



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ÉRICA APARECIDA BATISTA CAIXETA

**DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA E ESPECTROMÉTRICA DE
FENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE KOMBUCHAS**

Goiânia
2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE FARMÁCIA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei 9.610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese Outro*: _____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

ÉRICA APARECIDA BATISTA CAIXETA

3. Título do trabalho

**DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA E ESPECTROMÉTRICA DE FENÓIS
TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE KOMBUCHAS**

(a) Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

4. Concorda com a liberação total do documento

SIM

NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa.

Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

- a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);
- b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.



Documento assinado eletronicamente por **Érica Aparecida Batista Caixeta , Discente**, em 21/11/2025, às 14:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Eric De Souza Gil , Professor do Magistério Superior**, em 25/11/2025, às 10:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **5799100** e o código CRC **F634C722**.

ÉRICA APARECIDA BATISTA CAIXETA

**DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA E ESPECTROMÉTRICA
DE FENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE
KOMBUCHAS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia pela Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Doutora em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Fármacos e Medicamentos.

Orientador(a): Eric de Souza Gil

Goiânia

2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

CAIXETA, ERICA APARECIDA BATISTA
DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA E ESPECTROMÉTRICA DE
FENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE KOMBUCHAS
[manuscrito] / ERICA APARECIDA BATISTA CAIXETA. - 2025.
xv, 149 f.

Orientador: Prof. Dr. Eric de Souza Gil.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade
Farmácia (FF), Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas, Goiânia, 2025.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, abreviaturas, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Kombuchas. 2. Atividade antioxidante. 3. biossensor
eletroquímico. 4. eletroanálise. I. Gil, Eric de Souza, orient. II. Título.

CDU 61



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

FACULDADE DE FARMÁCIA

ATA DA DEFESA DA TESE

Ata Nº **257** da sessão de Defesa de Tese de **ÉRICA APARECIDA BATISTA CAIXETA** que confere o título de Doutora em **Ciências Farmacêuticas**, na área de concentração em **Fármacos e Medicamentos**.

Aos **dez dias do mês de setembro de dois mil e vinte e cinco**, através de **videoconferência**, realizou-se a sessão pública de Defesa de Tese intitulada “**DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA E ESPECTROMÉTRICA DE FENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE KOMBUCHAS**”. Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, **Professor Doutor Eric de Souza Gil (FF/UFG) - cuja participação ocorreu através de videoconferência**, com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: **Professora Doutora Virgínia Farias Alves (FF/UFG) - cuja participação ocorreu através de videoconferência**, membro titular interno; **Professora Doutora Telma Alves Garcia (FF/UFG) - cuja participação ocorreu através de videoconferência**, membro titular externo; **Professor Doutor Severino Carlos Bezerra de Oliveira (DQ/UFRPE)**, membro titular externo; **Doutor Carlos Eduardo Peixoto da Cunha**, membro titular externo. Durante a arguição os membros da banca **não fizeram** sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação tendo sido a candidata **aprovada** pelos seus membros, mediante correções sugeridas pela banca. Proclamados os resultados pelo **Professor Doutor Eric de Souza Gil (FF/UFG) - cuja participação ocorreu através de videoconferência**, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos **dez dias do mês de setembro de dois mil e vinte e cinco**.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **Eric De Souza Gil, Professor do Magistério Superior**, em 18/11/2025, às 10:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Telma Alves Garcia, Professora do Magistério Superior**, em 18/11/2025, às 11:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Virginia Farias Alves, Professora do Magistério Superior**, em 18/11/2025, às 13:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **SEVERINO CARLOS BEZERRA DE OLIVEIRA, Usuário Externo**, em 18/11/2025, às 14:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jose Realino De Paula, Coordenador de Pós-Graduação**, em 18/11/2025, às 16:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **5791621** e o código CRC **9D31D749**.

Referência: Processo nº 23070.034445/2025-21

SEI nº 5791621



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Coordenador do Programa de Pós-Graduação

Prof(a). Dr(a). Prof(a). Dr. José Realino de Paula

Vice-Coodenador do Programa de Pós-Graduação

Prof(a) Dr(a). Ana Carolina Kogawa

Goiânia-GO

2025



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
BANCA EXAMINADORA

Aluno(a): Érica Aparecida Batista Caixeta

Orientador(a): Eric de Souza Gil

Eric de Souza Gil / Membro Titular

Professor Titular da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás
FF/UFG.

Virginia Farias Alves / Membro Titular

Professora Titular da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás
FF/UFG.

Telma Alves Garcia / Membro Titular

Professor(a) Titular da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás,
FF/UFG.

Severino Carlos Bezerra de Oliveira / Membro Titular

Professor do Departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco,
IQ/UFRPE

Luís Antônio Dantas/ Membro suplente

Professor(a) Titular da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás,
FF/UFG.

Data: 10 de Setembro de 2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me emergir de forças, suporte emocional e psicológico para seguir a trajetória acadêmica que sempre sonhei no qual agora se tornou realidade.

Agradeço os meus pais Nilson Alves Batista (in memoriam) e Vergínia Caixeta da Silva Alves, pelo apoio incondicional ao meu percurso acadêmico, aos meus irmãos pelo apoio e vibrações positivas, aos meus sobrinhos que enchem minha vida de alegria.

Ao meu filho Heitor sua chegada trouxe luz, alegria e motivação para novas lutas de forma simples e pura, que possa te guiar e conduzir pelo melhor caminho sempre com amor, gratidão e resiliência científica. Aos demais familiares que foram e são imprescindíveis as minhas lutas.

Ao orientador(a) professor Eric de Souza Gil, pelas orientações, companheirismo, conselhos e auxílio na busca de conhecimento possibilitando a otimização da aprendizagem, melhoria científica viabilizando o conhecimento multidisciplinar.

Às grandes amigas do laboratório de pesquisa LAFAM por dividirem lutas, anseios e aprendizagem em especial a Isaac, Marx, Elgia, Júlio César, Lorrany, Matheus e Isac Newton por dividirem sorrisos e tornarem a caminhada científica divertida, agradável e serena.

Aos meus amigos do programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas e da Química em especial ao Andrew Carvalho, Danielly Rocha, Tamiris Rosso Storck pelo apoio incondicional, pela amizade, por compartilhar ideais e lutas diárias das disciplinas e projetos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de Goiás (FAPEG pela concessão da bolsa de estudo nº processo SEI 202110267000641, ao Programa de pós-graduação em ciências farmacêuticas- PPGCF pelo acolhimento, a Universidade Federal de Goiás-UFG, por ser ambiente de realização de sonhos acadêmicos, lapidando talentos e auxiliando no desenvolvimento científico e tecnológico do País.

“Estudar é escrever o próprio futuro com as palavras que você escolheu, e não com as que deixaram para você. Faculdade não é garantia de sucesso, mas é ferramenta de liberdade.

— **Mari Krüger**

Mariana Krüger Bueno, influenciadora digital brasileira, conhecida por combater a desinformação na saúde e ciência nas redes sociais, utilizando abordagem que alia rigor científico e humor.

Determinação eletroanalítica e espectrofotométrica de fenóis totais e atividade antioxidante de kombuchas**Érica Aparecida Batista, Eric de Souza Gil¹**¹Laboratório de análises farmacêuticas e ambientais- LAFAM, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás - UFG.

Introdução: Kombucha é uma bebida milenar elaborada a partir de chá verde ou preto e sacarídeos, fermentada por uma cultura microbiana (SCOBY). Esta bebida funcional ostenta benefícios à saúde, como melhora da função da microbiota intestinal, hepatoproteção e inibição de fibras amiloides. contém bioativos antioxidantes, incluindo catequinas, ácido ascórbico, vitaminas do complexo B e outros compostos polifenólicos, todos encontrados em kombuchas. **Métodos:** A atividade antioxidante de amostras de kombucha foi avaliada por técnicas eletroanalíticas e espectrofotométricas meio Voltametria de Pulso Diferencial (DPV) e Voltametria de Onda Quadrada (SWV), com aqueles obtidos por métodos espectrométricos tradicionais, como *Folin Cicateou* (FC), 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) e *Fluorescence Recovery After Photobleaching* (FRAP). Amostras de bebida probiótica de kombucha foram fermentadas por 7 a 14 dias com temperatura controlada ($28 \pm 2^\circ\text{C}$). **Resultados e Discussões:** Foi feita uma curva linear para catequina com intervalo de 10,00 a 60,00 μM , com limite de detecção de 0,13 μM e limite de quantificação de 0,39 μM para o biossensor enzimático de *Cordia Superba* paralelamente avaliou-se a atividade antioxidante de alíquotas de amostras de Kombucha diluídas em tampão de fosfato pH7,0, 1:10 para leitura analítica obtendo como resultados VPD, onde foram observados picos anódicos característicos dos compostos eletroativos presentes. **Conclusão:** Os resultados indicaram que os métodos eletroquímicos oferecem maior sensibilidade e especificidade na determinação da capacidade antioxidante de kombucha, quando comparados a atividades espectrofotométricas tradicionais. As técnicas DPV e SWV também se mostraram se ferramentas eficazes para inferir a composição biotivas e o potencial funcional dessas bebidas.

Palavras-chave: Kombuchas; Atividade antioxidante; biossensor eletroquímico; eletroanálise.

Agradecimentos: Brizze kombuchas, CAPES e FAPEG.

Electroanalytical and spectrophotometric determination of total phenols and antioxidant activity of kombuchas

Érica Aparecida Batista, Eric de Souza Gil¹

¹Laboratório de análises farmacêuticas e ambientais- LAFAM, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás - UFG.

Introduction: Kombucha is an ancient beverage made from green or black tea and saccharides, fermented by a microbial culture (SCOBY). This functional beverage boasts health benefits such as improved gut microbiota function, hepatoprotection, and inhibition of amyloid fibers. It contains antioxidant bioactives, including catechins, ascorbic acid, B vitamins, and other polyphenolic compounds, all found in kombucha.

Methods: The antioxidant activity of kombucha samples was evaluated using electroanalytical and spectrophotometric techniques such as Differential Pulse Voltammetry (DPV) and Square Wave Voltammetry (SWV), with results obtained by traditional spectrometric methods such as *Folin Cicateou* (FC), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), and Fluorescence Recovery After Photobleaching (FRAP). Samples of kombucha probiotic beverage were fermented for 7 to 14 days at a controlled temperature ($28 \pm 2^\circ\text{C}$). **Results and Discussion:** A linear curve for catechin was created with a range of 10.00 to 60.00 μM , with a detection limit of 0.13 μM and a quantification limit of 0.39 μM for the *Cordia Superba* enzymatic biosensor. In parallel, the antioxidant activity of aliquots of kombucha samples diluted in phosphate buffer pH 7.0, 1:10, was evaluated for analytical reading, obtaining VPD results, where anodic peaks characteristic of the electroactive compounds present were observed. **Conclusion:** The results indicated that electrochemical methods offer greater sensitivity and specificity in determining the antioxidant capacity of kombucha when compared to traditional spectrophotometric activities. DPV and SWV techniques also proved to be effective tools for inferring the bioactive composition and functional potential of these beverages.

Keywords: kombuchas, antioxidant activity; electrochemical biosensor; electroanalysis.

Acknowledgements: Brizze kombuchas, CAPES e FAPEG.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Localização Geográfica da Manchúria	18
Figura 2: Histórico do consumo da kombucha no mundo, Américas, Brasil e Goiás	22
Figura 3: Esquema representativo do processo de produção laboratorial da kombucha	24
Figura 4: Representação esquemática sobre os critérios analisados para o desenvolvimento de uma cultura <i>starter</i> para a indústria de alimentos	38
Figura 5: Estrutura 2D da molécula de catequina	40
Figura 6: Estabilização do mecanismo de reação do radical livre DPPH [•] é um antioxidante através da transferência de um átomo de hidrogênio.	44
Figura 7: Estabilização do radical ABTS ^{•+} por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio	45
Figura 8: Redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com Fe ³⁺	45
Figura 9: Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de <i>Folin-Ciocalteu</i>	46
Figura 10: Sistema de detecção eletroquímica e marcadores fenólicos, Work electrode (WE), Reference electrode (RE), Control electrode (CE)	50
Figura 11: Esquemática da preparação do biossensor de <i>Cordia superba</i>	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Denominações atribuídas à kombucha em diferentes países	19
Tabela 2: Parâmetros analíticos da kombucha	25
Tabela 3: Legislação aplicável à elaboração e controle de qualidade da kombucha no Brasil	26
Tabela 4. Comercial (®) e realizados em laboratório (□) Amostras de kombucha	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ΔG	Constante de energia livre de Gibbs.
μmol	Micromol
ABTS	<i>2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)</i> .
Ag	Prata
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CO ₂	Dióxido de carbono
CV	Cyclic Voltammetry.
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPPH	<i>2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl</i> radical
DPV	Differential Pulse Voltammetry
E	Potencial controlado.
EC	<i>Enzyme commission</i>
EI	Índice eletroquímico
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
E_p	Potencial de pico
E_{pa}	Potencial de pico anódico
F	Constante de Faraday
FC	<i>Folin-Ciocalteu Reducing Capacity</i>
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
G	Energia livre de Gibbs
H ₂ O	Monóxido de Dihidrogênio
HCl	Ácido clorídrico
HHDP	Hexahidroxdifenoila.
i	Corrente elétrica
I_p	Corrente de pico
I_{pc}	Corrente de pico catódico
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LDL Oxidation	<i>Low Density Lipoprotein Oxidation</i>
LSV	<i>Linear Sweep Voltammetry</i>
MAPA	Ministério da Agricultura e Pecuária
n	Número de partículas carregadas
NHTP	Nonahidroxitrifenoila
O ₂	Gás oxigênio
O ₂ •-	Ânion superóxido
•OH	Radical hidroxil

ORAC	<i>Oxygen Radical Absorbance Capacity.</i>
pH	Potencial hidrogeniônico
PFOs	Polifenoloxidasas
RNA	Ácido ribonucleico
SCOBY	Cultura simbiótica de bactérias e leveduras.
SOD	Enzima superóxido dismutase
TAH	Átomos de hidrogênio
TE	Transferência de elétrons
TOSC	<i>Total Oxidant Scavenging Capacity.</i>
TRAP	Total Radical-trapping Antioxidant Parameter
VPD	Voltametria de pulso diferencial

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 HISTÓRIA E DEFINIÇÕES DA KOMBUCHA	18
2.1.1 História e inserção da Kombucha no Brasil e em Goiás	21
2.2 PRODUÇÃO DA KOMBUCHA	23
2.2.1 Legislação brasileira para fabricação comercial de kombucha alcoólica e não-alcoólica	25
2.3 FATORES QUE INFLUENCIAM NO PROCESSO PRODUTIVO E FERMENTATIVO	30
2.3.1 Materiais	32
2.3.2 Parâmetros operacionais	32
2.3.3 Parâmetros físicos	33
2.3.4 Parâmetros químicos	35
2.4 ALIMENTOS PARA FINS ESPECIAIS E ANTIOXIDANTE DE FITOMARCADORES DA <i>CAMELIA SINENSIS</i>	38
2.5 Determinação da atividade antioxidante	39
2.5.1 Métodos espectroanalíticos e bioquímicos	41
2.5.2 Perfil e índice eletroquímico	45
2.5.3 Biossensores para análises de antioxidantes e determinação de polifenóis totais	47
2.5.4 Biossensor enzimático da <i>Cordia superba</i> na detecção de compostos	49
3 OBJETIVOS	52
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	52
4 MATERIAIS E MÉTODOS	53
4.1 MATERIAIS	53

4.1.1 Substâncias e reagentes	53
4.1.2 Equipamentos e utensílios diversos	54
4.1.3 Material vegetal e preparação do extrato vegetal bruto	54
4.2 MÉTODOS	55
4.2.1 Método de preparação de kombucha	55
4.2.2 Determinação das atividades antioxidantes	55
4.2.3 Ensaio voltamétrico	55
4.2.4 Preparação do biossensor, célula eletroquímica e parâmetros voltamétricos	56
4.2.5 Análise Estatística	57
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
5.1 PUBLICAÇÕES	59
5.2 ARTIGO 1	60
5.3 ARTIGO 2	70
6 CONCLUSÃO	95
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96
ANEXOS – Normas dos Artigos	111

O consumo de alimentos funcionais é consolidado mundialmente, os benefícios associados ao bem-estar e saúde auxiliam na diminuição e prevenção de diversas enfermidades, principalmente as de origem cardiovasculares, hepáticas e intestinais (Sannapaneni et al., 2023).

O apelo de qualidade de vida e boas práticas alimentares como instrumento benéfico a saúde física e mental, tem se expandido no mercado de alimentos, dentre estes as bebidas funcionais ganharam espaço e rápido crescimento (Greenwalt et al., 2000; Bishop, et al., 2022).

Os produtos encontrados para venda são agregados em bebidas à base de laticínios, incluindo probióticos e minerais, sucos de frutas e outras bebidas de origem vegetal, bebidas esportivas e energéticas (Barbosa et al., 2021). No grupo de bebidas vegetais encontram-se chás e bebidas fermentadas no qual se destaca a kombucha, originária da China há 2000 anos, devido suas características e as lendas associadas foi disseminada para Rússia e Europa em períodos de guerra (Kim et al., 2023).

A obtenção da bebida ocorre através da fermentação do chá adoçado usando leveduras e bactérias como inóculo, também conhecido como fungo do chá ou SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* ou "*Colônia Simbiótica de Bactérias e Leveduras*"). O SCOBY, quando adicionado ao chá açucarado, promove a fermentação, que resulta na formação de vários novos compostos que conferem o sabor acidificado da bebida (Villarreal-Soto et al., 2018)

A presença de fitonutrientes com características antioxidantes tem promovido a busca de estratégias para identificação dos compostos bioativos presentes na bebida, visto que a quantidade de compostos fenólicos está associada a melhor atividade antioxidante (Brasil, 2019).

Os métodos de identificação padronizados pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA os espectrofotométricos, alternativas mais barata, rápida, de fácil execução e apresentando menos interferentes vem ganhando destaque como as técnicas eletroanalíticas utilizadas em sensores e biossensores

eletroquímicos (Rufino et al., 2006; Rufino et al., 2007; Brasil, 2019; Lazarotto et al., 2020; Batista et al., 2021).

Apesar do crescente interesse por produtos associados à qualidade de vida, como a kombucha, muitos consumidores ainda têm dúvidas quanto aos reais benefícios desses alimentos. Além disso, fontes de informação pouco confiáveis e supervalorizadas podem levar à adesão a modismos e interpretações equivocadas. A percepção do consumidor é fortemente influenciada pelo marketing, o que impulsiona o consumo mesmo na ausência de comprovação científica dos efeitos à saúde (Batista et al., 2021).

Nesse contexto, a bebida do estudo possui atividade antioxidante mensurável decorrente da presença de compostos fenólicos, que podem ser identificados e quantificados por diferentes métodos espectrofotométricos e eletroanalíticos. Para testar essas hipóteses, é necessário realizar estudos científicos robustos que confirmem as propriedades atribuídas à bebida, sendo assim foi avaliada a atividade antioxidante da kombucha a fim de identificar e quantificar marcadores fenólicos relacionados aos benefícios à saúde por meio do consumo da bebida.

2.1 HISTÓRIA E DEFINIÇÕES DA KOMBUCHA

A kombucha é uma bebida fermentada a partir da *Camellia sinensis* de origem milenar associada a várias culturas ao redor do mundo. Sua história é remontada com evidências de consumo em diferentes partes do planeta permeado de mitos e crenças. Evidências sugerem que originou na região nordeste da Ásia na região denominada Manchúria, dada a esta o nome de elixir da vida ou chá da imortalidade devido seus benefícios de cura e saúde (Fig. 1) (Sannapaneni et al., 2023).

Acredita-se que a kombucha tenha sido descoberta acidentalmente por volta de 200 a.C., possivelmente na dinastia Qin (221-206 a.C.), uma mistura de chá verde, açúcar e colônia de bactérias e leveduras conhecida como SCOBY (*Symbiotic culture of bacteria and yeast*), foi deixada fermentando em um recipiente por alguns dias conferindo a essa sabor acidificado e gaseificado devido a carbonatação dos microrganismos, ao consumir a população local percebem seus benefícios e passou a consumi-la regularmente, espalhando pelas rotas comerciais principalmente a da Rota da Seda, expandindo e alcançando diferentes partes da Ásia e Europa (Greenwalt et al., 2000; Bishop, et al., 2022).

Figura 1: Localização Geográfica da Manchúria



Adaptado de Britannica, 2024.

A origem da palavra kombucha é tão controversa quanto sua descoberta. Deveras, há relatos de que esta palavra seja originária da Alemanha ou Japão, no idioma japonês *kombu-chá*, significa chá de algas marinhas, sendo kombu uma alga salgada marítima (Figura 1). Dada a diversidade de sinonímias e incertezas quanto às traduções a precisão de sua origem permanece incógnita (Crum et al., 2016). A Tabela 1 apresenta nomes atribuídos a kombucha ou produtos similares em alguns países consumidores.

Tabela 1: Denominações atribuídas à kombucha em diferentes países

País/ Linguagem	Nome	Referência
Arabia Saudita/ Árabe	<i>al-nabtah</i>	(Crum & Lagory, 2016)
Armênia/ Armênio	<i>teyi saki</i>	(Crum et al., 2016)
Brasil/ Língua Portuguesa	<i>chá de kombucha, chá kombuchá, chá do fungo japonês, elixir da vida longa,</i>	(Crum et al., 2016; Batista et al., 2021; Kaap& Sumner, 2019).
Holanda/ Holandês	<i>komboecha bebeu, komboecha ti, theebier</i>	(Crum et al., 2016 ; Jarrell, Cal e Bennett, 2000) .
Inglaterra e Estados Unidos da América/ Língua inglesa	<i>booch, buch, chá de fungo, chá de kombuchá, elixir/chá da manchúria, chá de medusa, chá de cerveja/cidra/vinho, chá kwas.</i>	(Crum et al., 2016 ; Jarrell et al., 2000).
Alemanha/ Alemão	<i>chá de algas, bebida de kombucha, kombucha japonesa, chá kargasoc, vinho kombuchá, chá medusa, chá de rima, vinagre de chá russo, mosto de chá, chá kvass, suco mágico, poção mágica, chá herói, esponja de kombuchá.</i>	(Crum et al., 2016 ; Jarrell et al., 2000 ; Jayabalan, Malbaša, Lončar, Vitas, & Sathishkumar, 2014 ; Kapp et al., 2019).

