vol.33, p. 574–581.

MARGIS, R.; PICON, P.; COSNER, A. F.; SILVEIRA, R. O. 18 de março de 2003. Relação entre estressores, estresse e ansiedade. **Revista de psiquiatria**, p 64-74.

MARSH, A.; SULLIVAN, O.; HILL, C.; ROSS, R.; COTTER, P. (2014). Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. **Food Microbiology**, vol. 38, p. 171-178.

MARTIN C. R.; OSADCHIY V.; KALANI A.; MAYER E. A.; 04 de abril de 2018. The brain-gut-microbiome axis. **Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology**, vol. 6, p. 133-148.

MCGEE, H. (2011). On food and cooking: the science and lore of the kitchen. New York, **Scribner**, p. 433-441.

MESSAOUDI, M.; LALONDE, R.; VIOLLE, N.; JAVELOT, H.; DESOR, D.; NEJDI, A.; BISSON, J-F.; ROUGEOT, C.; PICHELIN, M.; CAZAUBIEL, M.; CAZAUBIEL, J-M. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. **Br J Nutr.** v. 105, n. 5, p. 755-64, 2011.

MILLER, A.; HAROON, E.; RAISON, C.; FELGER, J. Cytokine targets in the brain: Impact on neurotransmitters and neurocircuits. **Depress Anxiety**, v. 30, n. 4, p. 297-306, 2013.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. Instrução normativa número 41 de 17 de setembro de 2019. Diário Oficial da União ed.181, seção 1, p.13, 2019.

MINTEL. Global Food and Drink Trends, 2022 v.1

MOHAMMADI, A. A.; JAZAYERI, S.; KHOSRAVI-DARANI, K.; SOLATI, Z.; MOHAMMADPOUR, N.; ASEMI, Z.; ADAB, Z.; DJALALI, M.; TEHRANI-DOOST, M.; HOSSEINI, M.; EGHTESADI, S. The effects of probiotics on mental health and hypothalamic-pituitary-adrenal axis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial in petrochemical workers. **Nutr Neurosci.** v. 19, n. 9, p. 387-95, 2016.

MOMBELLI, B.; GISMONDO, M. R. (2000) The use of probiotics in medical practice. **International Journal of Antimicrobial Agents.** p. 531–536.

MORSHEDI M.; VALENLIA K. B.; HOSSEINIFARD E. S.; SHAHABI P.; ABBASI M. M.; GHORBANI M.; BARZEGARI A.; ETEGHAD S. S.; ASL M. S.; 21 de março de 2018. Beneficial psychological effects of novel psychobiotics in diabetic rats: the interaction among the gut, blood, and amygdala. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, p.145-152.

NADEEM, I.; RAHMAN, M.Z.; AD-DAB'BAGH, Y.; AKHTAR, M. Effect of probiotic interventions on depressive symptoms: A narrative review evaluating systematic reviews. **Psychiatry and Clinical Neurosciences**, v. 73, n.4, p.154-162, 2019.

NASCIMENTO, M. L. (2014). Doseamento de cafeína e análise sensorial de chá preto (*Camellia sinensis*) preparado com diferentes condições de extração. Dissertação (Mestrado) - Universidade Nova de Lisboa. Programa de Pós-Graduação em Ciências Gastronômicas da Faculdade de Ciências e Tecnologia.

OFFEI, B.; VANDECRUYS, P.; GRAEVE, S. D.; FOULQUIÉ-MORENO, M. R.; THEVELEIN, J. M; setembro 2019. Unique genetic basis of the distinct antibiotic potency of high acetic acid production in the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*. **Genome e search**, v. 29, n. 9, p. 1478 – 1494.

OLIVEIRA A. P.; **Efeito da micro injeção de ácido gama-aminobutírico (GABA), somatostatina e histamina na amígdala medial pósterio-dorsal sobre o comportamento sexual de ratos machos.** 2008. 138 páginas. Dissertação de Mestrado-Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2008.