Itália/ Italiano	<i>funkochinês</i>	(Kapp et al., 2019).
Japão/ Japonês	<i>tev kvass, fungo kombucha, água-viva de gota, chá manchuriano, água-viva russa, remédio da imortalidade, fungo japonicus, fungajapon kombucha, kombucha, kambotscha, koucha kinoko, mofo de chá, fungo de chá indiano, fungo manchu, fungo kombucha, fungo de chá japonês hongo, fungo manchu, kombuchá, chá da caridade, o divino che, fungo milagroso, chá fungo, mo-gu, vinagre de chá russo, cidra de chá, volga-primavera, teakwass, cerveja de chá e chá kargasok</i>	(Jarrell et al., 2000)
Rússia/ Russo	<i>caj kvas, grib, cainiigrib, cainii kvass, japonskigrib, kambucha, jsakvasska</i>	(Crum et al., 2016 ; Jarrell et al., 2000 ; Jayabalan et al., 2014 ; Kapp et al., 2019)
Turquia/ Turco	<i>kombuç</i>	(Crum et al., 2016)
Origem desconhecida	<i>congo, spumonto, chá do mar, te-aramoana, titânia, tschambucco, tsche de kombu, yaponge</i>	(Crum et al., 2016)

Adaptada de Bishop et al., 2022

No século XIX a kombucha ganhou popularidade na Rússia ao ser prescrita por médicos para tratamento de doenças metabólicas, hemorroidas e reumatismos,

consumida por suas propriedades e benefícios à saúde digestiva. No início do século XX, a kombucha começou a ser produzida em países europeus, a destacar Alemanha e França, avançando aos Estados Unidos. Durante a segunda guerra mundial sua popularidade teve crescimento significativo na Europa, devido ao consumo pelos soldados russos para fortalecer o sistema imunológico e promover melhorias à saúde intestinal (De Filippis et al., 2018; Bishop et al., 2022).

Nos Estados Unidos, impulsionado pelo interesse crescente em alimentos naturais e funcionais das décadas de 1960 e 70, foi reformulado com acréscimo de flavorizantes e outros. No entanto, sua popularidade diminuiu até o final do século, quando ressurgiu como uma tendência alimentar nos anos 2000 (Kapp et al., 2019).

Atualmente, a kombucha é amplamente consumida em todo o mundo, disponível em uma variedade de sabores e marcas comerciais. Ela é apreciada não apenas por seu sabor único, mas também por seus potenciais benefícios para a saúde, incluindo propriedades probióticas, antioxidantes e antimicrobianas. Estudos e pesquisas estão aperfeiçoando processos de fermentação e expandindo conhecimentos acerca de sua composição química e potenciais efeitos sobre a saúde humana. Descobertas recentes sugerem que a kombucha pode além de seu papel relevante na promoção da saúde gastrointestinal e fortalecimento do sistema imunológico, também se destaque na redução do estresse oxidativo (Batista et al., 2021; Barbosa et al., 2021; Kim et al., 2023).

2.1.1 História e inserção da Kombucha no Brasil e em Goiás

A história da kombucha nas Américas, no Brasil e em Goiás reflete sua jornada global, desde suas origens históricas até sua inserção na cultura contemporânea. Após a segunda guerra mundial a disseminação do consumo na Europa chegou até os Estados Unidos da América atribuídos os benefícios ao aumento da força física em ambientes hostis sendo difundido para o restante do continente americano (De Assis, 2022).

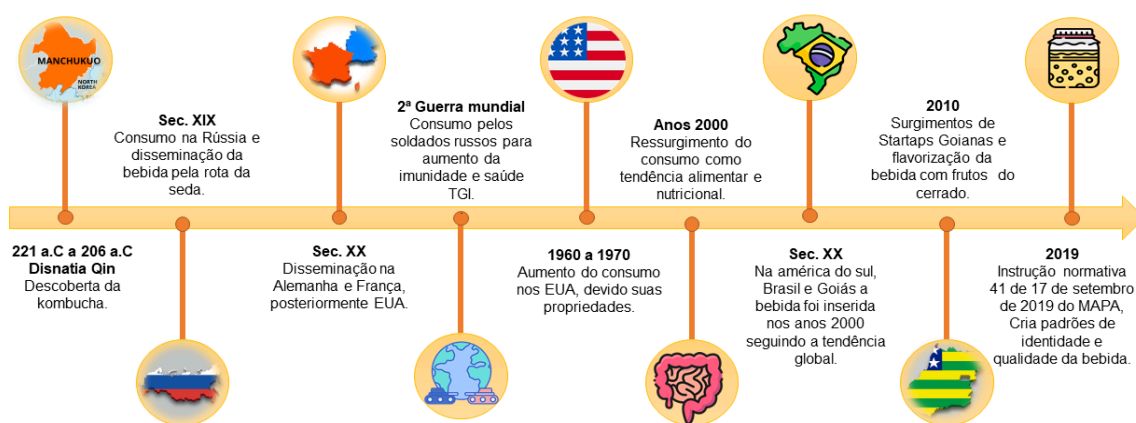
No Brasil, a kombucha ganhou popularidade gradualmente, especialmente a partir do final do século XX, inserida pelo movimento global de saúde e bem-estar, encontrou mercado receptivo nos indivíduos preocupados com alimentação

saudável, estilo de vida natural e bem-estar (Figura 2). A partir dos anos 2000, a produção e o consumo de kombucha cresceram significativamente em todo o país (De Assis, 2022).

Em Goiás, a kombucha encontrou mercado receptivo devido aos crescentes interesses da população em alimentos funcionais e sustentáveis. Esse cenário é favorecido pela valorização dos sabores típicos do cerrado, técnicas de fermentação regional, e uso de insumos regionais. A comercialização, predominantemente realizada em feiras locais e por meio de plataformas de e-commerce, tem contribuído significativamente para a popularização da bebida na região (Barbosa et al., 2021; Batista et. al, 2022).

À medida que a demanda e o consumo da bebida aumentaram, surgiram pequenas empresas visando o mercado e consumo local, viabilizando a produção em escalas comerciais maiores, a fim de oferecer uma variedade de sabores, estilos para atender os gostos regionais e nacionais como kombuchas de jabuticaba, açaí, baunilha do cerrado e maracujá pérola do cerrado (Maia et al., 2020).

Figura 2: Histórico do consumo da kombucha no mundo, Américas, Brasil e Goiás



Fonte: Autora, 2025.

Ao longo das últimas décadas, a kombucha de uma novidade exótica tornou uma presença comum nas prateleiras de supermercados, lojas de alimentos naturais e feiras de produtores em todo o Brasil e em Goiás, seu sabor refrescante e

benefícios para a saúde a tornaram uma escolha popular entre consumidores que buscam qualidade de vida, e alimentos sustentáveis regionais fortalecendo as cadeias produtivas locais (Oliveira et al., 2018).

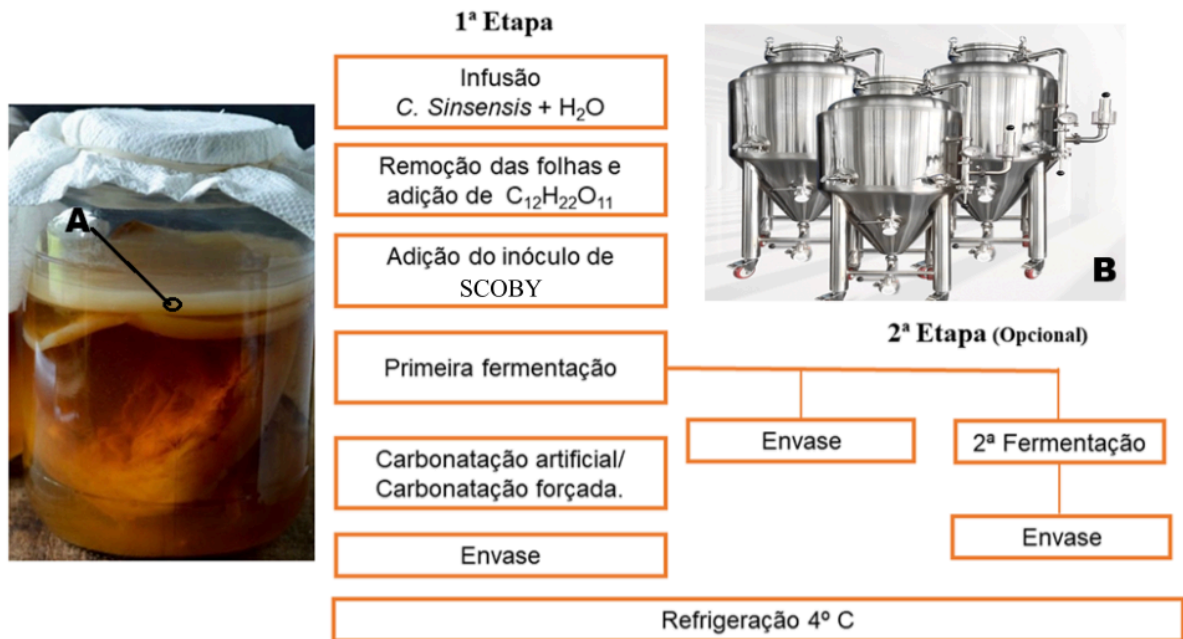
2.2 PRODUÇÃO DA KOMBUCHA

A produção da kombucha é dividida por fases, por meio da preparação, fermentação, avaliação dos padrões de qualidade e envase descritas na instrução normativa 41 de 17 de setembro de 2019, do Ministério de Agricultura e Pecuária (MAPA) (Brasil, 2019). A primeira fase da produção inicia-se com a preparação de uma infusão de chá verde, preto ou o chá semi-fermentado oolong adoçado sendo o chá verde, o mais comumente utilizado, posteriormente será inoculado com a cultura SCOBY ao atingir a temperatura ambiente. As proporções de chá e sacarose podem variar conforme descrito na literatura são entre 6 e 10 g/L de chá e 100 g/L ou 20% de sacarose na mistura total (Greenwalt, et al., 2000; De Filippis et al., 2018).

O inóculo é composto por uma película de celulose com bactérias e leveduras (Figura 3) que serão responsáveis pelo processo fermentativo do chá, as concentrações dos elementos microbiológicos podem variar de acordo com cada formulação, havendo preparações que utilizam apenas o líquido fermentado como inóculo denominado starter (Barbosa et al., 2021; Bishop et al., 2022).

A fermentação da kombucha é dividida em duas fases diferentes, inicialmente, o processo ocorre em frascos de vidro, vedados com um tecido que permite a passagem de ar. A duração dessa etapa pode variar consideravelmente, geralmente entre 7 e 14 dias (Greenwalt et al., 2000; Crum et al., 2016). Após esse período, uma nova película de celulose (SCOBY) é formada, podendo ser utilizada para iniciar uma nova fermentação ou descartada, conforme necessário (Figura 3A) (Kim et al., 2023).

Figura 3: Esquema representativo do processo de produção laboratorial da kombucha.



Fonte: Autora, 2025

Ao findar a primeira fermentação, as películas de celulose são retiradas e reservadas em uma porção do líquido fermentado, futuramente utilizada como inóculo para fermentação. A segunda fermentação poderá ser opcional. Nesta fase acontece a flavorização com diferentes sabores a critério do produtor podendo ser envasado a bebida somente com a primeira fermentação utilizando recipientes hermeticamente fechados. O período da segunda fermentação pode variar 24 a 72 horas além de flavorizadas interfere na carbonatação (Greenwalt et al., 2000; Bishop et al., 2024). Uma alternativa à segunda fermentação é a carbonatação artificial ou forçada, autorizada pela legislação brasileira pela portaria 41/2019 (Figura 3B). Essa técnica simplifica o processo, reduzindo os riscos associados, como a possibilidade de explosão das garrafas ou a produção de níveis elevados de etanol (Brasil, 2019).

Alternativa e comumente, se faz a adição de flavorizantes naturais ou sintéticos em pequenas quantidades, a fim de aprimorar características gustativas, olfativas e sensoriais (Crum, Lagory & Katz, 2016; Dada et al., 2021; Kim et al.,

2023). A kombucha também pode ser flavorizada através da adição de chás, sucos, frutas frescas ou essências, conferindo e incorporando novos sabores e potencializando suas propriedades funcionais, nos quais auxiliaram na regionalização e popularização da bebida (Batista et al., 2024).

2.2.1 Legislação brasileira para fabricação comercial de kombucha alcoólica e não-alcoólica

A produção e comercialização da kombucha no Brasil são regidas por um conjunto de normas que asseguram a qualidade, a segurança sanitária e a padronização do produto. O Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), por meio da Instrução Normativa nº 41/2019, define o Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) da bebida, especificando os ingredientes obrigatórios, as condições de fermentação, os parâmetros físico-químicos (como pH, acidez e teor alcoólico) e as exigências de rotulagem (Brasil, 2019; Barbosa et al., 2021; Batista et al., 2021).

Os parâmetros de qualidade definidos pela normativa são exclusivamente aplicados às kombuchas industrializadas e comercializadas, que devem passar por processos tecnológicos adequados para consumo (Tabela 2). A produção ocorre por meio da respiração aeróbica e da fermentação anaeróbica de um mosto ou cultura starter, obtido a partir da infusão ou do extrato de *Camellia sinensis* e açúcares, fermentados por uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras (SCOBY) (Brasil, 2019).

Tabela 2: Parâmetros analíticos da kombucha

Parâmetro	Mínimo	Máximo
pH	2,5	4,2
Graduação alcoólica (% v/v) kombucha sem álcool	-	0,5
Graduação alcoólica (% v/v) kombucha com álcool	0,6	8,0
Acidez volátil (mEq/L)	30	130
Pressão (atm a 20°) na kombucha adicionada CO ₂	1,1	3,9
<i>Coliformes</i> a 35 C°/ mL		Ausente
<i>Salmonella sp</i> / 25 mL		Ausente

Fonte: Brasil (2001, p.3-4; 2019, p.13).

Complementarmente, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece regulamentações específicas para os componentes utilizados no

processo produtivo, incluindo açúcares, aditivos, corantes, aromatizantes, frutas, vegetais e especiarias. Essas normativas asseguram que todos os insumos empregados sejam compatíveis com o consumo humano, respeitando limites e padrões microbiológicos e químicos definidos em legislação vigente (Brasil, 2001, 2003 & 2005).

A Tabela 3 apresenta as descrições das principais legislações aplicáveis à elaboração e ao controle de qualidade da kombucha no Brasil, destacando as disposições legais que orientam o uso de ingredientes, aditivos e processos tecnológicos permitidos. Essa compilação evidencia a integração entre as normas do MAPA e da ANVISA para garantir a conformidade legal e a inocuidade do produto, assegurando padronização industrial e proteção à saúde do consumidor (Brasil, 2019).

Tabela 3: Legislação aplicável à elaboração e controle de qualidade da kombucha no Brasil

Legislação	Órgão Emissor	Definições	Uso na produção de kombucha
Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001	ANVISA	Define os padrões microbiológicos para alimentos	Estabelecer os Padrões Microbiológicos Sanitários para Alimentos especificados
Resolução RDC nº 267, de 25 de setembro de 2003	ANVISA	Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Industrializadores de Gelados Comestíveis e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Industrializadores de Gelados Comestíveis.	Estabelecer procedimentos de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos industrializadores de gelados comestíveis a fim de garantir as condições higiênico-sanitárias do produto.

Resolução RDC nº 271, de 22 de setembro de 2005	ANVISA	Regulamenta tecnicamente o uso de açúcares e produtos para adoçar.	Fixar a identidade e as características mínimas de qualidade a que devem obedecer os Açúcares e Produtos para Adoçar.
Resolução RDC nº 276, de 22 de setembro de 2005	ANVISA	Dispõe sobre especiarias, temperos e molhos e Fixar a identidade e as características mínimas de qualidade.	Regulamento técnico sobre especiarias, temperos e molhos, define temperos como os produtos obtidos da mistura de especiarias e de outros ingredientes, fermentados ou não, empregados para agregar sabor ou aroma aos alimentos e bebidas.
Resolução RDC nº 286, de 25 de agosto de 2005	ANVISA	Dispõe sobre o uso de coadjuvantes de tecnologia de alimentos "bebidas alcoólicas".	Aprovar o uso de coadjuvantes de tecnologia para bebidas fermentadas e alcoólicas. Partes desta resolução foram subsequentemente revogadas ou alteradas por normas posteriores, como por exemplo pela Resolução ANVISA nº 40/2011, referente ao uso de tanino. Instrução normativa MAPA.
RDC nº 5, de 15 de janeiro de 2007	ANVISA	Regulamentação técnica sobre os Aditivos e seus limites máximos para a Categoria de Alimentos, Bebidas Não Alcoólicas, Subcategoria, Bebidas Não Alcoólicas Gaseificadas e Não Gaseificadas.	Considerando a necessidade de segurança de uso de aditivos alimentares na fabricação de alimentos. Considerando que é necessário atualizar a lista de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a Categoria de Alimentos
Resolução RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007	ANVISA	Dispõe sobre o regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes.	O regulamento técnico se aplica aos aditivos aromatizantes que são produzidos e comercializados nos territórios dos Estados Partes do MERCOSUL.
Resolução RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012	ANVISA	Dispõe sobre o regulamento técnico sobre a	O presente Regulamento Técnico se aplica à Informação Nutricional Complementar

		informação nutricional complementar	(INC) contida nos rótulos dos alimentos embalados produzidos e comercializados no território dos Estados Partes do MERCOSUL, ao comércio entre eles e às importações extrazona, embalados na ausência do cliente e prontos para oferta aos consumidores.
Resolução RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013	ANVISA	Dispõe sobre regulamento técnico Mercosul sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos.	Regulamento Técnico sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos, revogam-se os limites máximos de arsênio, cádmio, chumbo estanho e mercúrio.
Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017	Ministério da Saúde	Ato normativo do Ministério da Saúde que consolida diversas normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde (SUS). No anexo XX dispõe sobre procedimentos e padrões de potabilidade da água bem como seu transporte.	Estabelece os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.
Instrução Normativa nº 41, de 17 de setembro de 2019	MAPA	Estabelece o Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) da kombucha	Define os ingredientes obrigatórios e opcionais, parâmetros físico-químicos (pH, acidez, teor alcoólico), e condições de fermentação, envase e rotulagem. Autoriza processos como pasteurização, filtração e ultracentrifugação.

Fonte: Brasil (2001, 2003, 2005a, 2005b, 2005c, 2007a, 2007b, 2012, 2017, 2019).

A adição de qualquer ingrediente não permitido em legislação específica da ANVISA ou MAPA que possa ser utilizado para adulteração do produto, acréscimo de ácidos voláteis, sintéticos ou de fontes exógenas, não provenientes exclusivamente do processo fermentativo dos insumos e substratos. Utilização de recipientes e embalagens tipo conta-gotas, spray, ampolas, ou outros similares ao uso farmacêutico, medicamentoso ou terapêutico (Brasil, 2001, 2005, 2007 & 2019).

As evoluções para a uniformização da produção têm sido contínuas, estabelecendo diretrizes mais claras e específicas para kombucha no Brasil, incluindo discussões referentes à rotulagem, teor alcoólico, segurança alimentar e boas práticas de fabricação. O aumento de consumidores gera maiores esforços e atenção para desenvolver regulamentações mais abrangentes e específicas para garantir a qualidade e segurança alimentar (Brasil, 2019).

2.3 FATORES QUE INFLUENCIAM NO PROCESSO PRODUTIVO E FERMENTATIVO

Alguns fatores podem interferir no processo fermentativo e na qualidade do produto. A fim de homogeneizar o processo, a Instrução normativa 41 do MAPA estabeleceu diretrizes para auxiliar na qualidade de produção para fabricantes como temperatura, pH, transferência de oxigênio e composição das folhagens do chá de *Camellia sinensis*. Contudo, tempo de fermentação e design dos reatores também podem ter influência direta sobre a qualidade do produto, refletindo nas características sensoriais, nutricionais, físico-químicas e na atividade antioxidante (Jayabalan et al., 2014; Villarreal-Soto et al., 2018).

Embora a *Camellia sinensis* seja a principal matéria prima para fermentações de kombuchas, há tentativas descritas na literatura para diversificar os sabores da bebida por meio do uso de outros ingredientes, como sucos de romã, cereja, maçã, mamão, uva, jabuticaba, açaí, além de infusões de crisântemo, madressilva e hortelã. Entretanto, de acordo com o MAPA essas variações não podem ser oficialmente consideradas como kombucha, sendo definidas apenas como bebidas fermentadas (Greenwalt et al., 1998; Akbarirad et al., 2017; De Phillipis et al., 2018; Villarreal-Soto et al., 2018; Brasil, 2019; Wang et al., 2021; Sharifudin et al., 2021).

De acordo com a literatura há diversas formas de fermentações das kombuchas, dentre essas formas existem as convencionais que utiliza a sacarose é a principal fonte de energia na oxidação, e outras formas que utilizam frutose e lactose que conferem diferentes concentrações de ácido láctico, ácido acético e etanol, variando os valores de pH na faixa de 3,8 a 5,6 contudo a legislação brasileira descreve como aceitável 2,5 a 4,2 para comercialização, sendo estes parâmetros microbiológicos importantes para a produção de bioativos (Brasil, 2019). O tempo pode variar de 07 a 14 dias e está diretamente relacionado à acidez conferida a bebida, concentrações de etanol, ácido orgânicos, polifenóis, bioativos e características sensoriais almeçadas para o produto (Bishop et al., 2023).

Outro parâmetro importante para a produção de uma boa bebida são os parâmetros químicos, a carbonatação e quantidade de oxigênio no líquido pode afetar a atividade das bactérias ácido-acéticas aeróbicas, responsáveis pela conversão de monossacarídeos e etanol em ácidos orgânicos. Dessa forma, a taxa de oxigenação do meio de cultura regula tanto a atuação dessas bactérias quanto às características sensoriais da fermentação (Villarreal-Soto et al., 2018).

Parâmetros físicos como temperatura, tamanho e formato do material dos recipientes de armazenamento o líquido, a geometria impacta diretamente na transferência de oxigênio e nos compostos que serão produzidos, quanto mais alto o recipiente mais etanólico o produto será, os mais baixos favorece a produção de ácidos acético e característica ácida da bebida (Villarreal-Soto et al., 2019).

A temperatura é uma variável importante para a otimização da produção auxiliando no crescimento microbiano e na atividade biocatalítica das enzimas, favorecendo o metabolismo e produção de ácidos glucônico e glicurônico, sintetizando metabólitos e vitamina C (De Filippis et al., 2018).

A alternância na temperatura durante a fermentação o cooperativismo simbiótico dos microrganismos presentes na cultura starter da kombucha, resultam em um produto com características sensoriais e bioquímicas muito variáveis entre diferentes e sucessivos lotes, o que dificulta a padronização do processo biotecnológico de obtenção da kombucha de qualidade padronizada (De Filippis et al., 2018; Bishop et al., 2023).

2.3.1 Materiais

A produção de kombucha tem várias peculiaridades dentre elas a escolha dos materiais, recipientes e aditivos, estes são cuidadosamente selecionados para fornecer o ambiente propício ao metabolismo da cultura simbiótica microbiana do *SCOBY* para favorecer o processo fermentativo e a formação de compostos bioativos com potencial especial e antioxidante desejado (Villarreal-Soto et al., 2019).

Dentre os componentes da kombucha, a água representa o maior volume no preparo da kombucha e deve ser potável, isenta de cloro livre e metais pesados como arsênio, cádmio, chumbo estanho e mercúrio. A qualidade e pureza influencia diretamente a atividade microbiológica e o desenvolvimento do *SCOBY* no processo fermentativo (Brasil, 2022).

Para fabricação são utilizados frascos de vidro se tratando de fermentação artesanal, e recipientes de aço inox em produções industriais, esses materiais apresentam estrutura quimicamente inertes e não interferem na composição da bebida. O recipiente deve permitir aeração adequada e ser coberto com tecido poroso para evitar contaminações externas (Villarreal-Soto et al., 2019).