OLIVEIRA, Í. A. C. L. de; ROLIM, V. A. de O.; GASPAR, R. P. L.; ROSSINI, D. Q.; SOUZA, R. de; BOGSAN, C. S. B. The Technological Perspectives of Kombucha and Its Implications for Production. **Fermentation**, v. 8, n. 185, p. 1 – 12, 2022.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). 01 de agosto de 2019. ONU destaca a necessidade urgente de aumentar investimentos em serviços de saúde mental durante a pandemia de COVID-19. Disponível em: [https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=6170:onu-destaca-necessidade-urgente-de-aumentar-investimentos-em-servicos-de-saude-mental-durante-a-pandemia-de-covid-19&Itemid=839](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=6170:onu-destaca-necessidade-urgente-de-aumentar-investimentos-em-servicos-de-saude-mental-durante-a-pandemia-de-covid-19&Itemid=839). Acesso em: 27 dezembro 2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). 13 de abril de 2016. OMS: investir em tratamento para depressão gera retorno quatro vezes maior. Disponível em: <<http://agenciabrasil.ebc.com.br/internacional/noticia/2016-04/oms-investir-em-tratamento-para-depressao-gera-retorno-quatro-vezes>>. Acesso em: 15 de março de 2019.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). 23 de fevereiro de 2017. Cresce o número de pessoas com depressão no mundo. Disponível em: < [HYPERLINK "https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5354:aumenta-o-numero-de-pessoas-com-depressao-no-mundo&Itemid=839"](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5354:aumenta-o-numero-de-pessoas-com-depressao-no-mundo&Itemid=839) [https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5354:aumenta-o-numero-de-pessoas-com-depressao-no-mundo&Itemid=839](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5354:aumenta-o-numero-de-pessoas-com-depressao-no-mundo&Itemid=839) >. Acesso em: 05 de março de 2019.

PAIXÃO L. A.; CASTRO F. F. S. A colonização da microbiota intestinal e sua influência na saúde do hospedeiro. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 14, n. 1, p. 85-96, 2016.

PELLOW, S.; CHOPIN P.; FILE S. E.; BRILEY M. 15 de Maio de 1985. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, p. 149 - 167.

RAO, A. V.; BESTED, A. C.; BEAULNE, T. M.; KATZMAN, M. A.; IORIO, C.; BERARDI, J. M.; LOGAN, A. C. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. **Gut Pathog.** v. 1, n. 1, 6p., 2009.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. 2004. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, p 771-780.

RIBEIRO, L. M.; MEDEIROS, S. M.; SAMI, J. A.; FERNANDES, S. M. B. A. Saúde mental e enfermagem na estratégia saúde da família: como estão atuando os enfermeiros? **Rev Esc Enferm USP**, v. 44, n. 2, p.376-382, 2010.

ROTHHAMMER, V. et al. (2018). Microglial control of astrocytes in response to microbial metabolites. **Nature**, 557, p. 642–643.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 42, n.1, p. 1-6, 2006.

SADOCK B. J; SADOCK V. A.; RUIZ P. **Compendio de Psiquiatria: Ciência do Comportamento e Psiquiatria Clínica**, 11ª ed., Porto Alegre: Artmed, 2017. cap.9, p. 387-392.

SADOCK B. J.; SADOCK V. A.; RUIZ P. **Compêndio de Psiquiatria: Ciência do Comportamento e Psiquiatria Clínica**, 11.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. cap.9, p. 387-392.



SAYAR, G.H.; CETIN, M. Psychobiotics: The Potential Therapeutic Promise of Microbes in Psychiatry. **Klinik Psikofarmakoloji Bülteni-Bulletin of Clinical Psychopharmacology**, v. 26, n. 2, p. 93-102, 2016.

SCHIRMER, M.; SMEEKENS, S. P.; VLAMAKIS, H.; JAEGER, M.; OOSTING, M.; FRANZOSA, E. A.; HORST, R. T.; JANSEN, T.; JACOBS, L.; BONDER, M. J.; KURILSHIKOV, A.; FU, J.; JOOSTEN, L. A. B.; ZHERNAKOVA, A.; HUTTENHOWER, C.; WIJMENGA, C.; NETEA, M. G.; XAVIER, R. J. Linking the human gut microbiome to inflammatory cytokine production capacity. **Cell**. v. 167, n. 4, p. 1125-36, 2016.