2.3.2 Parâmetros operacionais

As características sensoriais da kombucha é um dos fatores que associam a crescente popularidade da kombucha conferindo o perfil sensorial único, mas também aos seus potenciais propriedades funcionais e para fins especiais, atribuídas aos compostos bioativos gerados durante a fermentação (Crum et al., 2018).

Para assegurar a qualidade, segurança e eficácia funcional da kombucha, o controle dos parâmetros operacionais envolvidos na produção são fundamentais. Esses parâmetros são classificados em biológicos, físicos e químicos, e influenciam diretamente sobre o desenvolvimento microbiano, a velocidade do processo fermentativo e a composição final da bebida (Villarreal-Soto et al., 2019).

Os parâmetros biológicos dizem respeito à composição e atividade do consórcio microbiano presente no *SCOBY*, cuja diversidade e equilíbrio determinam os tipos e quantidades de metabólitos produzidos. Os parâmetros físicos, por sua vez, englobam fatores como temperatura, tempo de fermentação e exposição à luz, que modulam a atividade microbiana e a estabilidade do sistema. Já os parâmetros químicos incluem variáveis como pH, acidez titulável, teor alcoólico e composição de ácidos orgânicos, sendo essenciais para a segurança sanitária, padronização e funcionalidade da bebida (Jain & Sengpunta, 2018; Brasil, 2019; Tran et al., 2020).

O estudo integrado desses parâmetros operacionais é fundamental para o desenvolvimento de uma bebida de alta qualidade, com propriedades sensoriais e bioativas consistentes, atendendo às exigências do consumidor moderno e às regulamentações vigentes no setor de alimentos funcionais (Vila-Sotorreal, 2018).

2.3.3 Parâmetros físicos

Os parâmetros físicos envolvidos na produção de kombucha são fundamentais para garantir a qualidade sensorial, a segurança microbiológica e a estabilidade do produto. A temperatura é um fator crítico para o crescimento e atividade metabólica do consórcio microbiano presente no *SCOBY* (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*). A faixa ideal de fermentação situa-se entre 24 °C e 30 °C, sendo que temperaturas mais baixas reduzem a taxa de fermentação, enquanto temperaturas mais altas podem favorecer o crescimento de microrganismos indesejáveis e comprometer a viabilidade do *SCOBY* (Szczyrek, et al., 2019; Simões & Rodrigues, 2023).

O tempo de fermentação influencia diretamente o perfil organoléptico e a composição química da kombucha. Geralmente, o processo fermentativo ocorre entre 7 e 14 dias, podendo variar conforme as condições ambientais e o volume do lote. Períodos prolongados resultam em uma bebida mais ácida e com menor teor de carboidratos (Fillipis et al., 2018; Maia et al., 2020).

O pH é um importante parâmetro químico utilizado para o monitoramento contínuo e se aplica ao controle físico durante o processo produtivo da bebida. O pH da kombucha tende a diminuir com o tempo de fermentação, partindo de valores

próximos a 5,0 (início) e podendo atingir níveis entre 2,5 e 3,5 no produto. Este decréscimo é indicativo da produção de ácidos orgânicos e atua como barreira contra microrganismos patogênicos (Filippis et al., 2018).

A agitação não é comumente aplicada na fermentação tradicional da kombucha, uma vez que o processo ocorre em sistema estático. No entanto, é importante controlar distúrbios físicos no meio, pois movimentos excessivos podem afetar a formação do biofilme celulósico na superfície e, conseqüentemente, a eficiência do *SCOBY* (Villarreal-Soto, et al., 2018).

A fermentação deve ocorrer em ambiente protegido da luz direta, pois a radiação ultravioleta pode comprometer a viabilidade dos microrganismos. O sistema deve ser coberto com tecido poroso (ex.: gaze ou papel filtro) que permita trocas gasosas, mantendo a oxigenação aeróbia necessária para o metabolismo acético das bactérias (Greenwalt et al., 2000).

O tipo de recipiente interfere na taxa de fermentação e no crescimento do biofilme. Recipientes de vidro são os mais indicados, pois são inertes e evitam contaminações por metais pesados ou plásticos. O volume do lote deve considerar a proporção adequada de chá adoçado e cultura inicial, geralmente na proporção de 10% a 20% de *starter* (kombucha pronta ou vinagre) para acidificação inicial (Greenwalt et al., 2000).

Esses parâmetros devem ser monitorados e controlados para garantir um processo padronizado e um produto seguro, estável e de qualidade sensorial aceitável para o consumo humano (Batista et al., 2021).

2.3.4 Parâmetros químicos

Outro fator determinante para a eficiência do processo fermentativo e produtivo é a composição do *SCOBY*, por qual ocorre a fermentação que terá como produto a kombucha, os mecanismos fermentativos iniciam por meio da hidrólise da sacarose e posteriormente formação de metabólitos. Essa simbiose tem a capacidade de inibir o crescimento de bactérias contaminantes no produto (Villarreal-Soto et al., 2018).

Os microrganismos presentes no biofilme ficam dispersos no líquido e no SCOBY, havendo variabilidade da composição microbiológica devido diferentes fermentações, substratos e regiões geográficas que são produzidas (Barbosa et al., 2021; Bishop et al., 2023, Kim et al., 2023).

Alguns gêneros de microrganismos predominam e são comuns na maioria das culturas de kombucha, mesmo com a variação microbiológica. Técnicas de sequenciamento de análise de genes de RNA ribossômico, espectroscopia de massas, quimiometria e bioinformática têm sido utilizadas como ferramentas na identificação de microrganismos presentes na kombucha isolando os principais grupos microbianos presentes em diferentes amostras (Jansen et al., 2024; Wang et al., 2022).

De acordo com a literatura os gêneros de bactérias que predominam na kombucha são *Acetobacter*, *Komagataeibacter* e *Gluconacetobacter*, os quais possuem a capacidade de produzir celulose, que dará origem ao SCOBY (Villarreal-Soto et al., 2018). Em relação às leveduras, as predominantes são *Zygosaccharomyces*, *Dekkera/Brettanomyces* e *Saccharomyces*, conferindo o sabor e a característica que influi na composição química.

O cooperativismo advindo da simbiose entre bactérias e leveduras no processo fermentativo da kombucha é de suma importância, as leveduras têm a função de hidrolisar a sacarose em glicose e frutose (Jansen et al., 2014). Também são responsáveis pela conversão anaeróbia dos açúcares em etanol, posteriormente convertido em ácido acético, através de oxidação, pelas bactérias ácido acéticas (Zhu, et al., 2020).

A presença de ácido acético é acompanhada por outros metabólitos produzidos na fermentação, como ácido glucônico, ácido lático, ácido cítrico e glicerol conferindo o sabor acidificado da bebida (Kilmanoglu et al., 2024). Já as bactérias ácido acéticas são responsáveis pela produção da película celulósica e por metabolizar o álcool produzido em ácidos orgânicos (Xu et al., 2024).

As propriedades antioxidantes da kombucha estão relacionadas diretamente com a infusão do chá de *Camellia sinensis*, bem como a origem e qualidade das

folhas que serão infundidas, variando de região e marca comercial conferindo suas propriedades biológicas e *status* de bebida probiótica (Batista et al., 2020; Rodriguez- Castro et al., 2024).

Para otimizar os antioxidantes é necessário priorizar a qualidade dos constituintes químicos que estão associados a boas práticas de produção nos quais estão inclusos os bioprocessos fermentativos, matéria prima e cultura starter, de acordo com a instrução normativa 41 disposta na legislação brasileira (Brasil, 2019).

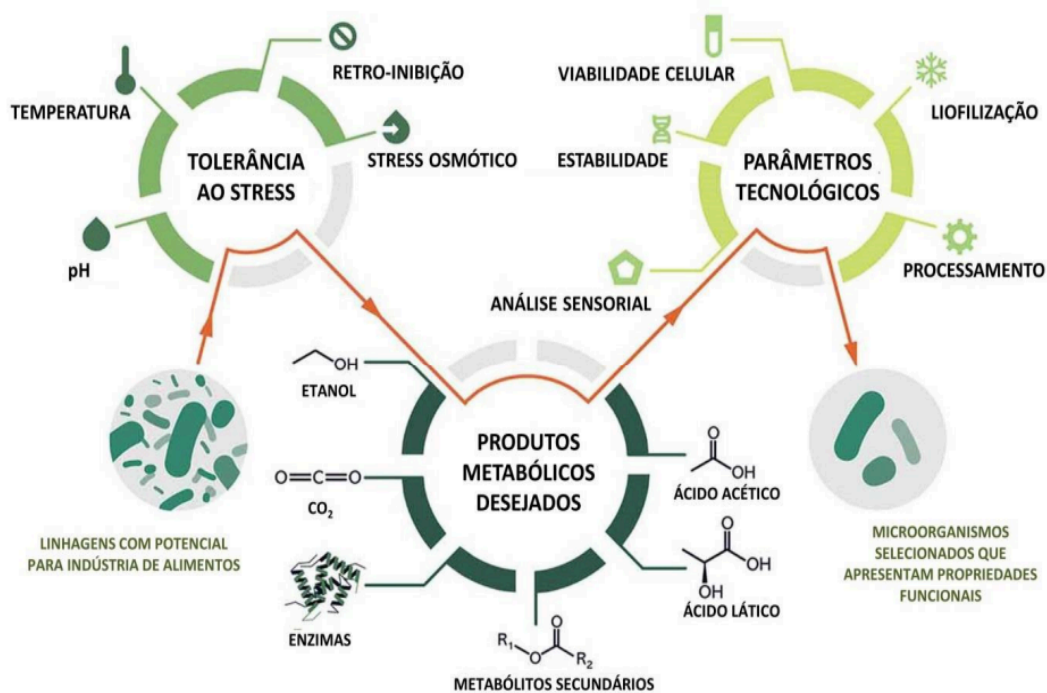
2.3.5 Parâmetros biológicos

Culturas starter são preparações que contêm microrganismos ativos ou latentes, puros ou combinados que desenvolvem acidificação, fermentação, atividades metabólicas desejadas assegurando ao produto confiabilidade em termos de saúde pública, em menor tempo de fermentação, obtendo-se um produto final de qualidade, com aroma, textura e sabor constantes (Pereira et al., 2019).

Apesar de o SCOBY ser largamente utilizado como cultura starter para produção de kombucha, sua aplicação na produção industrial não é adequada, visto que a composição microbiológica possui alta variabilidade nas fermentações (Xu et. al., 2024).

No contexto biotecnológico é necessário que haja padronização da cultura starter a partir de microrganismos descritos, no qual confere diferentes critérios de avaliação, como seleção de linhagens, metabólitos desejados, tolerância ao estresse e parâmetros tecnológicos (Figura 5) (Pereira et al., 2019; Brasil, 2019).

Figura 4: Representação esquemática sobre os critérios analisados para o desenvolvimento de uma cultura *starter* para a indústria de alimentos.



Fonte: Adaptado de Pereira et al., 2019.

Existem alguns critérios para seleção de culturas *starter*, inicialmente avaliar os metabólitos desejados para o produto e selecionar linhagens de microrganismos capazes de produzi-los, nos quais devem ser testados e aprovadas pelo *Generally Recognized as Safe* (GRAS) (Pereira et al., 2019; Kim et al., 2023). Essas linhagens devem conferir tolerância à glicose, ácido acético e etanol, ser capazes de oxidar etanol a ácido acético e produzir celulose (Fig. 5).

Além disso, microrganismos probióticos e/ou produtores de aromas seriam desejáveis, a fim de melhorar a qualidade do produto. Após seleção das linhagens é necessário avaliar a tolerância delas em relação a fatores de estresse, como pH, temperatura e retro-inibição. Se as linhagens foram resistentes a estes fatores, avaliam-se através de fermentações os metabólitos produzidos, com estudos que envolvem diferentes concentrações de inóculo. Ao final dos experimentos de otimização da fermentação pela cultura *starter*, são avaliadas a qualidade sensorial do produto e parâmetros tecnológicos de processamento, liofilização e estabilidade (Pereira et al., 2019).

2.4 ALIMENTOS PARA FINS ESPECIAIS E ANTIOXIDANTE DE FITOMARCADORES DA *CAMELIA SINENSIS*

A kombucha pode ser considerada uma bebida para fins especiais devido à presença de compostos bioativos originados da matéria-prima (chá e açúcar) e modificados pelo metabolismo microbiano durante a fermentação.

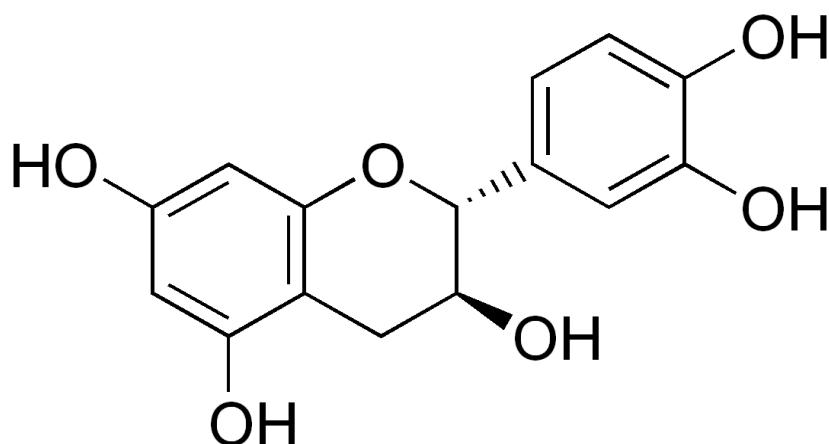
Os alimentos para fins especiais são funcionais com elevados teores nutritivos que agem benéficamente no metabolismo e fisiologia humana, principalmente pelas propriedades terapêuticas dos seus compostos bioativos (Machado et al., 2019; Alencar & Moraes, 2021). Embora a aplicação terapêutica de alimentos seja conhecida há milênios em culturas como chinesa, indiana, egípcia e grega, conteúdos os estudos foram intensificados formalmente na década de 80 no Japão, instituindo protocolos regulação para consumo (Valente et al., 2019; Pereira et al., 2020).

Esses compostos bioativos, também chamados de fitonutrientes, incluem isoflavonas, carotenoides, flavonoides e terpenos. São substâncias com atividades biológicas, presentes em vegetais e conhecidas por reduzir o estresse oxidativo e minimizar os efeitos dos radicais livres (Jia et al., 2019, Sobrinho et al., 2020; Prevedello et al., 2021).

Entre os alimentos funcionais ricos em fitonutrientes destaca-se o chá verde, obtido das folhas da planta *Camellia sinensis*. Dependendo do processamento das folhas a planta dá origem a diferentes tipos de chá, o chá verde folhas in natura infundida, o preto são folhas fermentadas, oolong fermentação parcial e outros fermentados (Muniandy et al., 2016; Coelho et al., 2020).

Os principais constituintes da *Camellia sinensis* são as catequinas, flavonoides com ampla distribuição em alimentos como cacau, uvas, maçãs e cebolas (Mahmoud et al., 2016; Jiang et al., 2019). As catequinas derivam de metabólitos secundários com ação terapêutica e potencial para desenvolvimento de novos princípios ativos, devido à sua estrutura química favorável a modificações moleculares que potencializam sua atividade biológica Fig. 6 (Zhou et al., 2018; Lopez et al., 2020).

Figura 5: Estrutura 2D da molécula de catequina



Fonte: PubChem, 2025.

Embora os efeitos benéficos da *Camellia sinensis* sejam estudados por diversos grupos de pesquisa, é importante destacar que o consumo de bebidas fermentadas em grande quantidade como a kombucha pode apresentar riscos. Estudos sinalizam a associação com aumento hepático e esplênico em modelos animais e potenciais efeitos adversos como necrose hepática, hepatotoxicidade leve e acidose metabólica quando consumida em excesso (Moreira et al., 2022; Sannapaneni et al., 2022). A maioria dos estudos disponíveis ainda apresentam resultados limitados, em experimentos *in silico*, *in vitro* e *in vivo*, requerem evidências clínicas robustas e claras (Morales, 2020).

A kombucha é comumente classificada como bebida probiótica constituída de microrganismos vivos, bactérias e leveduras fermentadoras que contribuem para melhoria do trânsito intestinal. Contudo, produtos com alegações funcionais devem indicar a porção dos alimentos utilizadas, tempo de uso e apresentar evidências científicas fundamentadas, conforme recomendações da Organização Mundial de Gastroenterologia (Guarner et al., 2017) e RDC 241/2018 da ANVISA (Brasil, 2019).

2.5 Determinação da atividade antioxidante

Os efeitos deletérios do oxigênio são conhecidos desde o século XIX, mas o reconhecimento do papel dos radicais livres em processos patológicos foi inicialmente pesquisado pelo médico americano Denham Harman, que propôs a teoria dos radicais livres e envelhecimento oxidativo. A partir da descoberta da enzima superóxido dismutase (SOD) em 1969, diversos estudos foram conduzidos para entender os efeitos dos radicais livres nas células biológicas (Araújo-Neto, 2020; Yang et al., 2022).

Durante o metabolismo celular, espécies reativas de oxigênio (EROs) como o radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$), o ânion superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) são geradas. Em condições fisiológicas, essas espécies têm funções reguladoras. No entanto, em excesso, desencadeiam estresse oxidativo, contribuindo para várias doenças. O organismo conta com sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos para neutralizar essas espécies (Silva, 2019; Zhou et al., 2020; Araujo Neto, 2020; Moreno et al., 2022).

Antioxidantes são compostos capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos. Sua ação é fundamental para prevenir ou minimizar danos celulares, sendo objeto de estudo nas ciências multidisciplinares como biológicas, agrárias, alimentos e farmacêuticas. A crescente demanda por alimentos com características funcionais impulsionou o desenvolvimento de metodologias para avaliação da atividade antioxidante (Yang et al., 2022).

Os benefícios variados atribuídos ao consumo de alimentos com constituintes antioxidantes, gerou inúmeras pesquisas para uma melhor compreensão de suas propriedades. Uma análise retrospectiva foi realizada por meio das publicações dos últimos dez anos na base de dados Science Direct 2015 a 2024, em que foram utilizados os seguintes descritores: atividades antioxidantes em alimentos, atividades antioxidantes em bebidas fermentadas, atividades antioxidantes em kombuchas. Foram identificados com o primeiro descritor 18182, o segundo descritor 2870 e o terceiro descritor 241.

Para identificação dos antioxidantes, algumas metodologias são empregadas nos quais incluem técnicas espectrofotométricas e eletroanalíticas (Rufino et al., 2006; Rufino et al., 2007; Lazarotto et al., 2020; Batista et al., 2021). As técnicas espectrofotométricas, apresentam limitações relacionadas à reprodutibilidade dos resultados e à falta de correlação entre diferentes sistemas de detecção, além do uso de grandes volumes de reagentes e etapas experimentais mais complexas (Moreno et al., 2022).

As técnicas eletroanalíticas surgem como alternativa promissora, possibilitando avaliação direta de compostos antioxidantes em matrizes complexas com maior sensibilidade, seletividade e reprodutibilidade (Gil et al., 2020; Thenevot, 2021; Fatibello-Filho et al., 2022). Entre essas técnicas, destacam-se as voltamétricas, amplamente utilizadas para análise de alimentos e bebidas (Macêdo et al., 2017; Silva-Neto et al., 2024).

Dessa forma, a análise da atividade antioxidante exige o uso de metodologias integradas que proporcionem uma avaliação abrangente, combinando sensibilidade, seletividade e viabilidade econômica (Enache et al., 2020; Gouveia et al., 2019).

2.5.1 Métodos espectroanalíticos e bioquímicos

A análise da atividade antioxidante é fundamental para a compreensão do papel dos antioxidantes na proteção contra danos oxidativos nos sistemas biológicos. Métodos espectroanalíticos e bioquímicos são os mais utilizados para avaliar essa atividade devido à sua precisão e capacidade de fornecer informações detalhadas sobre a natureza e a eficácia dos antioxidantes (Macedo et al., 2017; Enache et al., 2020).

A escolha do método de análise antioxidante é dependente da natureza da amostra, do tipo de antioxidante enzimático ou não-enzimático e do contexto da pesquisa. Idealmente uma combinação de métodos deve ser utilizada para obter uma avaliação abrangente da atividade antioxidante. A padronização dos métodos e a validação interlaboratorial são cruciais na reprodutibilidade e compatibilidade dos resultados (Brasil, 2017).

Estes métodos fornecem ferramentas essenciais para o estudo e desenvolvimento de novos antioxidantes, contribuindo para a promoção da saúde e

a prevenção de doenças associadas ao estresse oxidativo. Dos métodos citados a espectrofotometria UV-Vis é uma técnica comum na análise de antioxidantes, permitindo a medição da absorção de luz em diferentes comprimentos de onda (Thenevot et al., 2021). A intensidade da cor de uma solução é proporcional à concentração das moléculas absorventes de luz. Quanto mais concentrada for a solução, maior será a absorção de luz (Skoog et al., 2014; Nandiyanto, Yuliaty & Oktiani, 2023).

Os métodos UV-vis são classificados em ensaios baseados na transferência de átomos de hidrogênio (TAH) e em ensaios baseados na transferência de elétrons (TE). Nos ensaios TAH, ocorre uma reação competitiva onde o antioxidante e o substrato competem pelos radicais peroxila, gerados termicamente pela decomposição de compostos azo. Esses radicais têm a capacidade de remover um hidrogênio do substrato, iniciando a peroxidação lipídica. Quanto maior a concentração de compostos antioxidantes na amostra, maior será a inibição da peroxidação. Os ensaios mais comuns são ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), TRAP (Total Radical-trapping Antioxidant Parameter), TOSC (Total Oxidant Scavenging Capacity) e LDL Oxidation (Low Density Lipoprotein Oxidation) (APAK, et al., 2016).

Os ensaios TE mensuram a capacidade que um composto antioxidantes possui para reduzir um oxidante mudando a cor da espécie que foi reduzida, estando esta mudança de coloração diretamente relacionada com o grau de concentração de antioxidantes na amostra. Os ensaios baseados em TE incluem FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), FC (Folin-Ciocalteu Reducing Capacity), ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) radical cation) e [•]DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical) (Huang et al., 2005).

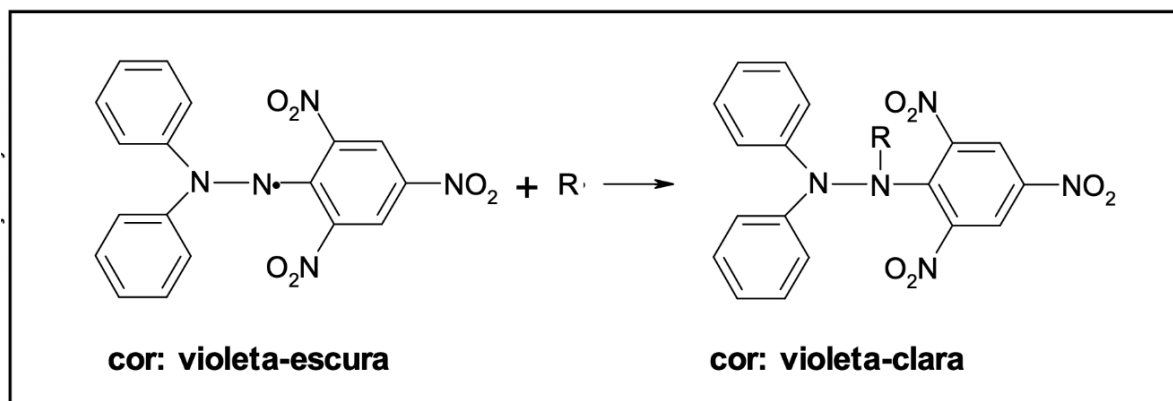
Os ensaios de ABTS e de [•]DPPH são classificados como TE, Esses radicais podem ser neutralizados por meio da análise da atividade antioxidante sendo uma técnica fundamental para a compreensão dos papéis dos antioxidantes na proteção contra danos oxidativos nos sistemas biológicos. (Macedo et al., 2017; Enache et al., 2020).

Nos métodos TAH, como *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORAC) e *Total Radical-trapping Antioxidant* (TRAP), há competição entre antioxidantes e

substratos pelos radicais peroxila. Os métodos TE, como DPPH[•], ABTS e FRAP, avaliam a capacidade dos antioxidantes em doar elétrons, o que provoca uma mudança mensurável de cor (Rufino et al., 2007; Sacramento et al., 2023).

O método DPPH[•] é amplamente utilizado por sua simplicidade e baixo custo. Baseia-se na redução do radical estável DPPH[•] por compostos antioxidantes, promovendo descoloração da solução. A absorvância é medida em 517 nm, e os resultados são expressos como IC₅₀ (Figura 7). No entanto, o método apresenta limitações, como interferência de cromóforos e sensibilidade a compostos de maior massa molecular (Oliveira, 2015; Silveira et al., 2018).

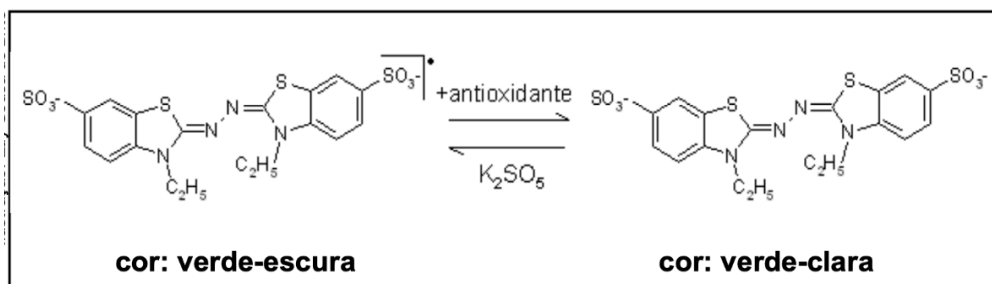
Figura 6: Estabilização do mecanismo de reação do radical livre DPPH[•] é um antioxidante através da transferência de um átomo de hidrogênio.



Fonte: Rufino et al. (2007, p. 2).

O método ABTS também se baseia na redução de radicais pelo antioxidante. É mais versátil por permitir análise em sistemas hidrofílicos e lipofílicos, além de ser aplicável em diferentes faixas de pH (Figura 8). Contudo, requer preparo prévio do radical e pode sofrer interferência de cromóforos (Rufino et al., 2007).

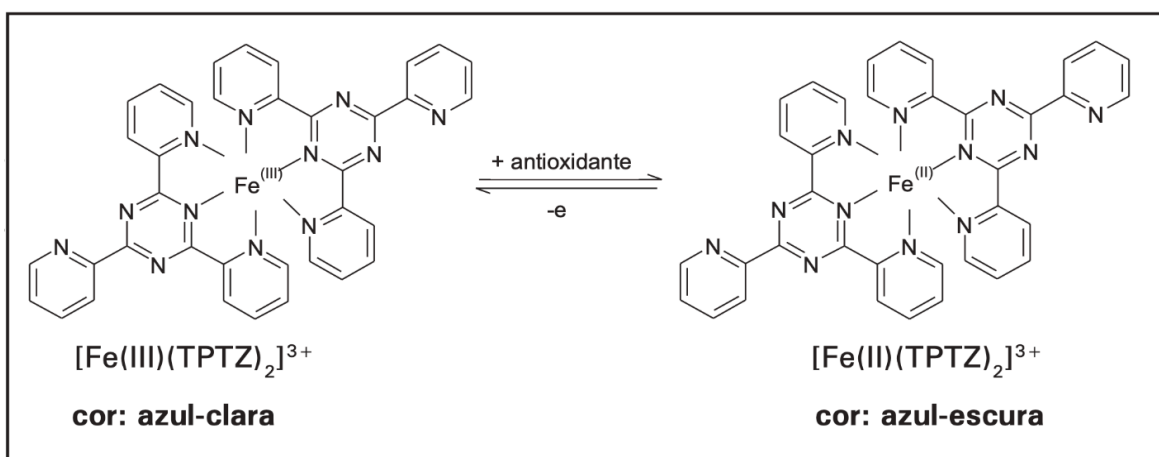
Figura 7: Estabilização do radical ABTS^{•+} por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio



Fonte: Rufino et al. (2007, p. 2).

O FRAP baseia-se na redução de íons férricos a ferrosos e é útil para compostos com ação redutora (Figura 9). É rápido e de baixo custo, porém não detecta antioxidantes que atuam via TAH e pode superestimar a atividade de redutores inespecíficos (Rufino et al., 2006).

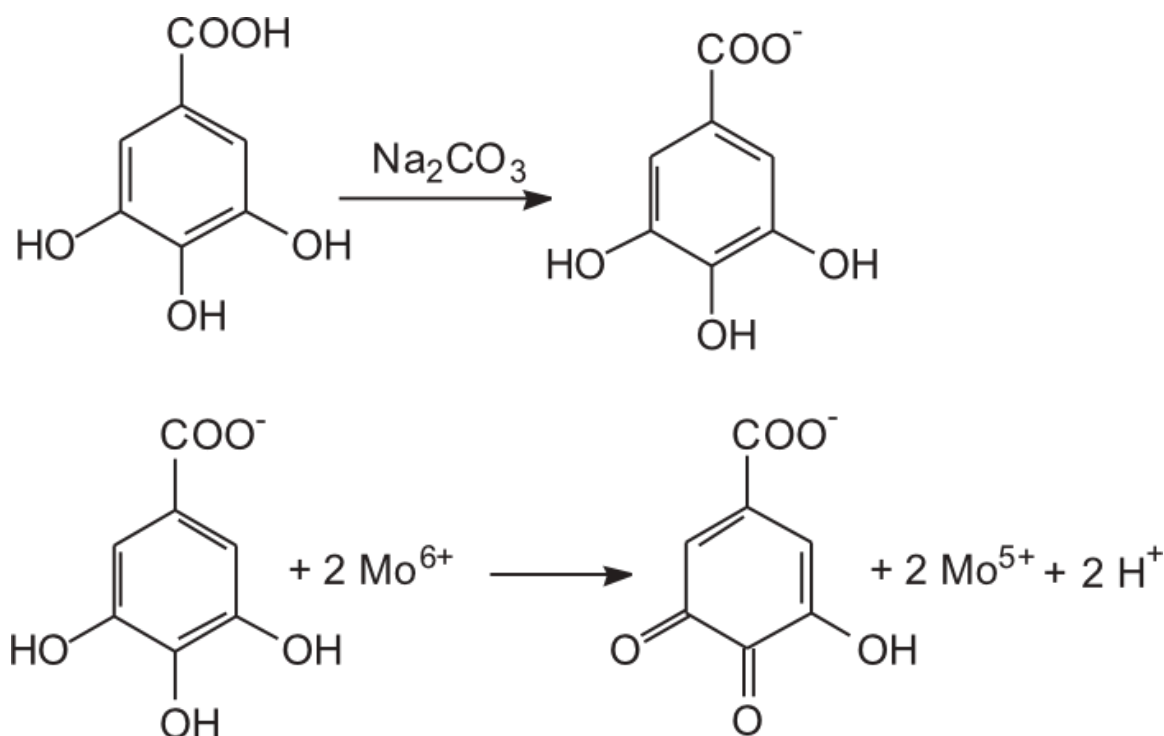
Figura 8: Redução do complexo TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina) com Fe^{3+}



Fonte: Rufino et al. (2006, p. 2).

O método Folin-Ciocalteu, utilizado para quantificação de compostos fenólicos totais, também se baseia na transferência de elétrons (Figura 10). É sensível e aplicável a diversas amostras, mas sofre interferência de substâncias não fenólicas e não é eficaz em matrizes lipofílicas (Lazzaroto et al., 2020).

Figura 9: Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de *Folin-Ciocalteu*.



Fonte: Oliveira et al. (2006, p. 697).

Métodos como Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e ensaios enzimáticos são utilizados para identificação e quantificação mais precisa de antioxidantes. A CLAE permite análise estrutural detalhada, enquanto os ensaios bioquímicos avaliam enzimas antioxidantes como SOD, CAT e GPx, além de testes de viabilidade celular e detecção de ERO's por sondas fluorescentes (Ali, 2022; Sacramento et al., 2023).

Esses métodos complementares possibilitam uma avaliação abrangente de atividade antioxidantes em alimentos e são escolhidos conforme os objetivos analíticos da pesquisa, tipo de amostra e disponibilidade de recursos laboratoriais.

2.5.2 Perfil e índice eletroquímico

As limitações dos métodos espectrofotométricos e bioquímicos têm impulsionado o desenvolvimento de abordagens eletroanalíticas como alternativa viável para avaliar a capacidade antioxidante de amostras e matrizes complexas.

Entre essas abordagens, as técnicas voltamétricas têm se destacado pela sensibilidade, rapidez, baixo custo e possibilidade de miniaturização (Hussain et al., 2016, Gil et al., 2020; Fatibello-Filho, 2021; Alizadeh et al., 2022).

As técnicas eletroanalíticas baseiam-se na medida de propriedades elétricas como corrente, potencial e carga em células eletroquímicas, utilizando geralmente três eletrodos: de trabalho, de referência e auxiliar. Entre os métodos eletroanalíticos disponíveis, a voltametria de pulso diferencial (VPD) destaca-se como mais utilizada para estudos de compostos antioxidantes naturais, permitindo a determinação de parâmetros como potencial de pico (E_{pa}) e corrente de pico (I_{pa}) (Enache et al., 2020; Gil et al., 2020; Fatibello-Filho, 2021).

A técnica pode ser aplicada de forma direta, quando se avalia o comportamento eletroquímico do antioxidante, ou indireta, quando se observa a alteração no sinal eletroquímico de um agente oxidante em presença do antioxidante (Macêdo et al., 2017).

Os voltamogramas resultantes permitem inferir tanto a identidade dos compostos por E_{pa} , quanto sua concentração por I_{pa} . A relação entre esses parâmetros é utilizada no cálculo do índice eletroquímico (IE), que combina informações cinéticas e termodinâmicas. Em geral, um E_{pa} mais próximo de zero indica maior capacidade de doação de elétrons e, portanto, maior atividade antioxidante (Moreno et al., 2022).

Para avaliação antioxidante das matrizes de interesse o uso do índice eletroquímico (EI) é muito utilizado como descrito na literatura, esta técnica leva em consideração os principais parâmetros voltamétricos, como potencial de pico anódico (E_{pa}) e corrente de pico anódica (I_{pa}) (Moreno et al., 2022).

$$EI = \sum_{i=1}^n \frac{I_{pan}}{E_{pan}} \quad (1)$$

Onde em um voltamograma com n picos, I_{pan} e E_{pan} são a corrente e o potencial do pico n , respectivamente.

Além disso, a escolha adequada do eletrodo de trabalho é fundamental, pois influencia a sensibilidade, seletividade e reprodutibilidade da análise. Eletrodos de carbono, como os de pasta de grafite, são comumente utilizados em análises de matrizes complexas por apresentarem ampla janela de potencial, baixo custo e facilidade de modificação da superfície de trabalho (Fatibello-Filho, 2022).

Dessa forma, as técnicas voltamétricas configuram-se como ferramentas viáveis na caracterização da capacidade antioxidante total, especialmente quando associadas ao uso de biossensores, que ampliam ainda mais sua aplicabilidade e sensibilidade.

2.5.3 Biossensores para análises de antioxidantes e determinação de polifenóis totais

Biossensores são dispositivos analíticos integrados compostos por elementos biológicos como enzimas, anticorpos ou células para reconhecer compostos-alvo, convertendo o reconhecimento em um sinal analítico mensurável, os mais comuns são elétricos, ópticos, térmicos e piezoelétricos (IUPAC, 1992; Thevenot et al., 2001; Magro et al., 2020).

A construção de um biossensor envolve etapas fundamentais como a escolha do material de suporte, a técnica de imobilização de biomoléculas e definição do transdutor. Métodos de imobilização como adsorção física, ligação covalente, oclusão e afinidade são aplicados conforme o tipo de enzima e a matriz de análise (Zhang et al., 2019). A imobilização eficiente mantém a integridade e funcionalidade da enzima, conferindo estabilidade, sensibilidade e reprodutibilidade ao sensor (Hussain et al., 2016; Thenevot et al., 2020; Batista et al., 2021).

Na análise de matrizes antioxidantes e fenólicos os biossensores destacam-se por sua especificidade, portabilidade, rapidez e baixo custo, uma alternativa promissora às técnicas convencionais e onerosas. A resposta analítica é dependente da eficiência do elemento de reconhecimento biológico e da transdução do sinal, sendo as enzimas polifenoloxidasas utilizadas pela sua afinidade com compostos fenólicos (Leonardis et al., 2015).

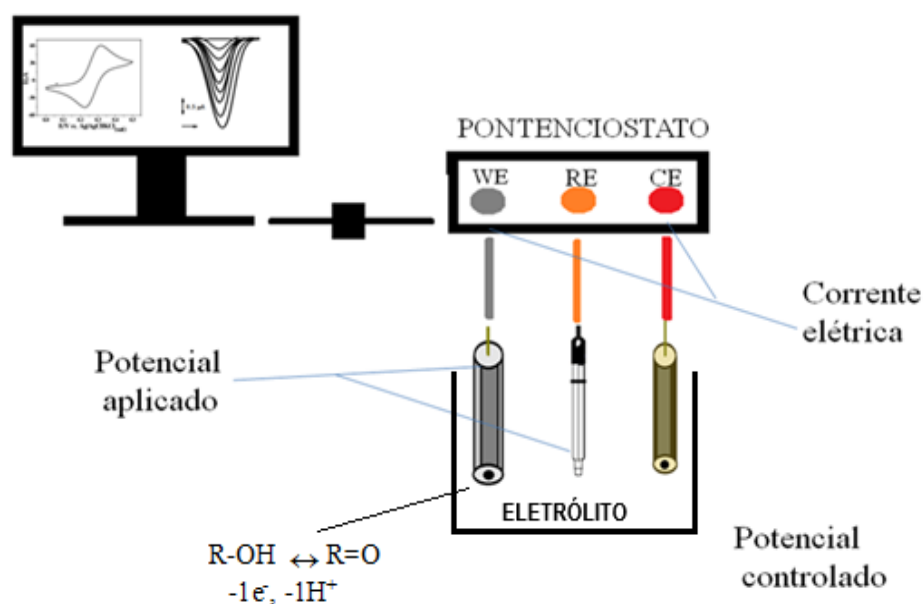
Biossensores podem ser reutilizáveis, miniaturizados, portáteis e integráveis a dispositivos móveis, características que os tornam atrativos para aplicações em alimentos, saúde, meio ambiente e farmacologia. Além disso, técnicas voltamétricas aplicadas em biossensores permitem análise direta de amostras complexas com rápida resposta e baixo consumo de reagentes (Figura 9) (Hervás Péres et al., 2006; Sethuraman et al., 2016).

Polifenoloxidasas (PFOs), são enzimas aplicadas em biossensores para detecção de fenóis e flavonoides devido sua fácil disponibilidade na natureza. Apresentam afinidade natural por compostos fenólicos, promovendo reações redox mensuráveis eletroquimicamente. O uso de extratos brutos contendo PFOs são comumente utilizados devido à facilidade de preparo e baixo custo, com boa estabilidade analítica (López-Orenes et al., 2018; Senthivelan et al., 2019).

A atividade catalítica das enzimas são parâmetros cinéticos relevantes para a resposta analítica do biossensor, parâmetros como K_m , K_{cat} e V_{max} estão relacionados à afinidade e eficiência da interação enzima-substrato. A modelagem e otimização desses parâmetros são cruciais para o desenvolvimento de sensores com alta performance (Martins, 2015; Maleki, 2017).

Alguns fatores podem afetar o desempenho dos biossensores enzimáticos como pH diferente do ideal para o desempenho catalítico da enzima, altas temperaturas, umidade, luminosidade, além das propriedades físico-químicas do eletrodo e do meio reacional (Figura 11). Nesse aspecto é essencial a padronização das condições ideais previamente estabelecidas, de acordo com os critérios da RDC nº 166/2017, garantindo robustez, seletividade e precisão (Brasil, 2017; Bollella et al., 2018).

Figura 10: Sistema de detecção eletroquímica e marcadores fenólicos, Work electrode (WE), Reference electrode (RE), Control electrode (CE).



Fonte: Autora, 2025.

Assim, os biossensores voltamétricos enzimáticos representam uma abordagem eficaz, seletiva e econômica para a detecção de antioxidantes e polifenóis em matrizes alimentares e biológicas, com potencial de aplicação crescente em pesquisas e monitoramentos de rotina.

2.5.4 Biossensor enzimático da *Cordia superba* na detecção de compostos

A planta conhecida popularmente como *Cordia superba* da família *Boraginaceae* apresenta diversos constituintes fitoquímicos de interesse, o que a torna relevante em estudos de farmacognosia e fitoquímica. As espécies do gênero *Cordia* produzem metabólitos secundários como flavonoides, taninos, terpenoides, esteroides e compostos fenólicos. No caso específico de *C. superba*, foram relatados compostos como quercetina-3-O- β -D-glicosídeo, quercetina-3-O- β -(6"-E-p-coumaroil- β -D-glicosídeo), ácido 4-metoxiprotocatequínico, methyl caffeate e esteróis como β -sitosterol e stigmasterol.

O desenvolvimento de um biossensor enzimático utilizando extrato bruto de *Cordia superba* visou avaliar sua eficiência na detecção de compostos fenólicos em

diferentes amostras de kombucha. A espécie apresenta alta atividade enzimática associada à presença de polifenoloxidasas, tornando-se uma alternativa viável e econômica para construção de sensores eletroquímicos (Antunes et al., 2018; Batista et al., 2020).

A obtenção da enzima foi realizada por meio de extrato aquoso como fonte enzimática para imobilização direta no eletrodo de carbono, formando uma interface sensível às variações na concentração de fenóis no meio reacional. O biossensor desenvolvido foi otimizado baseado nos parâmetros da RDC 166/2017, incluindo faixa de pH ótimo, tempo de resposta, reuso e estabilidade (Brasil, 2017).

Os sinais eletroquímicos obtidos por voltametria de pulso diferencial (VPD) evidenciaram perfis eletroanalíticas visíveis e definidos de corrente para os padrões de compostos fenólicos testados. A resposta analítica apresentou boa reprodutibilidade, seletividade e linearidade confirmando a viabilidade do biossensor para quantificação de antioxidantes fenólicos (Macedo et al., 2017).

A atuação do biossensor baseia-se na interação do composto fenólico com a enzima imobilizada, resultando em reações redox cuja intensidade de corrente gerada é proporcional à concentração do analito. Este tipo de abordagem permite a obtenção de parâmetros voltamétricos como potencial de pico (*E_{pa}*) e corrente de pico (*I_{pa}*), os quais subsidiam a construção do Índice Eletroquímico (IE), utilizado como métrica da capacidade antioxidante (Gil & Couto, 2016).

Portanto, o biossensor de *Cordia superba* demonstrou desempenho satisfatório na detecção de compostos fenólicos, representando uma ferramenta promissora para aplicações em alimentos funcionais e estudos bioanalíticos com base em antioxidantes naturais.

O crescimento expressivo do consumo de alimentos funcionais e a demanda por evidências analíticas que corroboram e ratificam a alegação dos benefícios à saúde, faz necessário o aprofundamento de pesquisas que propõem abordagens fundamentadas em métodos espectrofotométrico e eletroanalíticas para identificação e quantificação de marcadores fenólicos presentes na bebida.

O avanço do conhecimento na área de alimentos funcionais e biossensores eletroquímicos, fornecem subsídios e fundamentação científicas que reforçam a segurança, a qualidade e a eficácia funcional da kombucha, além de auxiliar na validação de suas propriedades bioativas frente ao consumo humano.

O objetivo do trabalho é utilizar diferentes técnicas eletroanalíticas de voltametria de pulso diferencial para identificar bioativos em bebidas fermentadas através de diferentes formas de fermentação para avaliar a atividade antioxidante de kombuchas.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar a atividade antioxidantes de kombuchas fermentadas em ambientes controlados e comerciais para identificar e quantificar seus principais bioativos por meio da eletroanálise.
- ✓ Produzir enzimas vegetais por meio do extrato obtido de diferentes componentes vegetais, folhas, frutos e galhos em soluções de fosfato de sódio para identificar melhor atividade enzimática.
- ✓ Preparar biossensores com pasta de carbono e as enzimas obtidas com melhores respostas e testar em soluções padrões fenólicos.
- ✓ Avaliar o biossensor desenvolvido em amostras de kombuchas através de diferentes culturas simbióticas de diferentes origens e localidades.
- ✓ Avaliar atividade antioxidante de 18 diferentes kombuchas por meio das técnicas eletroanalíticas Voltametria de pulso diferencial (VPD) e Onda quadrada.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Substâncias e reagentes

Os kombuchas comerciais, todos saborizados, foram adquiridos em lojas locais em Goiânia e Anápolis, Goiás, Brasil (Tabela 1, amostras A a F). Os kombuchas feitos em laboratório foram preparados com SCOBYs de diferentes países (Tabela 1, amostras G a R) (Tabela 4). Os SCOBYs relacionados às amostras, P e Q, foram preparados após fermentações secundárias na presença de hibisco e café, respectivamente.

Tabela 4. Comercial (®) e realizados em laboratório (□) Amostras de kombucha

Sample	®	□	SCOBY Procedence	Fermentation time	Added Flavoring	SCOBY additives
A	*		China	14 days	Maracujá	-
B	*		China	14 days	Baunilha	-
C	*		China	14 days	Cajuína	-
D	*		China	14 days	Hibisco 1	-
E	*		China	14 days	Limão siciliano	-
F	*		China	14 days	Goiaba	-
G		*	Alemanha	14 days	-	-
H		*	China	14 days	-	-
I		*	USA	14 days	-	-
J		*	Qatar	14 days	-	-
K		*	China	14 days	-	Jum*
L		*	Canadá	14 days	-	-
M		*	Japão	14 days	Kombu**	-
N		*	Islândia	14 days	Chá Oolong	-
O		*	Austrália	14 days	-	-
P		*	China	14 days	-	Hibisco
Q		*	China	14 days	-	-
R		*	Índia	14 days	-	Café

* Mel substituindo o açúcar; ** Alga marinha salgada

O acetato de sódio tri-hidratado, acetona, ácido acético glacial, ácido clorídrico, água destilada da Sigma, metanol, cloreto férrico hexa-hidratado, sulfato ferroso hepta-hidratado e 2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ), Difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), ácido gálico, ácido cafeico, catequina, catecol, ácido gálico, epicatequina, rutina, Folin-Ciocalteu. Todas as soluções foram preparadas

usando reagentes de grau analítico e água Milli-Q bidestilada (condutividade 0,1 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) e adquiridos da Sigma Chemical Co, (St. Louis, MO, EUA). O pó de grafite e o óleo mineral para pasta de carbono foram obtidos da Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA (Antunes et al., 2018).