SCWARTZ, M. E.; KRULL, I. S. 1998. Validação de métodos cromatográficos.

SHANAHAN, F. (2003). Probiotics: A Perspective on Problems and Pitfalls. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. p. 34–36.

SHERWIN E.; SHANDU K. V.; DINAN T. G.; CRYAN J. F. 14 de julho de 2016. May the force be with you: The light and dark sides of the microbiota–gut–brain axis in neuropsychiatry. **CNS Drugs**, p. 1019-1041.

SILVESTRE, C. M. R. F. (2015). O diálogo entre o cérebro e o intestino: qual o papel dos probióticos? (Dissertação de Mestrado). **Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa**, Clínica Universitária de Pesquisa.

Silvestre, C. M. R. F. (2015). O diálogo entre o cérebro e o intestino: qual o papel dos probióticos? (Dissertação de Mestrado). **Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa**, Clínica Universitária de Pesquisa.

SOUZA, C. de A.; OLIVEIRA, Í. A. C. L. de; ROLIM, V. A. de O.; BOGSAN, C. S. B. Traditional Fermented Foods as an Adjuvant Treatment to Diabetes. **Current Geriatrics Reports**, v. 9, p. 242 – 250, 2020.

TEOH, A. L.; HEARD, G.; COX, J. Setembro 2004. Yeast ecology of Kombucha fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 95, n. 2, p. 119 – 126.

THURSBY, E.; JUGE, N. Introduction to the human gut microbiota. **Biochemical Journal**. v. 474, n. 11, p. 1823-36, 2017.

TILLISCH, K.; LABUS, J.; KILPATRICK, L.; JIANG, Z.; STAINS, J.; EBRAT, B.; GUYONNET, D.; LEGRAIN-RASPAUD, S.; TROTIN, B.; NALIBOFF, B.; MAYER, E.A. Consumption of Fermented Milk Product with Probiotic Modulates Brain Activity. **Gastroenterology**. v. 144, n. 7, p. 1394-1401, 2013.

TRAN, N.; ZHEBRAK, M.; YACOUB, C.; PELLETIER, J.; HAWLEY, D. The gut-brain relationship: Investigating the effect of multispecies probiotics on anxiety in a randomized placebo-controlled trial of healthy young adults. **Journal of Affective Disorders**. v. 252, p. 271-277, 2019.

Validation of Analytical Procedures: Methodology. **ICH** Harmonized Tripartite Guideline. International Conference on Harmonization (ICH), 1995.

VEDOVATO, K.; TREVIZAN, A. R.; ZUCOLOTO, C. N.; BERNARDI, M. D. L.; ZANONI, J. N.; MARTINS, J. V. C. P. abril de 2014. O eixo intestino cérebro e o papel da serotonina. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**. p. 33-42.



WANG., Z.; ZHOU, F.; JI, B.; LI, B.; LUO, Y.; YANG, L.; LI, T. (2008). Symbiosis between microorganisms from kombucha and kefir: Potential significance to the enhancement of kombucha function. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 160(2), p. 446-455.

WATAWANA, M. I.; JAYAWARDENA, N.; GUNAWARDHANA, C. B.; WAISUNDARA, V. Y. Health, Wellness, and Safety Aspects of the Consumption of Kombucha. **Journal of Chemistry**, v. 2015, p. 1 – 11, dezembro 2015.

WEI, C. L.; WANG, S.; YEN, J. T.; CHENG, Y. F.; LIAO, C. L.; HSU, C. C.; WU, C. C.; TSAI, Y. C. Antidepressant-like activities of live and heat-killed *Lactobacillus paracasei* PS23 in chronic corticosterone-treated mice and mechanisms. **Brain Research**, v. 1711, p. 202-213, 2019.

## ANEXOS

### ANEXO A – Atividades Complementares

Trabalho apresentado no “13º Simpósio Latino-Americano de Ciência dos Alimentos” - “*Homemade and Commercial Kombucha Fermentation: Differences and Similarities*”.