4.1.2 Equipamentos e utensílios diversos

- Becker de 50 mL
- Eppendorf
- Pipetador de 100 μL e 1000 μL
- Ponteira do pipetador
- Carbono grafite
- Óleo mineral
- Vidro relógio
- Espátula
- Eletrodo de trabalho
- Eletrodo de referência
- Contra-eletrodo
- Célula eletroquímica
- Potenciostato/Galvanostato
- Computador e seus anexos
- Banho de ultrassom.

4.1.3 Material vegetal e preparação do extrato vegetal bruto

O material vegetal de *Cordia superba* (CS) foi coletado de uma única planta localizada em Goiânia, Brasil, em fevereiro de 2022. Folhas, frutos verdes, maduros e galhos foram lavados com água destilada, acondicionados em sacos de polietileno e armazenados até a análise. Para obtenção do extrato bruto, foi preparada uma solução com 2 g de folhas, 2 g de folhas verdes ou 2 g de frutos maduros, macerados em almofariz e adicionados a 10 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS), pH 7,0, por 10 min. Para obtenção do extrato bruto dos ramos foram pesados 2 g com tamanhos de aproximadamente 5 cm e foi adicionada solução de PBS por 10 min. A solução foi homogeneizada e filtrada em papel de filtro, resultando no extrato bruto de *Cordia superba*.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Método de preparação de kombucha

A preparação do kombucha foi baseada na metodologia proposta por Greenwalt, et al., (2000). Resumidamente, as folhas de chá verde foram infundidas com água quente com 20% de sacarose isenta de dióxido de carbono; o chá resultante foi resfriado à temperatura ambiente, transferido para um recipiente esterilizado com gaze e finalmente fermentado com SCOBY por 7 a 14 dias. Para reduzir o risco de contaminação por microrganismos patogênicos e deteriorantes, medidas sanitárias foram adotadas, assim o caldo de cultura previamente fermentado foi acidificado e mantido em estufa à temperatura ambiente. Após quatro a sete dias, um novo filme de SCOBY foi formado e a bebida resultante foi filtrada para remover os microrganismos suspensos (Brasil, 2019). (Citar a IN 41/2019 neste contexto? Sim ou não, provavelmente não).

Para fermentação secundária e adição de sabor, *SCOBY's* foram adicionados por 5 dias ao caldo de cultura previamente fermentado com *C. sinensis* com 20% do extrato aquoso da fruta ou especiaria aromatizante.

4.2.2 Determinação das atividades antioxidantes

A determinação espectrométrica da atividade antioxidante foi realizada em triplicatas por três métodos tradicionais, a saber, o *Reducing Antioxidant Power* (FRAP); o 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH); e os métodos padrão de Folin-Ciocalteu, de acordo com procedimentos estabelecidos (Lazzarotto, et al, 2020; Batista, et al, 2021; Couto, e Lima, 2022; Moreno, et al, 2022).

Os espectros de absorção foram registrados usando um espectrofotômetro Agilent 8453 UV-Vis com um detector de matriz de fotodiodos e software UV-Visible ChemStation (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, EUA).

4.2.3 Ensaio voltamétricos

Os ensaios eletroquímicos foram realizados com um potenciostato/galvanostato Autolab III[®] integrado ao software NOVA 2.1 (Metrohm). As medições foram feitas em uma célula eletroquímica de compartimento único de 5 mL com um sistema de 3 eletrodos, consistindo em um eletrodo de pasta de carbono

(CPE), um eletrodo 3 M Ag/AgCl/KCl_{sat} e um fio de platina (adquirido da Lab Solutions, São Paulo, Brasil), representando o eletrodo de trabalho, referência e auxiliar, respectivamente. As condições experimentais para voltametria de pulso diferencial (DPV) foram amplitude de pulso de 50 mV, largura de pulso de 0,5 s e a velocidade de varredura de 10 mV.s⁻¹.

As condições experimentais para voltametria de onda quadrada (SWV) foram amplitude de pulso de 50 mV com frequência de 50 Hz e aumento de potencial de 2 mV, correspondendo a velocidade de varredura de 100 mV.s⁻¹. As condições experimentais para voltametria cíclica (CV) foram a faixa de varredura de 0,0 a 1,0 V e velocidade de varredura de 100 mV.s⁻¹. Os voltamogramas DP foram corrigidos da linha de base e todos os dados foram analisados e processados no software Origin 9.0.

Todos os experimentos foram realizados em temperatura ambiente (21 ± 1 °C) em triplicata, e o eletrólito principal usado foi solução tampão fosfato 0,1 M (PBS) pH 7,0.

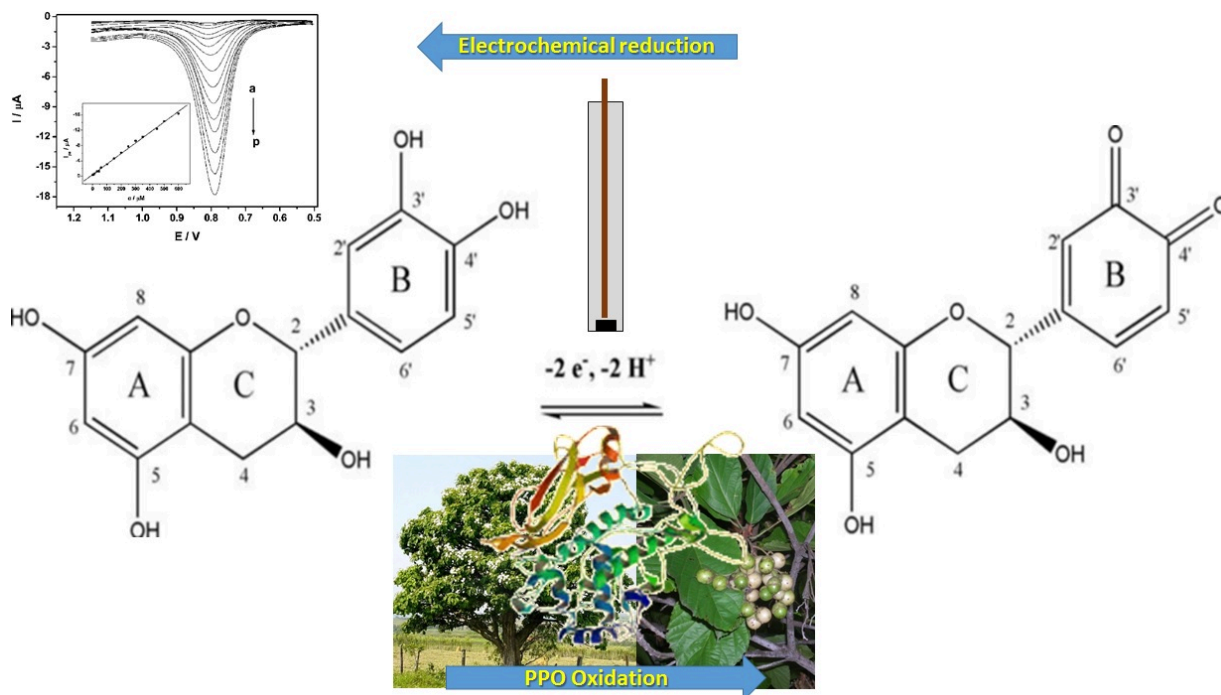
4.2.4 Preparação do biossensor, célula eletroquímica e parâmetros voltamétricos

O biossensor eletroquímico PPO-*Cordia superba* foi preparado de acordo com dados anteriores, com 70 mg de pó de grafite e 50 µL de extrato de *Cordia superba* (Batista et al., 2020). A mistura foi deixada secar à temperatura ambiente por aproximadamente 2 h (28 °C). Em seguida, 30 mg de óleo mineral foram adicionados para obter uma pasta homogênea. Uma quantidade da pasta aglutinada foi usada para preencher a cavidade com 2 mm de diâmetro e 0,5 mm de profundidade no porta-eletrodo, originando os biossensores eletroquímicos PPO baseados no extrato bruto de *Cordia superba*, CP50CS.

Todas as análises voltamétricas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato PGSTAT® modelo 204 integrado ao software NOVA2 1® (Metrohm Autolab, Utrecht, Holanda). Os experimentos foram realizados em uma célula eletroquímica (10 mL) com um sistema de três eletrodos consistindo em biossensor eletroquímico PPO, um fio de Pt e Ag/AgCl/KCl_{sat}, como eletrodo de

trabalho, auxiliar e de referência, respectivamente. A pasta de carbono foi renovada manualmente para cada experimento, a fim de garantir a eficácia e reprodutibilidade dos resultados (Figura 12).

Figura 11: Esquemática da preparação do biossensor de *Cordia superba*



Fonte: Autora, 2025.

Com base em resultados anteriores (Batista et al., 2021), o biossensor eletroquímico PPO foi condicionado antes do uso em tampão acetato (pH 5,0), onde usando voltametria cíclica, 10 varreduras sucessivas, 50 mV s^{-1} , foram realizadas, em uma faixa de potencial de 0,0 a 1,0 V. A técnica de voltametria de pulso diferencial (DPV) foi escolhida para realizar as análises de compostos fenólicos. As condições operacionais foram amplitude de pulso de 50 mV, largura de pulso de 0,5 segundos e taxa de varredura de 10 mV s^{-1} . Todos os experimentos eletroquímicos apresentados neste trabalho foram realizados em tampão acetato pH 5,0, em triplicata ($n = 3$) e à temperatura ambiente ($28 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$).

4.2.5 Análise Estatística

Os testes ANOVA e Tukey avaliaram diferenças significativas em dados analíticos entre amostras usando o software Origin 8.0.

Para testar a diferença entre os grupos analisados, foi realizada ANOVA unidirecional com nível de significância de 0,05 (H0/hipótese nula: a comparação de médias foi igual entre os grupos testados). Os dados analisados foram o sinal analítico do extrato enzimático de diferentes partes da planta de *Cordia superba* (CP/controle, fruto maduro, fruto verde, folhas e ramos), o sinal analítico dos marcadores fenólicos testados (ácido cafeico, catequina, catecol, ácido gálico, epicatequina e rutina) e o desempenho do sensor modificado (CP/controle, *M. colocasiae* e *C. superba*), os testes foram realizados no Matlab R2022a.

5.1 PUBLICAÇÕES

5.1.1 Artigo 1 – Electroanalytical enzyme biosensor based on *Cordia superba* enzyme extract for the detection of phytomarkers in kombuchas

Autores: Érica A. Batista ¹, Marx O. A. Pereira ¹, Isaac Y. L. Macedo¹, Fabio B. Machado¹, Emily K. G. Moreno¹, Elgia P. Diniz¹, Italo G. V. Frazão¹, Lorryne S. C. Bernardes¹, Severino C. B. Oliveira² and Eric S. Gil ¹

Revista: Biosensors MDPI

Situação: aceito

5.1.2 Artigo –Electrochemical alternative for evaluating the antioxidant capacity in kombuchas




Autores: Severino Carlos Bezerra de Oliveira^{1*}, Érica Aparecida Batista², Márcia Cristina da Silva Costa³, Ana Paula Montadon de Oliveira³, Isaac Yves Lopes de Macedo², Marx Osório Araújo Pereira², Elgia Procópio Diniz², Júlio Cesar Gonzaga da Silva², Henric Pietro Vicente Gil², and Eric de Souza Gil²

Revista: Beverages MDPI

Situação: Submetido

Communication

Electroanalytical Enzyme Biosensor Based on *Cordia superba* Enzyme Extract for the Detection of Phytomarkers in Kombucha

Erica A. Batista ¹, Marx O. A. Pereira ¹ , Isaac Y. L. Macêdo ¹ , Fabio B. Machado ¹, Emily K. G. Moreno ¹, Elgia P. Diniz ¹, Italo G. V. Frazzão ¹, Lorrayne S. C. Bernardes ¹, Severino C. B. Oliveira ² and Eric S. Gil ^{1,*} 

¹ Faculdade de Farmácia (FF), Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia 74605-170, Brazil

² Departamento de Química (DQ), Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife 52171-900, Brazil

* Correspondence: ericsgil@ufg.br

Abstract: Antioxidants are responsible for many beneficial health effects and are highly present in natural products, such as kombucha. Biosensors' development targeting antioxidants and phytomarkers are an active research field. This work aimed to propose a voltammetric polyphenoloxidase (*Cordia superba*) biosensor for catechin and total phenolic compounds quantification in kombucha samples. Optimizations were performed on the biosensor of *Cordia superba* to improve the accuracy and selectivity, such as enzyme–substrate interaction time, analytical responses for different patterns and signal differences with the carbon paste and modified carbon paste electrode. Kombucha probiotic drink samples were fermented for 7 to 14 days at a controlled temperature (28 ± 2 °C). A linear curve was made for catechin with a range of 10.00 to 60.00 μM , with a limit of detection of 0.13 μM and limit of quantification of 0.39 μM . The biosensor proposed in this work was efficient in determining the patterns of phenolic compounds in kombucha.

Keywords: polyphenoloxidase enzymes; kombucha; *Cordia superba*

1. Introduction

Electrochemical methods are the gold option for investigating redox systems, and biosensors can maximize their applications by combining highly selective biorecognition systems with very sensitive transducer materials. These biosensors have been explored in different areas, including health, environmental and quality control [1,2].

Different polyphenol oxidase (PPO) electrochemical biosensors have been proposed for the detection and quantification of numerous phenolic compounds in different matrices [3–6]. These biosensors have advantages such as stability, selectivity and sensitivity [3–6].

PPOs are enzymes with an active site of metallic copper and are coordinated with amino acids, histidine, cysteine and methionine; they are found in different parts of plants, bacteria, animals and fungi [3–6]. The molecular mass of PPOs depends on the source and these enzymes can be classified as tyrosinase (E.C.1.10.3.1), catechol oxidase (EC 1.10.3.1) and laccase (EC 1.10.3.2) [3–7]. PPOs catalyze the hydroxylation of a monophenol to a diphenol, following its oxidation to a quinone, by molecular oxygen [3–7].

Cordia superba (CS) is a Boraginaceae commonly known as aloe-white [8]. The family Boraginaceae is commonly found in tropical areas of Europe, Asia, Africa, Australia and the Americas. Species of *Cordia* are largely employed in folk medicine



Citation: Batista, E.A.; Pereira, M.O.A.; Macêdo, I.Y.L.; Machado, F.B.; Moreno, E.K.G.; Diniz, E.P.; Frazzão, I.G.V.; Bernardes, L.S.C.;

Oliveira, S.C.B.; Gil, E.S.

Electroanalytical Enzyme Biosensor Based on *Cordia superba* Enzyme Extract for the Detection of Phytomarkers in Kombucha.

Biosensors **2022**, *12*, 1112. <https://doi.org/10.3390/bios12121112>

Received: 9 November 2022

Accepted: 30 November 2022

Published: 1 December 2022

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



worldwide [9]. In the last decades, scientific studies of *Cordia* species have intensified, demonstrating the great interest in phytochemical, biological and pharmacological studies [10]. Additionally, the prospection of bioactive molecules of *Cordia* species is a promising source since the plant is characterized by easy obtainment and low cost [11,12].

Probiotic drinks have been gaining prominence around the world for their beneficial health effects. One example is the fermented drink kombucha based on green tea, which has, predominantly, flavonols and phenolic acids in its composition [12,13]. Such phytochemical compounds are recognized by antioxidant, antimutagenic and antimicrobial properties [3,12,13].

The total phenol determination can be achieved by spectrometric and electroanalytical methods, in which the differential pulse voltammetry (DPV) is highlighted to offer higher sensitivity, due to low capacitive current interferences. Moreover, the DPV pattern allows for underestimating the polyphenol profile, even in crude samples [3–7].

Thus, the main objective of this work was the development of a PPO electrochemical biosensor with carbon paste (CP) using the crude extract of *Cordia superba*. The experimental conditions for the preparation and applications of the proposed biosensor were optimized. The carbon paste biosensor with *Cordia superba* (CS) extract was then called CP50CS and applied for the detection and quantification of phenolic compounds in kombucha samples.

2. Materials and Methods

2.1 Chemicals and Reagents

Cammelia sinensis (tea plant), Symbiotic Cultures of Bacteria and Yeasts (SCOBYs) from German, American, Canadian and Jun SCOBY, and honey were obtained from local shops in Goiânia, Goiás, Brazil. All solutions were prepared using analytical grade reagents and double distilled Milli-Q water (conductivity 0.1 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) (Millipore S.A., Molsheim, France). Caffeic acid, catechin, catechol, gallic acid, epicatechin and rutin were purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). All solution standards were prepared with a concentration of 100 μM from the dilution of stock solutions (1 mM). The carbon paste was prepared using graphite powder and mineral oil, both from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

2.2 Plant Material and Preparation of the Raw Vegetable Extract

Cordia superba (CS) plant material was collected from a single plant located in Goiania, Brazil in February 2022. Leaves, unripe and ripe fruits and twigs were washed with distilled water, packed in polyethylene bags and stored until analysis. To obtain the crude extract, a solution was prepared with 2 g of leaves, 2 g of greens or 2 g of ripe fruits, macerated in a pestle mortar and added to 10 mL of phosphate buffer saline (PBS) solution, pH 7.0, for 10 min. To obtain the crude extract from the branches, 2 g was weighed with sizes of approximately 5 cm and PBS solution was added for 10 min. The solution was homogenized and filtered through filter paper, resulting in the crude extract of *Cordia superba*.

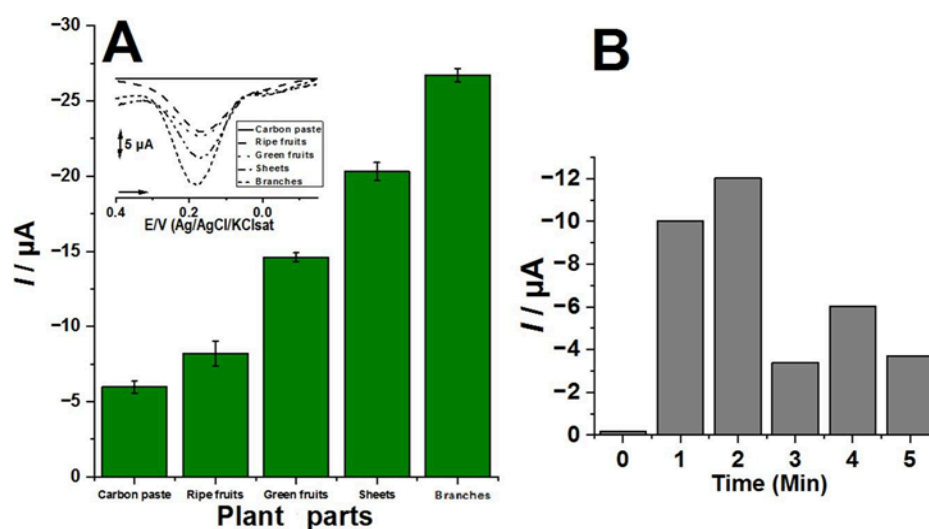


Figure 1. (A) Electrochemical CP50CS biosensors prepared from the crude extract obtained from different parts of *Cordia Superba* and their electrochemical responses vs. 10 μM catechin solution in acetate buffer pH 5.0. Insert: voltammograms of plant parts of *Cordia superba* (B) Different enzyme reaction times of the CP50CS biosensors in the 10 μM catechin, pH 5.0, before electrochemical analysis.

Statistical difference was observed between all tested groups in Figure 1, with a 0.05 significance level. The aliquot of plant material that presented the best results were the branches, thus being selected to analyze the enzymatic reaction times of the biosensor with the substrate, in order to promote biochemical oxidation and subsequently electrochemical reduction, as shown in Figure 1B.

Thus, the CP50CS electrochemical biosensor was optimized, having been prepared with the CS branch extract and an interaction time with the substrate of 2 min, as shown in Figure 1B. The interaction time of the sensor with the substrate is important as it establishes the time of action of PPO on the oxidation of catechol moiety by O_2 , as well as the response of the electroreduction of *o*-quinone [5,6].

The response of the CP50CS biosensor proposed in this work was also investigated for the detection of other phenolic compounds, caffeic acid, epicatechin, catechol, gallic acid and rutin, as shown in Figure 2. As expected, the prepared CP50CS sensors showed high cathodic currents for all chemical species investigated, between 2.5 and 25 μA. The highest sensitivity of the sensor was observed for gallic acid, rutin, epicatechin and catechol, respectively, as shown in Figure 2.

The chemical and physicochemical properties of the phenolic compounds investigated here such as solubility, aromaticity, reactivity, pK_a values, oxidation potentials and oxidation by-products, as expected, considerably influence their interactions with the CP50CS electrochemical biosensor [3,5–7,19]. All phenolic antioxidants with the exception of caffeic acid had a current response above 5 μA. Gallic acid and rutin, with 4 and 9 hydroxyl groups, respectively, showed higher peak currents in relation to the sensor when compared with the other phenolic compounds, as shown in Figure 2. Catechol has 2 hydroxyls and is widely used as the main standard in antioxidant activities. Caffeic acid has 2 hydroxyls and presented a less satisfactory result than the other standards in relation to the enzymatic interaction, but superior to the carbon paste without modification. Statistical difference was observed between all tested groups in Figure 2, with the exception of catechin and catechol (which were statistically equal) with a 0.05 significance level.

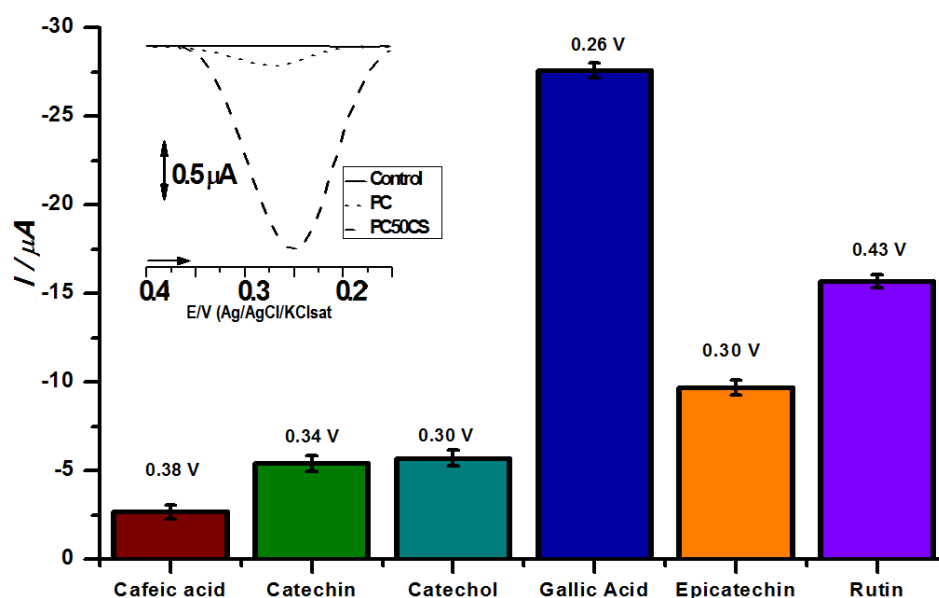


Figure 2. Analysis of phenolic compounds at 10 μM by CP50CS electrochemical biosensor in acetate buffer pH 5.0 after 2 min of enzymatic reaction. Insert: Comparison of the control, carbon paste (CP) and the CP50CS biosensor versus 10 μM catechol.

A calibration curve (Figure 3) was developed based on the response presented to the biosensor; the catechin compound was used due to the majority presence in kombucha samples, in order to assess whether the proposed method presented a linear response to the increase in the concentration of analysis. Figure 3. Calibration curve of catechin from 10.00 to 60.00 μM in acetate buffer pH 5.0, using CP50CS electrochemical biosensor, after 2 min of enzymatic reaction.

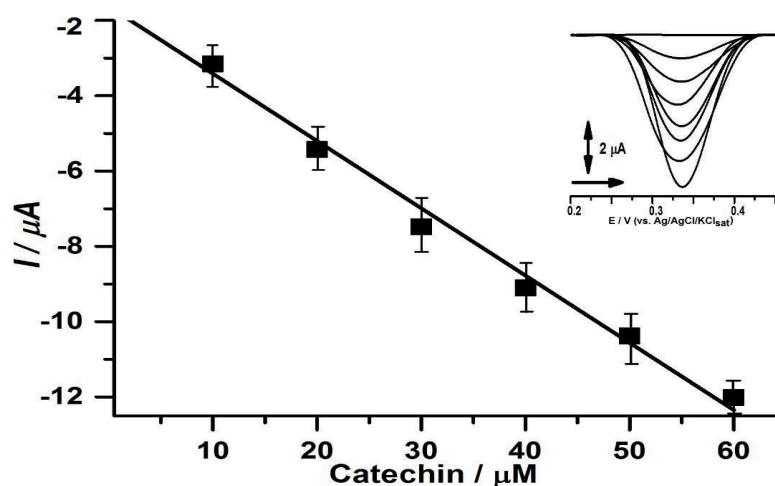


Figure 3. Calibration curve of catechin from 10.00 to 60.00 μM in acetate buffer pH 5.0, using CP50CS electrochemical biosensor, after 2 min of enzymatic reaction.

The proposed methodology for the limit of quantification and limit of detection uses the value of the standard deviation of the intercept to calculate the limit of detection, instead LQ and LD can be achieved by 3 and 10 times the blank measured values, respectively. Prescription 1 was used to obtain LD, which will give a signal equal to three times the baseline noise level, calculated in electrolyte with prescription.

$$\text{LD} = 3\text{SB}/b \quad (1)$$

The LQ also evaluated in this work is defined as the lowest value determined for the proposed methodology, where we consider that the equipment limit has not yet been reached and corresponds to 99%, given by the relationship in Equation (2).

$$LQ = 10SB/b$$

(2)

The calibration curve exhibited a significant linear segment in the range from 10.00 to 60.00 μM ($R^2 = 0.9961$) (Figure 3) with a detection limit (LOD) of 0.13 μM ($3\sigma/S$, where σ is the standard deviation of the blank signal for $n = 3$ and S the sensitivity) and the limit of quantification (LOQ) of 0.39 μM ($10\sigma/S$, where σ is the standard deviation of the blank signal for $n = 3$ and S the sensitivity). The results obtained in this work were compared to similar surveys displayed in Table 1.

Table 1. Comparison of the results obtained using the CP50CS biosensor developed in this research with other immobilized electrodes of PPO for catechin/catechol detection.

Enzyme source	Enzymatic activity	Method	Linear range (μM)	Limit detection (μM)	of Reference
<i>C. superba</i>	-	DPV	30 – 300	0.13	This work
<i>M. colocasiae</i>	1286.20 U L^{-1}	DPV	50 – 300	0.17	[3]
Jenipapo Fruit (<i>Genipa americana</i> L.)	593 U mg^{-1}	DPV	10 – 310	7	[18]
Mushrooms	1530 U mg^{-1}	Amperometric	0.5 - 24.0	0.3	[19]
<i>Manilkara</i> Z. (sapota) Fruit	620 U	Chrono amperometric	1.0 – 15.0	0.47	[20]
<i>Agaricus bisporus</i>	-	Amperometric	0.5 – 101	0.15	[21]
Purchased from Sigma	1050 U U mg^{-1}	Cyclic voltammetry	1.0–100	0.01	[22]

Compare to works previously realized by the research group with the fungus *Marasmiellus colocasiae* [3], the *Cordia superba* biosensor showed superior results in terms of LOD and LOQ, being more selective and specific in the face of the biochemical reaction in obtaining analytical signal [5,6].

Kombucha samples were made at the Faculty of Pharmacy of the Federal University of Goiás, with commercial green tea and using SCOBYs from different origins, from German, American, Canadian or the Jun SCOBY, attributing different flavors, acidity levels and antioxidant activities. The antioxidant activity (phenolic compounds) of the kombucha samples was then analyzed using the CP50CS electrochemical biosensor, where they were exposed for 2 min to the samples, as shown in figure 4. Subsequently, the DP voltammograms of these sensors were recorded in the potential range from 0.20 to 0.45 V in acetate buffer pH 5.0, as shown

in figure 4. Statistical difference was observed between all tested groups in figure 4, with a 0.05 significance level, showing that the modification significantly improved the performance of the analysis.

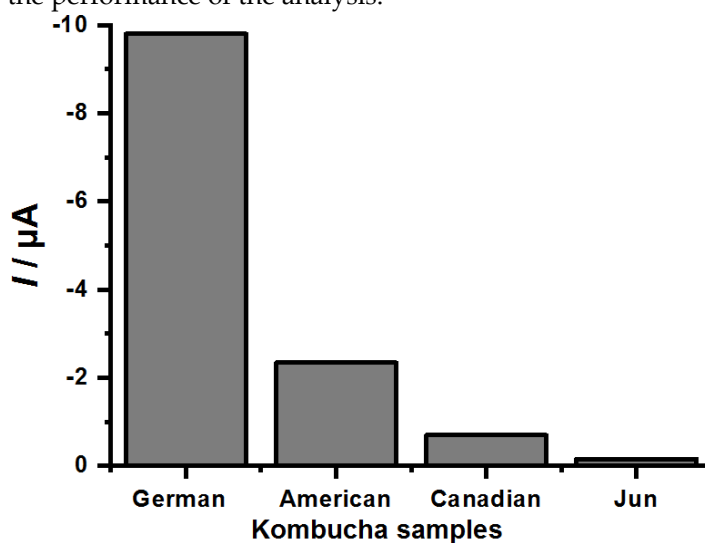


Figure 4. Analysis of kombucha samples from different backgrounds with CP-50EP in acetate buffer pH 5.0 after 2 min of enzymatic reaction.

The fermented products with German SCOBY content presented a vinegar with greater acidity, a content derived from the preparation with saccharide, as well as giving it the highest cathodic peak current and thus antioxidant activity, as shown in Figure 4. The kombucha samples analyzed with CP50CS biosensor that showed lower antioxidant activities were those fermented with Canadian and Jun SCOBY, as shown in Figure 4 and Table 2, in agreement with previous results [23–26].

Table 2. Analysis of kombucha samples with CP50CS biosensor by DPV, in acetate buffer pH 5.0 after 2 min of enzymatic reaction; DPPH and Folin-Ciocalteu spectrophotometric assays.

Samples	E_{pc} (V) (n = 3)	I_{pc} (μ A) \pm Standard deviation (n=3)	DPPH	Folin-
			Catechin Equivalent (μ M) \pm Standard deviation (n=3)	Ciocalteu Catechin Equivalent (μ M) \pm Standard deviation (n=3)
Germany	0.35	-9.8 \pm 0.38	-9.8 \pm 0.0095	-2.7 \pm 0.02
American	0.35	-2.34 \pm 0.42	-0.12 \pm 0.055	-2.4 \pm 0.01
Canadian	0.34	-0.7 \pm 0.44	-5.08 \pm 0.0085	-2.1 \pm 0.11
Jum (honey)	0.34	-0.16 \pm 0.38	-0.14 \pm 0.006	-2.06 \pm 0.09

Biossensores have peculiarities that make biological components unique, such as LOD, LOQ, sensitivity and interactions, exploring different ways of detecting and potentiating the transduction and visualization of the analytical signal.

DPPH and Folin-Ciocalteu spectrophotometric assays were used for comparison with the proposed electrochemical method, as shown in Table 2. The DPPH free radical method is an antioxidant assay based on electron transfer that produces a violet solution in ethanol [16,17]. The Folin–Ciocalteu is a redox reagent composed by phosphomolybdate and phosphotungstate that in presence of phenolic antioxidants undergo reduction yielding a blue colour, that is spectrometrically measured at 765 nm wavelength [3,27].

The CP50CS electrochemical biosensor proposed here was used to quantify the antioxidant activity (total phenolic compounds) of the kombucha samples and the results were very similar to those obtained with the DPPH and Folin-Ciocalteu spectrophotometric methods, as shown in Table 2. All results indicated greater antioxidant activity from kombucha samples prepared with Scoby from Germany. These results thus demonstrate the excellent performance and applicability of the CP50CS sensor for the quantification of antioxidant activity in real samples. However, a greater number and variety of samples are still needed.

Conclusões

Studies that corroborated with the literature showed that the enzymatic biosensor of *C. superba* showed relevant results for the proposal of a new analytical tool with low cost, high sensitivity and reproducibility, with real food samples under usual conditions for the detection of phenolic compounds, optimizing the development of electrochemical detection devices for food quality control.

This work sets precedents for the implementation of new technologies, such as miniaturization through printed electrodes and real-time analysis, optimizing analyses in quality control of kombucha and other fermented beverages in the future.

The biosensor made with the crude plant extract of *C. superba* was satisfactory for the detection of phytochemicals and catechin quality control of kombucha samples based on *Cammelia sinensis*.

Factors such as detection, quantification, precision, accuracy and stability presented relevant results due to the good analytical response of the biochemical sensor. The ease of obtaining the plant enzymatic extract, as well as the low cost and fast analysis, are attractive for an alternative quality control device for food.

Author Contributions: Conceptualization, E.A.B. and M.O.A.P.; methodology I.Y.L.M., F.B.M., E.K.G.M., I.G.V.F. and E.P.D.; software, E.A.B.; validation, E.A.B., L.S.C.B. and F.B.M.; writing original draft preparation, E.A.B., M.O.A.P.; E.K.G.M. and E.S.G.; supervision, E.S.G.; project administration, E.A.B. and E.S.G.; Writing—review and editing and Visualization, S.C.B.O. and E.S.G. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG).

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: No new data were created or analyzed in this study. Data sharing is not applicable to this article.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Thevenot, D.R.; Toth, K.; Durst, R.A.; Wilson, G.S. Electrochemical biosensors: Recommended definitions and classification - (Technical Report). *Pure Appl. Chem.* **1999**, *12*, 2333–2348.
2. Pelle, F.D; Compagnone, D. Nanomaterial-based sensing and biosensing of phenolic compounds and related antioxidant capacity in food. *Sensors (Switzerland)*. **2018**, *18*, 2.
3. Batista, É.A.; et al. Enzymatic electroanalytical biosensor based on *maramiellus colocasiae* fungus for detection of phytomarkers in infusions and green tea kombucha. *Biosensors*. **2021**, *11*, 3.
4. Valente, I.M.; et al. Unravelling the phytonutrients and antioxidant properties of European *Vicia faba* L. seeds. *Int. Food Res. J.* **2019**, *116*, 888–896.
5. Gul, L.; et al. Polyphenol oxidase (PPO) based biosensors for detection of phenolic compounds: A Review. *J. Appl. Biol.* **2017**, *5*, 072-085.
6. Raymundo-Pereira, P.A.; et al. Polyphenol oxidase-based electrochemical biosensors: A review. *Anal. Chim. Acta.* **2020**, *1139*, 198-221.
7. Antunes, R. S.; et al. Development of a polyphenol oxidase biosensor from Jenipapo fruit extract (*Genipa americana* L.) and determination of phenolic compounds in textile industrial effluents. *Biosensors*. **2018**, *8*, 1-9.
8. Costa, J.; et al. Immunomodulatory activity of extracts from *Cordia superba* Cham. and *Cordia rufescens* A. DC. (Boraginaceae), plant species native from Brazilian Semi-arid. *Braz. J. Pharmacog.* **2008**, *18*, 11–15.
9. Lopes, T.N.; Verçoza, F.C.; Missagia, C.C.C. Fenologia reprodutiva e visitantes florais de *Cordia superba* Cham. (Boraginaceae) na vegetação da restinga de Grumari, Rio de Janeiro. *Ver. Biol. Neotrop.* **2015**, *12*, 39-43.
10. Matias, E.F.F.; et al. The genus *Cordia*: botanists, ethno, chemical and pharmacological aspects. *Rev. bras. farmacogn.* **2015**, *25*, 542–552.
11. Souza, G.M.; et al. Estratégias de utilização de luz e estabilidade do desenvolvimento de plântulas de *Cordia superba* Cham. (Boraginaceae) crescidas em diferentes ambientes luminosos. *Acta Bot. Bras.* **2009**, *23*, 474–485.
12. Ahmed, R.F.; Hikal, M.S.; Abou-Taleb, K.A. Biological, chemical and antioxidant activities of different types Kombucha. *Ann. Agric. Sci.* **2020**, *65*, 35–41.
13. Mizuta, A.G. et al. Evaluation of antimicrobial activity of green tea kombucha at two fermentation time points against *Alicyclobacillus* spp. *LWT*. **2020**, *130*, 109641.
14. Greenwalt, C.J.; Steinkraus, K.H.; Ledford, R.A. Kombucha, the fermented tea: Microbiology, composition, and claimed health effects. *J. Food Prot.* **2000**, *63*, 976–981.
15. Garcia, L.F. et al. *Solanum melongena* polyphenol oxidase biosensor for the electrochemical analysis of paracetamol. *Prep. Biochem. Biotechnol.* **2016**, *46*, 850-855.
16. Bondet, V.; Brand-Williams, W.; Berset, C. Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH Free Radical Method. *LWT - Food Science and Technology*. **1997**, *30*, 609-615.
17. Huang, D.J.; Ou, B.X., Prior R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem* **2005**, *53*, 1841-1856.
18. Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventos, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of the Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* **1999**, *299*, 152– 178.
19. Rice-Evans, C.; Miller, N.; Paganga, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.* **1997**, *2*, 152-159.
20. Hervás Pérez, J.P. et al. Amperometric tyrosinase biosensor based on polyacrylamide microgels. *Biosens. Bioelectron.* **2006**, *22*, 429–439.
21. Sandeep, S. et al. Detection of catechol using a biosensor based on biosynthesized silver nanoparticles and polyphenol oxidase enzymes. *Port. Electrochim. Acta.* **2019**, *37*, 257–270.
22. Sethuraman, V.; Muthuraja, P.; Manisankar, P. Fabrication of an efficient polyaniline-polyphenol oxidase based biosensor for catechol. *Analytical Methods*. **2013**, *5*, 6523–6530.

23. Chen, H. et al. A new catechol biosensor immobilized polyphenol oxidase by combining electropolymerization and cross-linking process. *Int. J. Polym. Mater.* **2013**, 62, 620–626.
24. Nurten A. et al. Kombucha-Na ancient fermented beverage with desired bioactivities: A narrowed review. *Food Chem.: X.* **2020**, 14, 72-85.
25. Anacleto, D.A. et al. Composição de amostras de mel de abelha Jataí (*Tetragonisca angustula* latreille, 1811). *Ciencia Technol. Alime.* **2019**, 29, 535-541.
26. Gois, G.C. et al. Vista da Composição do mel de *Apis mellifera*: Requisitos de qualidade, *Acta Vet. Bras.* **2013**, 7, 137-147.
27. Lazzarotto, S. et al. Método de Folin Ciocalteou adaptado para quantificar polifenóis em extratos de erva-mate. *Revista Movimenta.* **2020**, 13, 410-426.



Article

Electrochemical alternative for evaluating the antioxidant capacity in kombuchas

Érica A. B. Caixeta¹, Márcia C.S. Costa², Ana Paula M. Oliveira², Isaac Y. L. Macedo¹, Marx O. A. Pereira¹, Elgia P. Diniz¹, Júlio C.G. Silva¹, Henric P. V. Gil¹, Severino Carlos B. Oliveira³ and Eric de Souza Gil^{*}

¹Faculty of Pharmacy, Federal University of Goiás, Goiânia-GO, Brazil

²Evangelical University of Goiás, Cidade Universitária, Anápolis-GO, Brazil

³ Department of Chemistry, Federal Rural University of Pernambuco, Recife-PE, Brazil

* Correspondence: ericsgil@ufg.br (E.S.G.)

Abstract

Kombucha is a millennia-old beverage crafted from green or black tea, saccharides and fermented by a symbiotic culture of bacteria and yeast (SCOBY). This functional drink boasts health benefits, such as improved intestinal flora function, hepatoprotection and inhibition of amyloid fibers. It contains bioactive antioxidants, such as catechins, ascorbic acid, vitamins and other polyphenolic compounds. With Kombucha's rising popularity, the Food and Drug Administration (FDA) has implemented control procedures to ensure the quality and safety of this food product. Therefore, due to the antioxidant properties of the major bioactive compounds in kombucha, feasible and low-cost electroanalytical methods emerge as promising alternatives. The objective of this study was to evaluate the voltammetric behavior of kombucha samples to establish and compare their redox profiles and antioxidant activities. Thus, 18 kombucha samples were used, commercial samples and samples prepared in the laboratory from different SCOBYs purchased from different countries, and analyzed by differential pulse voltammetry (DPV) and square wave voltammetry (SWV) on carbon paste electrode (CPE). The electrochemical index (EI) values determined from the samples were used to establish their antioxidant activities. The EI values were also compared with spectrophotometric data from 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) and Folin-Ciocalteu (FC).

Keywords: Kombucha drinks, Antioxidants, Electrochemical Index, Radical Scavenging Activity, Electroanalysis.

1. Introduction

Kombucha is a probiotic drink easily prepared by the infusion or extraction of "Camellia sinensis", followed by the fermentation of sugars [1-3]. The fermentation is carried out by a symbiotic culture of bacteria and yeast, called SCOBY, and this stage usually takes 7 to 14 days [1-3]. Its production is not yet a well-established process and parameters such as tea

Academic Editor: Firstname
Lastname

Received: date
Revised: date
Accepted: date
Published: date

Citation: To be added by editorial staff during production.

Copyright: © 2025 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and

concentration, infusion temperature, SCOBY type and fermentation time have not yet been standardized [1-3].

Therefore, Kombucha is already a commercial beverage with increasing popularity due to its benefits to human health [4-10]. Most of the reports emphasize its antioxidant capacity, due to high concentrations of polyphenols and other benefits, due to the presence of vitamins and minerals [4-10].

Experimental factors are essential for the quality of Kombucha, the temperature must be controlled at 28 ± 2 °C and the pH between 2.5 and 4.2, since these parameters influence its metabolic profile and its antioxidant activity [5]. The fermentation time is directly associated with the increase in the acidity of the beverage, the concentrations of ethanol, organic acids, polyphenols and bioactive compounds, as well as the sensory characteristics desired for the final product [6]. Carbonation and the amount of dissolved oxygen influence the activity of aerobic acetic acid bacteria, responsible for the conversion of monosaccharides and ethanol into organic acids. The yeasts are responsible for the production of ethanol, conferring alcoholic characteristics that may interfere with the antioxidant capacity of the beverage, while the acetic bacteria contribute to the development of the acidic flavor [1].

Several methods have been used to evaluate the total content of the antioxidant capacity in fruits, vegetables, beverages and other foodstuffs. Usually, spectrophotometric methods such as 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) and Folin-Ciocalteu (FC) [7-8].

The antioxidant activity has been achieved by means of Electrochemical Index (EI), that considers thermodynamic, kinetic and quantitative parameters from DP voltametric assays [9]. The voltammetric techniques, cyclic voltammetry (CV), differential pulse voltammetry (DPV) and square wave voltammetry (SWV), are also useful to evaluate the redox profile of electroactive molecules, including the ones present in natural products and foods [10,11].

Concerning the evaluation of natural products, foods and beverages, the spectrometric methods usually are hampered by chromogenic interfering agents. Whereas, electroanalysis allow the tentative identification of antioxidants [10, 11].

The aim of this study was to characterize and compare the voltammetric behavior of kombuchas, to establish their electrochemical profiles and antioxidant activities. Thus, 18 samples of kombuchas were used, commercial samples or prepared from different symbiotic cultures acquired from different countries, and analyzed by DPV and SWV, on carbon paste electrode (CPE). This work established and compared the electrochemical behavior of 18 kombuchas. As well as the EI values determined of the samples were used to establish their antioxidant activities. The EI values were also compared here with the spectrophotometric data of DPPH, FRAP and FC.

2. Materials and Methods

2.1 Chemicals and reagents

The commercial kombuchas, all flavored, were acquired from local stores in Goiânia and Anápolis, Goiás, Brazil (Table 1, samples A to F). The kombuchas prepared in the laboratory were prepared with SCOBYs from different countries (Table 1, samples G to S). The SCOBY related to the samples were acquired from Tao kombuchas® (A-F) and Naturall® probiotics (G-S). P and R kombucha samples were prepared following secondary fermentations in presence of hibiscus and coffee, respectively.

The sodium acetate trihydrate, acetone, glacial acetic acid, hydrochloric acid, methanol, ferric chloride hexahydrate, ferrous sulfate heptahydrate, 2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ), diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH•), gallic acid, sodium carbonate $\geq 99.0\%$ purity, ethyl alcohol (HPLC grade), Folin-Ciocalteu (FC) reagent, graphite powder and mineral oil for carbon paste were sourced from Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA [16]. All solutions were prepared using analytical grade reagents and deionized water (conductivity $0.1 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) (Millipore S.A., Molsheim, France). All solutions were prepared at a concentration of $100 \mu\text{M}$ from dilution of stock solutions (1 mM).

2.2 Preparation of kombucha

The main features of the resulting samples are presented in Table 1.

Table 1. Commercial (®) and made in the laboratory (□) kombucha samples.