Review

## The Technological Perspectives of Kombucha and Its Implications for Production

Ícaro Alves Cavalcante Leite de Oliveira, Victória Ananias de Oliveira Rolim, Roberta Paulino Lopes Gaspar, Daniel Quarentei Rossini, Rayane de Souza and Cristina Stewart Bittencourt Bogsan \* 

Pharmaceutical-Biochemistry Department, School of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, São Paulo 05508-080, Brazil; icaro.biotech@usp.br (Í.A.C.L.d.O.); nutritiv.rolim@gmail.com (V.A.d.O.R.); roberta\_lopes@usp.br (R.P.L.G.); danielqr@usp.br (D.Q.R.); rayanesouza@usp.br (R.d.S.)

\* Correspondence: cris.bogsan@usp.br

**Abstract:** Fermentation is one of the oldest biotechnological tools employed by mankind. Fermenting food gives them better sensory and nutritional qualities, the latter including vitamins, phenolic compounds, antioxidants, and antimicrobials. Kombucha is the result of the fermentation of a sweetened *Camellia sinensis* infusion by the action of a symbiotic community of yeasts and bacteria organized in a cellulosic biofilm called SCOBY and has gained great prominence among fermented foods and beverages, with a considerable increase in its popularity in the last decade, both among consumers and within the scientific community. This is explained by the particular functional and microbial characteristics of this beverage, such as its antioxidant and antimicrobial potential, long-term stable microbial communities, its suitability for fermentation under different conditions of time and temperature, and amenability to other carbon sources besides sucrose. Thus, this review aims to present and discuss the functional, microbial, and physicochemical aspects of kombucha fermentation, covering the many challenges that arise in its production, in domestic, commercial, and legislation contexts, and the next steps that need to be taken in order to understand this drink and its complex fermentation process.

**Keywords:** traditional fermented food; health; food technology; microbiome



**Citation:** Oliveira, Í.A.C.L.d.; Rolim, V.A.d.O.; Gaspar, R.P.L.; Rossini, D.Q.; de Souza, R.; Bogsan, C.S.B. The Technological Perspectives of Kombucha and Its Implications for Production. *Fermentation* **2022**, *8*, 185. <https://doi.org/10.3390/fermentation8040185>

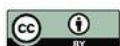
Academic Editor: Kurt A. Rosentrater

Received: 10 February 2022

Accepted: 23 March 2022

Published: 13 April 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

### 1. Introduction

One of the oldest methods of preserving food is through the fermentation process. The metabolites produced during fermentation generate desired characteristic flavors and decrease food matrix pH, inhibiting the growth of pathogenic bacteria increasing shelf life [1]. Fermented foods and beverages have been part of the cuisine of diverse populations for thousands of years, all over the world, as explored in Sandor Katz' book, *The Art of Fermentation*, an important reference for artisanal producers [2]. Fermented foods were probably the earliest processed foods, and the ancient fermentation techniques were known by philosophers and alchemists [3]. Fermented foods, such as kefir, kombucha, sourdough bread, kimchi, sauerkraut, tempeh, natto, and miso, and others, including, as some of the most popular products, vinegar, beers, wines, and cheeses, are used in our daily lives and represent the oldest known uses of biotechnology [4,5]. Concerning public health and food culture, fermented foods confer microbiological safety and correspond to about a third of the world's diet [5]. It is known that there is a risk that foods of animal and vegetable origin may be contaminated with viruses, fungi, and bacteria, which make disease outbreaks transmitted by common foodstuffs a considerable public health problem worldwide [6]. Thus, this review aims to present and discuss the functional, microbial, physicochemical, and safety aspects of kombucha fermentation under the lens of the differences identified in the literature regarding the home and industrial production of this traditional fermented beverage.