Sample	®	□	SCOBY Procedence	Fermentation time	Added Flavoring	SCOBY additives
A	·		China	14 days	Passion Fruit	-
B	·		China	14 days	Vanilla	-
C	·		China	14 days	Cajuína	-
D	·		China	14 days	Hibiscus 1	-
E	·		China	14 days	Sicilian Lemon	-
F	·		China	14 days	Guava	-
G		·	Germany	14 days	-	-
H		·	China	14 days	-	-
I		·	USA	14 days	-	-
J		·	Qatar	14 days	-	-
K		·	China	14 days	-	Jum*
L		·	Canada	14 days	-	-
M		·	Japan	14 days	Kombu**	-
N		·	Iceland	14 days	Oolong tea	-
O		·	Australia	14 days	-	-
P		·	China	14 days	-	Hibiscus
Q		·	China	14 days	-	-
R		·	India	14 days	-	Coffee

* Honey instead sugar; ** Salty seaweed

2.3 Antioxidant activity determinations

The spectrometric determination of antioxidant activity was carried out in triplicates by three traditional methods [7,8,9], namely the ferric reducing antioxidant power (FRAP); the free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) and Folin-Ciocalteu (FC) expressed in mg of gallic acid equivalents (GAE) per mL of sample. Antioxidant activity was evaluated by the DPPH• spectrometric method, following the protocol [11]. The analytical curve was performed with different concentrations of the DPPH• solution (10 µM, 20 µM, 30 µM, 40 µM, 50 µM and 60 µM) in glass cuvettes and the reading was performed on a spectrophotometer at 515 nm. DPPH• concentrations (M) were plotted on the X axis and the respective absorbances on the Y axis, to calculate the equation of the straight line.

From the aliquot of kombucha in natura, at least three different dilutions were prepared in triplicate in test tubes. The Folin-Ciocalteu (FC) spectrophotometric method was used to determine total phenolic compounds in kombucha. Each aliquot of 50 µL of kombucha sample at a concentration of 1% was placed in a test tube containing 1 mL of distilled water and 250 µL of the FC reagent. After 5 min, 750 µL of a 20% Na₂CO₃ solution and 2950 µL of distilled water were added. The mixture was incubated in the absence of light for 60 min; Afterwards, the absorbance was measured in a spectrophotometer at 765 nm, using the

blank solution as a reference. The quantification of phenolic compounds in kombucha samples was carried out in triplicate and the average result was reported. The results were expressed in gallic acid equivalents in μM , from a calibration curve obtained under the same conditions for sample analysis. The percent of the remaining radicals after 5 min of reaction between the sample with $\text{FC}\bullet$ was calculated using the following Equation 1:

$$\text{Remaining percentage (\%)} = (\text{AbsC} - \text{AbsS}) / (\text{AbsC}) \times 100$$

In which the AbsC and AbsS are the absorbance of the control ($\text{FC}\bullet$ solution) and of the sample, respectively.

The FRAP assay procedure is based in the Fe^{3+} reduction to Fe^{2+} . The FRAP reagent, prepared at beginning of the analysis, consisted of a mixture of 2,4,6-Tripyridyl-s-Triazine (TPTZ) (10 mmol L^{-1}), HCl (40 mmol L^{-1}), FeCl_3 (20 mmol L^{-1}) and sodium acetate buffer (0.3 mol L^{-1} ; pH 3.6) in the following proportion, 1:1:1:10, respectively. $100 \mu\text{L}$ aliquots of the kombucha sample were injected in 1.8 mL FRAP reagent and left in a water bath at $37 \text{ }^\circ\text{C}$ for 10 min. Then, absorbance was measured at 593 nm . $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ aqueous solutions ($500 \mu\text{M}$, $1000 \mu\text{M}$, $1500 \mu\text{M}$, $2000 \mu\text{M}$) were used in the calibration curve and the results were expressed as $\mu\text{mols Fe II}$ equivalents per mL of the Kombucha sample [13].

A calibration curve for ferrous sulfate was plotted at concentrations of $500 \mu\text{M}$, $1000 \mu\text{M}$, $1500 \mu\text{M}$, $2000 \mu\text{M}$ and the reading (595 nm) was performed after 30 minutes of mixing and the FRAP reagent was used as a blank to calibrate the spectrophotometer. The ferrous sulfate concentrations (mM) on the X axis and the respective absorbances on the Y axis in a spreadsheet, where the linear regression equation was calculated. The calculated absorbance for 1000 mM of ferrous sulfate, according to Equation 1.

Absorption spectra were recorded using an Agilent 8453 UV-Vis spectrophotometer with a photodiode array detector and UV-Visible ChemStation software (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, USA).

2.4 Voltammetric assays

Electrochemical assays were carried out with an Autolab III® potentiostat/galvanostat integrated with NOVA 2.1 software (Metrohm). Measurements were made in a single compartment 5 mL electrochemical cell with a 3-electrode system, consisting of a carbon paste electrode (CPE), an Ag/AgCl/KClSat electrode and a platinum wire (purchased from Lab Solutions, São Paulo, Brazil), representing the work, reference and auxiliary electrode, respectively. The experimental conditions for differential pulse voltammetry (DPV) were pulse amplitude of 50 mV , pulse width of 0.5 s and scan rate of 10 mV s^{-1} . DP voltammograms were baseline corrected using a step window of 5.00 mV .

The experimental conditions for square wave voltammetry (SWV) were pulse amplitude of 50 mV with a frequency of 50 Hz and potential

rise of 2 mV, corresponding to a scan rate of 100 mV s⁻¹. The experimental conditions for cyclic voltammetry (CV) were scan range 0.0 to 1.0 V and scan rate 100 mV s⁻¹.

All experiments were carried out at room temperature in triplicate, and the main electrolyte used was 0.1 M phosphate buffer solution (PBS) pH = 7.0.

2.4.1 Electrochemical index

The sum of the ratio between I_{pa} and E_{pa} of all peaks observed in DP voltammetry were used to get the EI values [14].

$$EI = \sum_{i=1}^n \frac{I_{pa\ n}}{E_{pa\ n}}$$

For the identified anodic peaks, the respective currents (I_{pa}) and potentials (E_{pa}) were associated with the electrooxidation of phenolic compounds (antioxidants). The I_{pa} is directly related to the concentration and electron transfer kinetics of the identified electrooxidation reaction. While E_{pa} expresses the thermodynamic reducing character of the antioxidant.

2.5 Statistical analysis

Analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test were used to identify significant differences between the analytical data sets obtained from the analyzed samples. The analysis was conducted using Origin 8.0 software, an application for analysis, statistical processing and graphical visualization of experimental data. The ANOVA test allowed us to verify the existence of statistically significant variations between the group means, assuming homogeneity of variances and normality of the data.

Subsequently, Tukey's multiple comparison test was applied as a post hoc method to identify which pairs of samples presented significant differences. The use of these statistical tests provides greater robustness to the analysis of the experimental results, ensuring the validity of the conclusions based on rigorous quantitative criteria. The ANOVA and Tukey tests evaluated significant differences in the analytical data between samples. For each assay (DPPH, FC, FRAP and EI), we ranked the 18 samples (A–R) within that assay only, using the raw assay values. Because rank is a relative measure, no scaling or normalization was applied; ranking is invariant to any monotonic transformation of the data. We assumed that higher values indicate better antioxidant performance in all four assays (as is standard for these readouts). Thus, within each assay we sorted samples in descending order and assigned integer positions starting at 1 (best), 2, 3, ..., 18 (worst). Ties were handled with average (mid) ranks. If k samples tie and would occupy rank positions p through $p+k-1$, each of those samples receives the average of those positions. As an example, if three samples tie for ranks 2, 3, and 4, each gets $(2+4)/2 = 3$. These 18 samples (A–R) were analyzed using four assays related to antioxidant activity: DPPH, FC, FRAP and

EI. Because each assay is reported in different units and scales, comparisons between samples were made within each assay to avoid biased interpretations due to scale differences. To this end, we assigned ranks per assay, ordering the values in descending order (highest value = best antioxidant performance in that assay). A "rank average" was used in the event of ties. Thus, in the "Ranks (1 = best by method)" table, rank 1 indicates the best sample for that specific method. To summarize overall performance, a composite rank was also calculated per sample, defined as the arithmetic mean of the four ranks (one for each assay). The lower the composite rank, the better the overall performance, considering simultaneously radical scavenging (DPPH), phenolic/related content (FC), reducing power (FRAP), and EI. This summary appears in the table "Composite ranking (average of ranks)." We quantified association among four antioxidant readouts, DPPH, FC, FRAP and EI; using two complementary measures: Pearson's product-moment correlation and Spearman's rank correlation. Pearson correlation assesses linear relationships between raw values, assuming interval-scale comparability; Spearman correlation assesses monotonic relationships by correlating ranks, making it more robust to outliers and nonlinear but monotonic trends. Because correlation coefficients are invariant to linear rescaling (e.g., min-max or z-score), all analyses were performed directly on the raw assay values; scaling was not required for correlation estimation. For reporting and visualization, we built two 4×4 correlation matrices—one for Pearson and one for Spearman—using only the short variable names (DPPH, Folin, FRAP, EI). Each matrix is shown as a heatmap with the numeric coefficient printed in each cell for legibility and quick reading. We quantified association among four antioxidant variables, that is DPPH, Folin, FRAP, and EI; using two complementary measures: Pearson's product-moment correlation and Spearman's rank correlation. Pearson correlation assesses linear relationships between raw values, assuming interval-scale comparability; Spearman correlation assesses monotonic relationships by correlating ranks, making it more robust to outliers and nonlinear but monotonic trends. Because correlation coefficients are invariant to linear rescaling (e.g., min-max or z-score), all analyses were performed directly on the raw assay values; scaling was not required for correlation estimation. For reporting and visualization, we built two 4×4 correlation matrices—one for Pearson and one for Spearman.

3. Results

3.1 Voltammetric assays

For each Kombucha sample an aliquot was added to PBS (pH = 7.0), with a dilution of 1:10 and a DP voltammogram was recorded on CPE, Figure 1. In general, the DP voltammograms of the samples presented two profiles, one with three anodic peaks, the first at $E_{p1a} \sim 0.35$ V, the second at $E_{p2a} \sim 0.50$ V and the third at $E_{p3a} \sim 0.85$ V (samples A-F), Figure

1A. The other samples (G-R) presented a voltammetric profile with two anodic peaks, at $E_{p1a} \sim 0.20$ V and at $E_{p3a} \sim 0.75$ V, Figure 1B.

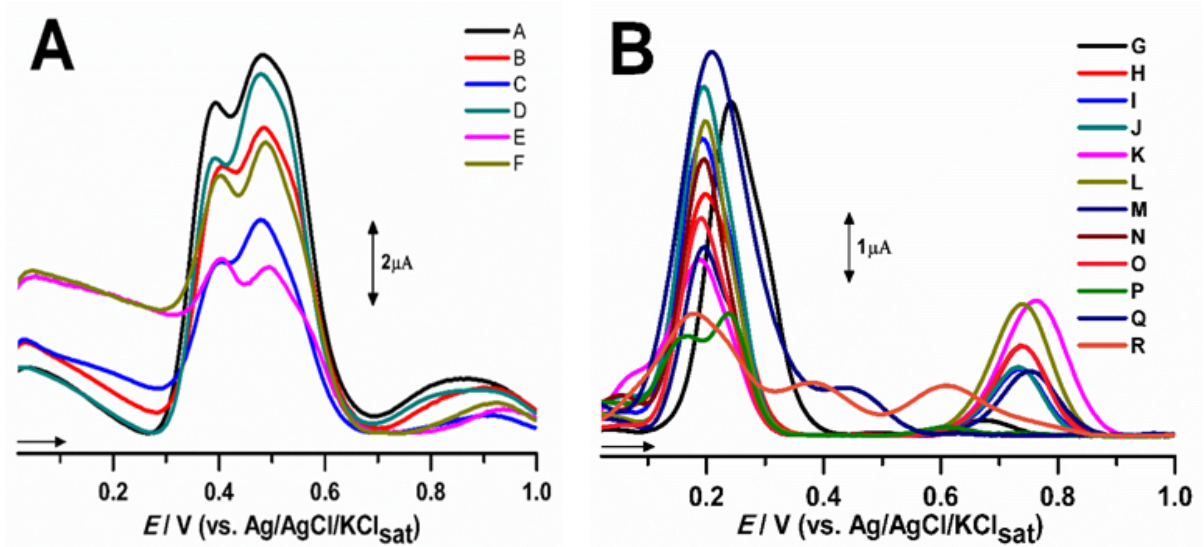


Figure 1. DP voltammograms in 0.1 M PBS (pH = 7.0) of Kombucha samples: (A) A-F, (B) G-R.

The above experiments were repeated by SWV, Figures 2. For example, the SW voltammogram of Kombucha sample B indicated two reversible anodic processes, at $E_{p1a} = 0.15$ V and $E_{p2a} = 0.23$ V, and one irreversible oxidation peak at $E_{p3a} = 0.65$ V, Figure 2A. While the SW voltammogram of sample G only two peaks were detected, the first reversible at $E_{p2a} = 0.21$ V and the second irreversible at $E_{p3a} = 0.75$ V. The overall SW results were in agreement with the DP data, thus exhibiting reversibility only for potential peaks, $E_{pa} < 0.4$ V.

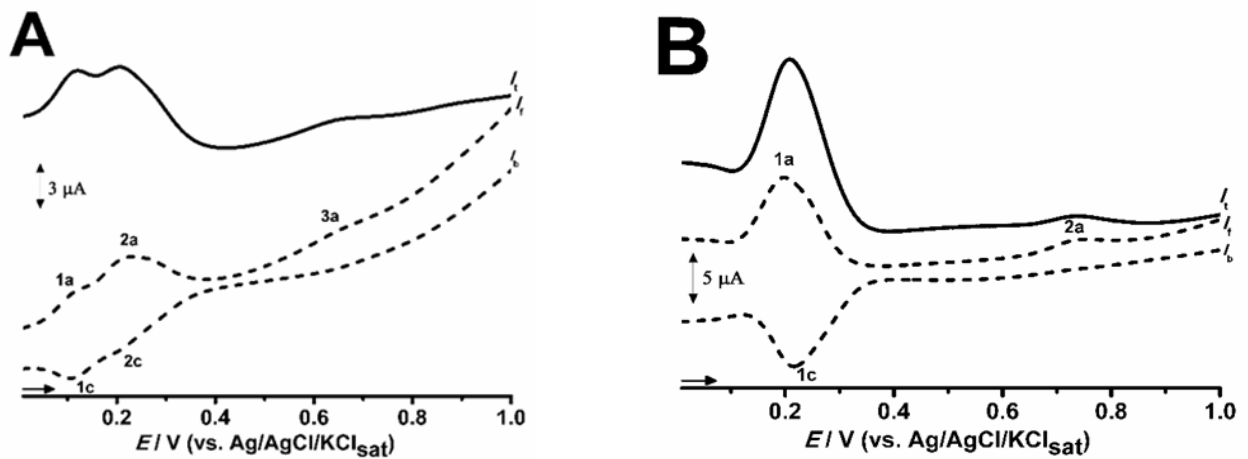


Figure 2. Voltammograms in 0.1 M PBS (pH = 7.0) of: A) SWV of sample B and B) sample G. It – total, If – forward and Ib – backward current.

As a control, to establish the anodic peaks of the kombucha samples in Figure 3 and 2, DP voltammograms were recorded in a solution of 1 mM catechin, the major phenolic antioxidant, and in a 1mM gallic acid in 0.1 M PBS (pH = 7.0) on CPE, Figure 3.

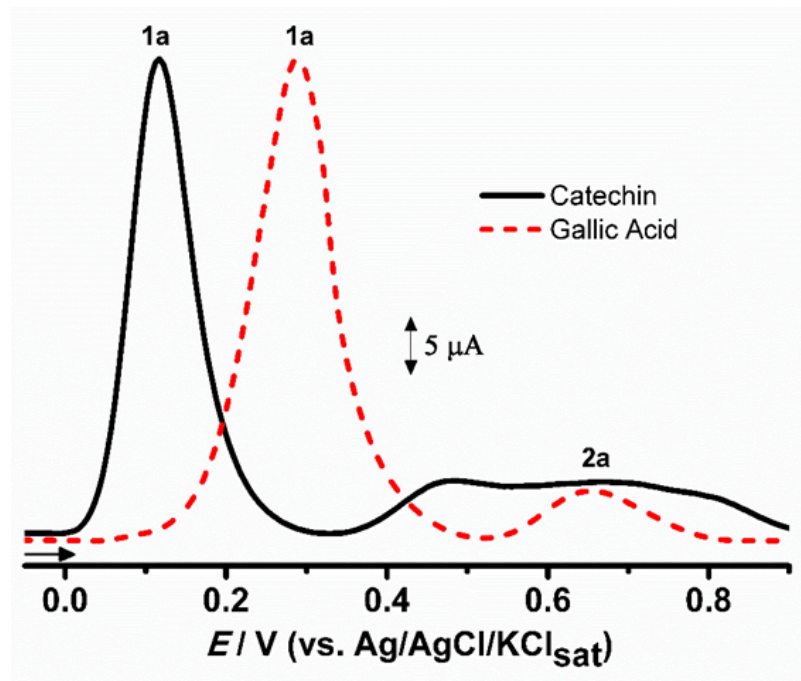


Figure 3. DP voltammogram in 0.1 M PBS (pH = 7.0) of 1mM catechin (—) and 1mM gallic acid (---).

3.2 Antioxidant activity determinations and Electrochemical index

FRAP and FC were two spectrophotometric methods used here to establish the antioxidant activity of kombucha samples. Both methods occur by a simple electron transfer redox reaction [12,13]. By the FRAP method, in the presence of the phenolic compound (antioxidant), Fe^{3+} is reduced to Fe^{2+} , resulting in a color change of the solution, and by FC the reduction occurs from a Mo^{6+} solution to Mo^{5+} [12]. The FC assay is more common to establish the antioxidant activity of phenolics [14]. The calibration curves for the FC and FRAP analyses were linear with values of correlation coefficient (r) = 0.997 and r = 0.996, respectively. These assays were performed in triplicate. The antioxidant activities of Kombucha samples were established from the inhibition percentages of the Mo^{6+} concentration of 63.4 μM [12, 24].

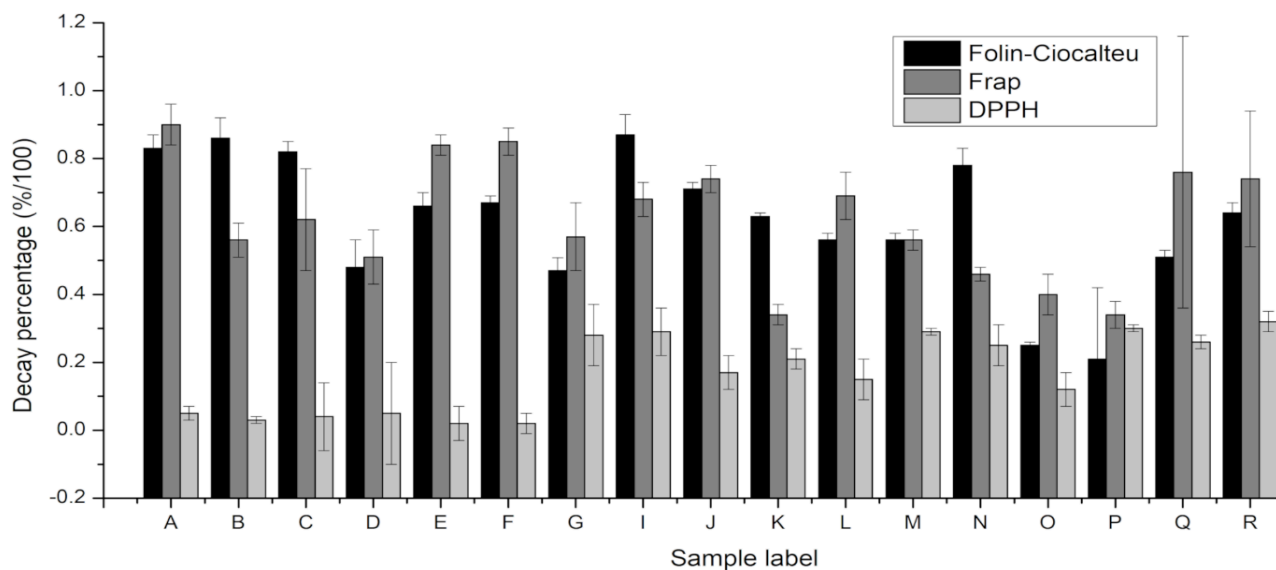
Table 2. Gallic acid equivalent values in ($\mu\text{g/mL}$) calculated with DPPH, Folin, FRAP and EI assays, for samples A to R.

Samples	DPPH (GA equivalent $\mu\text{g mL}^{-1}$)	FC (GA equivalent $\mu\text{g mL}^{-1}$)	FRAP (Ferrous sulfate $\mu\text{g mL}^{-1}$)	EI ($\mu\text{A V}^{-1}$)
A	4.2951	80.6200	708.3740	39.5622
B	2.7650	83.3200	468.6980	31.8808
C	3.2568	78.9533	512.0980	22.9271
D	4.0765	44.8200	433.7780	35.6435
E	1.3169	63.3200	668.0330	20.6107
F	1.4536	64.5200	674.0480	31.3077
G	23.1749	44.7200	476.2140	19.9652
H	23.2022	84.1200	555.6310	17.8947
I	13.9399	67.9533	594.9480	23.3381
J	17.6011	59.8200	318.1590	27.0224
K	12.3552	53.2867	561.4890	15.1649
L	23.5027	53.1200	474.1330	26.0263
M	20.6066	74.8700	400.0040	15.0421

N	10.3060	22.4200	361.8620	20.5263
O	24.5683	18.3533	315.4870	17.4333
P	20.9344	48.4533	610.9470	17.8580
Q	26.3443	60.9200	594.7180	28.3636
R	9.1311	51.4867	445.0740	20.8357

Figure 4 and **Table 2** show the antioxidant capacity of Kombucha samples by the DPPH method Remaining percentage (%) = $(AbsC - AbsS) / (AbsC) \times 100$ [25]. Samples A, B, C, I and N showed the highest antioxidant capacity, around 80%, and the lowest FC values were detected in samples O and P, below 50%. The coefficient of variation (CV, %) indicates the precision of the Kombucha sample preparation methodology, being less than 8% for FC and 10% by FRAP method. The absorbance of each Kombucha sample was recorded after 30 min of reaction with DPPH. The calibration curve for the DPPH assay was linear and showed a $r = 0.998$. These data were performed in triplicate, Figure 4. The CV% being less than 8% for DPPH[•] radical.

Figure 4. Bar graph of the antioxidant FC, FRAP and DPPH assays for activity of Kombucha samples. In table 100% decay equals 1.



Samples	Inhibition FC (%)	CV (%)	EI	CV (%)
A	90.66	4.35	39.5622	2.04
B	93.77	7.40	31.8808	1.83
C	92.77	3.15	22.9271	11.03
D	91.11	1.78	35.6435	3.36
E	96.72	5.26	20.6107	8.28
F	96.44	3.55	31.3077	3.45
G	52.27	5.99	19.9652	5.98

H	52.22	7.31	17.8947	13.02
I	71.05	2.60	23.3381	4.80
J	63.61	0.79	27.0224	5.35
K	74.27	4.14	15.1649	4.82
L	51.61	2.97	26.0263	5.52
M	57.50	6.25	15.0421	6.73
N	78.44	2.38	20.5263	4.69
O	49.44	2.82	17.4333	2.49
P	56.83	3.03	17.8580	5.12
Q	52.40	4.21	28.3636	1.21
R	45.83	2.14	20.8357	2.41

Table 3. Data and comparisons of the % inhibition of Kombucha extracts by FC assays and the values of electrochemical indices (EIs) of Kombucha samples analyzed by DPV.