## ANEXO B – Histórico Escolar

18/05/2022 20:40

**Janus** - Sistema Administrativo da Pós-Graduação



**Universidade de São Paulo**  
**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**  
**FICHA DO ALUNO**

---

**9133 - 11413172/1 - Roberta Paulino Lopes Gaspar**

**Email:** roberta\_lopes@usp.br  
**Data de Nascimento:** 27/03/1990  
**Cédula de Identidade:** RG - 35.312.109-5 - SP  
**Local de Nascimento:** Estado de São Paulo  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Graduação:** Bacharela em Farmácia - Faculdade Nossa Cidade - Centro Educacional Nossa Cidade - Brasil - 2019

---

**Curso:** Mestrado  
**Programa:** Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica  
**Área:** Tecnologia de Alimentos  
**Data de Matrícula:** 20/05/2019  
**Início da Contagem de Prazo:** 20/05/2019  
**Data Limite para o Depósito:** 19/05/2022  
**Orientador:** Prof(a). Dr(a). Cristina Stewart Bittencourt Bogdan - 20/05/2019 até o presente.  
Email: cris.bogdan@usp.br  
**Proficiência em Línguas:** Inglês, 20/05/2019  
**Data de Aprovação no Exame de Qualificação:** Aprovado em 13/01/2021  
**Data do Depósito do Trabalho:**  
**Título do Trabalho:**  
**Data Máxima para Aprovação da Banca:**  
**Data de Aprovação da Banca:**  
**Data Máxima para Defesa:**  
**Data da Defesa:**  
**Resultado da Defesa:**  
**Histórico de Ocorrências:** Primeira Matrícula em 20/05/2019

---

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 7493 em vigor a partir de 29/03/2018).

**Última ocorrência:** Matrícula Regular em 25/07/2021

**Impresso em:** 18/05/2022 21:39:00



**Universidade de São Paulo**  
**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**  
**FICHA DO ALUNO**

9133 - 11413172/1 - Roberta Paulino Lopes Gaspar

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
MAE5755-8/1	Métodos Estatísticos Aplicados às Ciências Biológicas (Instituto de Matemática e Estatística - Universidade de São Paulo)	05/08/2019	22/11/2019	120	8	87	C	N	Concluída
FBT5788-1/4	Aplicação de Alimentos Probióticos na Modulação de Imunidade de Mucosas	09/09/2019	29/09/2019	60	4	100	A	N	Concluída
FBT5700-4/1	Preparo de Artigos Científicos na Área de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica	03/02/2020	05/04/2020	90	0	-	-	N	Matrícula cancelada
BMB5759-8/2	Progressos no Estudo das Bases Estruturais, Fisiológicas e Farmacológicas de Sistemas de Neurotransmissores (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	12/08/2020	25/11/2020	45	0	-	-	N	Matrícula cancelada
FBT5773-8/6	Tópicos Especiais em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica	14/09/2020	22/11/2020	30	2	90	A	N	Concluída
BIF5791-3/4	Neuroimunomodulação: Integração Funcional dos Sistemas Nervoso, Imune e Endócrino (Instituto de Biociências - Universidade de São Paulo)	15/09/2020	23/11/2020	120	8	100	A	N	Concluída
5935957-2/4	Fundamentos das Técnicas Analíticas de Separação: HPLC, GC e CE (Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo)	06/10/2020	15/12/2020	120	0	-	-	N	Matrícula cancelada
PBA5025-1/4	Introdução à Docência para o Ensino Superior (Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo)	15/10/2020	23/12/2020	60	0	-	-	N	Pré-matrícula indeferida
TNM5784-6/2	Preparação Pedagógica para Aperfeiçoamento do Ensino de Ciências (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo)	16/03/2021	26/04/2021	30	2	100	A	N	Concluída
MCM5772-8/2	Temas Básicos de Imunologia (Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo)	29/03/2021	25/04/2021	60	0	0	R	N	Concluída
5935957-3/1	Fundamentos das Técnicas Analíticas de Separação: HPLC, GC e CE (Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo)	04/05/2021	13/07/2021	120	0	88	R	N	Concluída
FBC5782-4/1	Biossegurança / Segurança, qualidade e boas práticas de laboratório	07/10/2021	10/11/2021	30	2	100	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito da dissertação	
<b>Disciplinas:</b>	0	25	26
<b>Estágios:</b>			
<b>Total:</b>	0	25	26