DP voltammograms of the Kombucha samples (A-S), the values of the anodic peak potentials and their respective currents, were used to establish the EIs, **Figure 5 and table 3.**

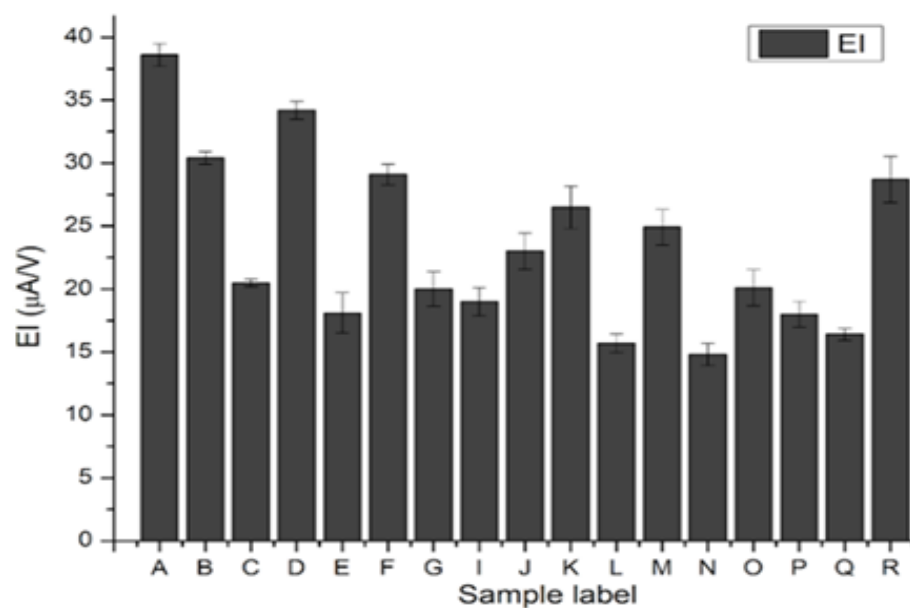


Figure 5. Bar graph of electrochemical index (EI) tests for Kombucha samples.

Table 4. Ranking (best ranking have smaller values, 1 = best) of best antioxidant samples regarding their performances in DPPH, Folin, FRAP and EI assays, for samples A to R.

Samples	DPPH (GA equivalent $\mu\text{g mL}^{-1}$)	FC (GA equivalent $\mu\text{g mL}^{-1}$)	FRAP (Ferrous sulfate $\mu\text{g mL}^{-1}$)	EI ($\mu\text{A V}^{-1}$)	Mean Rank
A	13	3	1	5	5.5
B	16	2	12	7	9.25
C	15	4	9	6	8.5
D	14	15	14	4	11.75
E	18	8	3	9	9.5
F	17	7	2	3	7.25
G	5	16	10	13	11
H	4	1	8	2	3.75
I	9	6	5	12	8

J	8	10	17	10	11.25
K	10	11	7	14	10.5
L	3	12	11	8	8.5
M	7	5	15	17	11
N	11	17	16	1	11.25
O	2	18	18	15	13.25
P	6	14	4	16	10
Q	1	9	6	11	6.75
R	12	13	13	18	14

The assay analysis revealed notable specializations. In DPPH, samples Q, O, and L occupied the top positions (ranks 1, 2, and 3, respectively), indicating strong radical scavenging capacity in this metric. In FC, which predominantly reflects phenolic contribution, sample H led, followed by B and A, suggesting a higher load of reducing species compatible with the FC reagent (Table 4). In FRAP, which focuses on reducing power, A was the best, with F and E close behind; this pattern highlights samples with the greatest capacity to reduce the ferric/ferric pair under the assay conditions. Finally, in EI, sample N showed the best electrochemical response, followed by H and F, signaling favorable redox characteristics in this instrumental setup.

The integrated reading via composite rank favors samples with consistently good performance across multiple mechanisms. By this metric, H performed best overall (average rank ≈ 3.75), placing 1st in Folin and 2nd in EI, with intermediate positions in the remaining tests. Next came A (≈ 5.50 ; 1st in FRAP and 3rd in Folin), Q (≈ 6.75 ; 1st in DPPH), F (≈ 7.25 ; 2nd in FRAP and 3rd in EI), and I (≈ 8.00 ; balanced performance). At the opposite extreme, the worst averages were observed for R (≈ 14.00), O (≈ 13.25), D (≈ 11.75), and a group with weaker overall performance formed by N and J (both ≈ 11.25), although N ranked 1st in EI—confirming the mechanism-dependent nature of the readings.

The agreement between the assays in the samples ranking was low. The Friedman test applied to the ranks resulted in $\chi^2 \approx 1.40$ ($p \approx 0.71$), and Kendall's coefficient indicated $W \approx$

0.026, indicating that the methods do not always select the same samples as best or worst. This divergence is scientifically plausible, while DPPH favors the ability to eliminate free radicals, FRAP emphasizes the reducing power of the species present in relation to Fe^{3+} , the FC method is strongly associated with the reduction of Mo^{6+} by phenolic compounds, and EI reflects the general electrochemical properties of the sample. However, overall, all methods indicated that these Kombucha samples all presented antioxidant properties, regardless of the method used. Furthermore, these results indicated advantages of the voltammetric EI method, since it is simpler and faster. Thus, samples such as Q (excellent in DPPH), N (leading in EI), or F (strong in FRAP/EI) exemplify specific performances by mechanism, while H and A stand out for their cross-sectional robustness.

From a practical standpoint, when a single "general" candidate is required, H and A emerge as the most defensible choices, as they exhibit high and consistent performance across multiple fronts. However, if the target application prioritizes a specific mechanism, the method-specific ranking tables should guide the decision: Q/O/L for radical scavenging (DPPH), H/B/A for phenolics (FC), A/F/E for reducing power (FRAP), and N/H/F when the electrochemical response is more relevant. Finally, for statistical inference between samples (e.g., ANOVA + Tukey's within-method), replicates per sample and method will be required, allowing for estimation of variability and testing for mean differences with appropriate rigor. Until then, the ranks and the composite rank should be interpreted as comparative summaries sensitive to the mechanism measured by each assay (Table 5).

Table 5. Correlation matrices with Pearson and Spearman methodologies for DPPH, FC, FRAP and EI.

Pearson Correlation	DPPH	FC	FRAP	EI
DPPH (GA equivalent $\mu\text{g mL}^{-1}$)	1	-0.28262	-0.32201	-0.12587
FC (GA equivalent $\mu\text{g mL}^{-1}$)	-0.28262	1	0.501018	-0.03165
FRAP (Ferrous sulfate $\mu\text{g mL}^{-1}$)	-0.32201	0.501018	1	-0.0494
EI ($\mu\text{A V}^{-1}$)	-0.12587	0.03165	-0.0494	1
Spearman Correlation	DPPH	FC	FRAP	EI

DPPH (GA equivalent $\mu\text{g mL}^{-1}$)	1	-0.30857	-0.27141	0.37255
FC (GA equivalent $\mu\text{g mL}^{-1}$)	-0.30857	1	0.44066	0.294118
FRAP (Ferrous sulfate $\mu\text{g mL}^{-1}$)	-0.27141	0.44066	1	0.153767
EI ($\mu\text{A V}^{-1}$)	-0.37255	0.294118	0.153767	1

Pearson correlation highlighted a moderate positive association between FC and FRAP (≈ 0.50), consistent with both assays reflecting reducing capacity/phenolic content. Pearson also indicated weak negative relationships of DPPH with FC (≈ -0.28) and with FRAP (≈ -0.32), suggesting that higher DPPH values (as collected here) tended to occur in samples that did not simultaneously score highly on FC/FRAP, Table 4. Correlations of EI with the other assays were close to zero ($|r| \leq \sim 0.13$), implying little linear alignment between the electrochemical index and the chemical assays in this dataset.

Spearman correlation (rank-based) preserved the FC–FRAP link (≈ 0.44) and accentuated the negative monotonic relationship of DPPH with EI (≈ -0.37), while keeping DPPH vs Folin/FRAP negative ($\approx -0.31/-0.27$). Spearman also showed small positive associations of EI with Folin (≈ 0.29) and FRAP (≈ 0.15), suggesting mild monotonic co-variation that was not captured as linear by Pearson. Together, these patterns imply that while Folin and FRAP often move together (biochemically plausible), DPPH captures a partly distinct antioxidant facet, and EI provides orthogonal electrochemical information with only weak alignment to the chemical assays.

Practically, the choice of correlation should reflect the expected relationship. When a linear link is plausible and outliers are not influential, Pearson is informative. When relationships may be monotonic but nonlinear, or robustness to outliers is desired, Spearman provides a complementary view. In this dataset, the consistent Folin–FRAP association across both metrics strengthens confidence in

that relationship, whereas divergence around EI and DPPH underscores mechanism specificity across assays. Consequently, downstream multivariate summaries or composite indices should weigh assays according to the mechanistic target (e.g., reducing power vs radical scavenging vs electrochemical behavior), and investigators should be cautious about assuming a single “universal” antioxidant ranking from mixed-assay data.

4. Discussion

Camellia sinensis tea, as well as their kombucha's products are a rich source of polyphenolic antioxidants, such as catechins and gallic acid [1, 4, 6]. Therefore, the redox profile, as well as, the antioxidant capacity determination is an undeniable quality parameter for this functional foodstuff.

In this study, the electrochemical profile of 18 kombucha samples (A to S), commercially acquired or made in the laboratory (**Table 1**), were evaluated.

The electrochemical behavior of kombucha samples was investigated using DPV and SWV to verify the reducing power and reversibility of intrinsic electroactive species. These data, are closely related to pro-oxidant and antioxidant behavior, and were used to estimate EI values. The EI values were subsequently compared with classical spectrometric assays for antioxidant evaluation [13-17].

The results presented in **Figures 1** and **2** shown two main patterns, which can be explained for the flexibility of production protocols [1-10].

Thus, many production procedures, *i.e.* SCOBY source, flavoring additives and operational parameters, such as pH and temperature control, can exert a relevant impact on redox profile. For instance, higher pH can lead to low redox stability, as well as to the development of unwanted microorganisms [1-6]. Yet, the use of additives such as fruits, coffee and other natural sources of polyphenols will increase the antioxidant power of this functional probiotic beverage [3, 10, 13-16, 17].

Furthermore, enzymes, including glucosidase, pectinase, xylanase, cellulase and glucanase, produced during fermentation degraded the oligomeric and polymeric polyphenolic compounds in tea into smaller polyphenols, such as catechin and gallic acid, thereby increasing the total phenol and flavonoid content in the Kombucha samples [4, 5, 18].

Though, the main Kombucha antioxidants are catechin and its derivatives, many others, electroactive compounds can be found, *i.e.* ascorbic, phenolic acids [1, 4, 6], thus impacting on the DPV profile. In fact, the samples herein evaluated have exhibited two patterns, one with three anodic peaks, being the first at E_{p1a} c.a. 0.35 V, the second at E_{p2a} c.a. 0.50 V, and the third at E_{p3a} c.a. 0.80 V (Figure 1A); the other with two anodic peaks, the first, at E_{p1a} c.a. 0.2 V, the second at E_{p2a} c.a. 0.75 V (Figure 1B).

The anodic peaks between 0.20 - 0.40 V are typical for catechin and other "catechol like flavonoids" (Figure 1); yet the anodic peaks at $E_{pa} \geq 0.6$ V are consistent with the presence of resorcinol and monophenol like moieties [13, 14, 15, 19- 22].

The oxidation of catechin occurs first reversibly, at the electron-donating 3',4'-dihydroxyl groups of catechol, at very low positive (Figure 1, 2 and 3). In turn, the hydroxyl groups of the resorcinol moiety are oxidized at more positive potentials and from an irreversible anodic process (Figure 1 and 3) [14, 15, 21, 22].

Nevertheless, the anodic peaks between 0.2 - 0.3 V are typical for any catechol and gallic acid like polyphenols, Figure 3; yet the anodic peaks at $E_{pa} \geq 0.6$ V are consistent with the presence of resorcinol and monophenol like moieties [13,14, 15, 23].

Moreover, the oxidation of polyphenols may precede electron transfer via the formation of a phenoxy radical (semiquinone) intermediate. Semiquinone is unstable and decays via dimerization or polycondensation reactions [14-17], with other present electroactive and non-electroactive compounds, thus leading to splitting and shoulders

DPV peaks (**Figure 1**). Also, the polysaccharides can exert indirect effect affecting diffusional process, by changing the medium viscosity, and also due binding properties [6, 14-17].

It is worth noting that the P and K samples produced in the lab used a SCOBY modified with hibiscus and honey, two potential sources of polyphenols, **Table 1** and **Figure 1B**. Furthermore, bioactive compounds such as epicatechin, catechin, caffeic acid, chlorogenic acid are produced or released during the metabolism of microorganisms involved in fermentation, affecting antioxidant, and redox profile.

The DPPH assay is based on an artificial electron-deficient radical that must react directly with the antioxidant compound [11]. The underlying reactions are complex, as they are dependent on variables, such as concentration and structure of the test compound, solvent and pHs. In general, electron transfer between the DPPH radical and the phenolic compound (antioxidant) is very fast, while hydrogen transfer is comparatively slow [20, 24].

When comparing the three spectrophotometric assays performed on the Kombucha samples, the FC method data indicated the same trend as those of FRAP, with a slightly more significant difference only in samples K and N. However, especially for samples A-F there are large differences between DPPH and the other assays, FC and FRAP, **Figure 4**.

The data indicated that all samples presented significant antioxidant activities, since the EI values were high. Samples A, B, D F and R presented an EI above $30 \mu\text{A}/\text{V}$, while the others presented values above $15 \mu\text{A V}^{-1}$. However, unlike the FC, FRAP and DPPH tests, the antioxidant activity is related to the presence and high concentration of phenolics, since the other components of the samples are not electroactive on CPE, such as sucrose, glucose, fructose, acetic acid, gluconic acid and glucuronic acid, ethanol or are in low concentrations such as vitamins and minerals. The results also indicated a CV of less than 8% for the EI values, indicating good precision for the electrochemical tests.

Previous studies have used comparisons of the antioxidant activity of foods from EI and traditional methods such as FC, FRAP and DPPH, in wines [8], walnut kernel extracts [9], however, EI has not been used for Kombucha samples.

The EI, FRAP, DPPH and FC assays statistical evaluation by means of ANOVA and Tukey calculation corroborate for no significant differences within the FC and FRAP ($p > 0.05$). The EI value has a significant difference between each other group ($p < 0.05$). The difference between the spectrophotometric assays and the electroanalytical EI parameter was expected, due to the difference in scale and the inverse proportionality. Furthermore, the radical scavenging DPPH group due the presence of chromogenic interfering substances in one third of samples, turned the overall correlation down, the other groups were equal in average. Additionally, an ANOVA test was performed with the normalized data, in which all data averages had no significant difference ($pH_0 = 0.31795$). Thus, the findings from each antioxidant capacity variable seem to be in agreement.

Besides the very well stated use of EI values for antioxidant evaluation, the voltametric methods can provide the complete electrochemical characterization of molecules and also food samples, unrevealing data about redox stability, redox reversibility, pro-oxidant and antioxidant character, and also to underestimate the tentative identification of electroactive species [13, 14, 15, 23-26].

5. Conclusions

The results highlight the advantages of electroanalytical approaches, on the antioxidant evaluation, when compared to traditional spectrometric methods.

The highest antioxidant capacity observed for commercial samples can be attributed to the use of additives. In fact, the highest antioxidant capacity of made in lab kombuchas, were also observed for samples, in

which the SCOBY were modified with some potential source of natural antioxidants, i.e coffee, honey, hibiscus.

These findings not only highlight the relevance of kombucha as a potential source of antioxidants, but also underscore the need to continue investigating and optimizing production conditions to maximize its health benefits.

Author Contributions: For research articles with several authors, a short paragraph specifying their individual contributions must be provided. The following statements should be used “Conceptualization, E.A.B.C and E.S.G; methodology, E.A.B.C; software, E.A.B.C and I.Y.M; validation, E.A.B.C and I.Y.M.; formal analysis, E.A.B.C; I.Y.M; M.O.A.P.; investigation, E.A.B.C; E.P.D.; resources, E.A.B.C; E.S.G, S.C.B.O; data curation, E.A.B.C; I.Y.M; M.O.A.P; J.C.G.S; writing—original draft preparation, E.A.B.C; M.C.S.C; A.P.M.O; S.C.B.O.; writing—review and editing, E.A.B.C; M.C.S.C; A.P.M.O; H.P.V.G; E.S.G; S.C.B.O; visualization, E.A.B.C; I.Y.M; M.O.A.P; J.C.G.S; E.S.G, S.C.B.O; supervision, E.A.B.C; E.S.G project administration, E.A.B.C; E.S.G, S.C.B.O, All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.” Please turn to the [CRediT taxonomy](#) for the term explanation. Authorship must be limited to those who have contributed substantially to the work reported.

Funding: Please add: “This research received no external funding” or “This research was funded by Brizze Kombucha. Check carefully that the details given are accurate and use the standard spelling of funding agency names at <https://lojabrizze.com.br/> Any errors may affect your future funding.

Data Availability Statement: We encourage all authors of articles published in MDPI journals to share their research data. In this section, please provide details regarding where data supporting reported results can be found, including links to publicly archived datasets analyzed or generated during the study. Where no new data were created, or where data is unavailable due to privacy or ethical

restrictions, a statement is still required. Suggested Data Availability Statements are available in section “MDPI Research Data Policies” at <https://www.mdpi.com/ethics>.

Acknowledgments: In this section, you can acknowledge any support given which is not covered by the author contribution or funding sections. This may include administrative and technical support, or donations in kind Brizze Kombuchas, Fundação de Amparo a Pesquisa de Goiás – FAPEG, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES. Where GenAI has been used for purposes such as generating text, data, or graphics, or for study design, data collection, analysis, or interpretation of data, please add “During the preparation of this manuscript/study, the author(s) used [Biorender, Origin 8] for the purposes of [To formulate graphs, images and graphic Abstract]. The authors have reviewed and edited the output and take full responsibility for the content of this publication.”

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.**Abbreviations** The following abbreviations are used in this manuscript:

CPE	Carbon Paste Electrode
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
DPV	Differential Pulse Voltammetry
EI	Electrochemical Index
FC	Folin-Ciocalteu
FDA	Food and Drug Administration
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
GAE	Gallic Acid Equivalents

GCE	Glassy Carbon Electrode
SWV	Square Wave Voltammetry
TPTZ	2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine

References

1. Greenwalt C, Steinkraus K, & Ledford R. Kombucha, the fermented tea: microbiology, composition, and claimed health effects. *Journal of food protection*, 63(7), 976–981, 2000. [<https://doi.org/10.4315/0362-028x-63.7.976>].
2. Mizuta A et al. Evaluation of antimicrobial activity of green tea kombucha at two fermentation time points against *Alicyclobacillus* spp. *Lwt*, 130, 109641, 2020. [<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109641>].
3. Wang B. Kombucha: Production and Microbiological Research, *Foods*. 2022 Oct 31;11(21):3456. [doi: 10.3390/foods11213456]. Author 1, A.B.; Author 2, C. Title of Unpublished Work. *Abbreviated Journal Name* year, *phrase indicating stage of publication (submitted; accepted; in press)*.
4. Cardoso R et al. Kombuchas from green and black teas have different phenolic profiles, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*, (128), 2020 [<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108782>]
5. Brazil, Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply. "Normative no. 41," In, edited by Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA. Brasília: Diário Oficial da União, September 17, 2019.
6. Villarreal-Soto S, et al. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review, *Journal of Food Science*, 83(3), 580-589, 2018. doi: 10.1111/1750-3841.14068.
7. Bishop, P. Pitts, E.R. Budner, D. Thompson-Witrick, K.A. Chemical Composition of Kombucha. *Beverages* 2022, 8, 45. <https://doi.org/10.3390/beverages8030045>
8. Lazzarotto S, et al. Método de Folin Ciocalteu adaptado para quantificar polifenóis em extratos de erva-mate. *Revista Movimenta*. 13(3), 419-426, ISSN:1984-4298, Colombo, PR, 2020.
9. Lino F, et al. Voltammetric and spectrometric determination of antioxidant capacity of selected wines, *Electrochimica*, 128, 25-31, 2014. [<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.08.109>].
10. Rufino M, et al. Comunicado técnico on-line: Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução de ferro (FRAP). Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA. ISSN 1679-6535, Fortaleza, CE, 2006.
11. Kim H, et al. Enhancement of the phenolic compounds and antioxidant activities of Kombucha prepared using specific bacterial and yeast. *Food Bioscience*, v. 56, p. 103431, 2023. [<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103431>]
12. Lobo R, Dias F, Shenoy C. Kombucha for healthy living: Evaluation of antioxidant potential and bioactive compounds. *International Food Research Journal*, 24(2), 541–546, 2017.
13. Gil E. & Couto R. Flavonoid electrochemistry: a review on the electroanalytical applications. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 23(3): 542-558. ISSN 0102-695, May/Jun. 2013.[doi10.1590/S0102-695X2013005000031].
14. Cavicchia A, Almeida M, Otávio L. Health benefits of Kombucha: drink and its biocellulose production, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences Braz. J. Pharm. Sci.* 58, e20766, 1-9, 2022. [<http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902022e20766>]
15. Morales D, et al. Novel kombucha beverages with antioxidant activity based on fruits as alternative substrates. *LWT*, Vol. 189, 115482, 2023, ISSN 0023-6438. [<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115482>].
16. Rufino M, et al. Comunicado técnico on-line: Metodologia científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre (DPPH). Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA. ISSN 1679-6535, Fortaleza, CE, 2007.
17. Chiorcea-Paquim A, et al. Natural phenolic antioxidants electrochemistry: Towards a new food science methodology. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2020 Jul;19(4):1680-1726. [doi: 10.1111/1541-4337.12566].

18. Ruiz-Caro, P, et al. An electrochemical alternative to evaluate the antioxidant capacity in almond and walnut extracts. *Food Chemistry*, v. 393, p. 133417, 2022. [https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000600024].
19. Pinto, U. Landgraf, M & Franco, B. Deterioração microbiana dos alimentos. *Microbiologia e higiene de alimentos: teoria e prática*, 2019.
20. Harrison K, Curtin C. Microbial Composition of SCOBY Starter Cultures Used by Commercial Kombucha Brewers in North America, *Microorganisms*. 2021 May 14;9(5):1060. doi: 10.3390/microorganisms9051060
21. Blasco A, González M. Escarpa A. Electrochemical approach for discriminating and measuring predominant flavonoids and phenolic acids using differential pulse voltammetry: towards an electrochemical index of natural antioxidants, *Analytica Chimica Acta*, 511(1), 71-81, 2004. [https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.01.038].
22. Escarpa A. Food electroanalysis: sense and simplicity, *Chem Rec*. 12(1):72-91, 2012. [doi: 10.1002/tcr.201100033].
23. CHENG, Z.; MOORE, J.; YU, L. High-Throughput Relative DPPH Radical Scavenging Capacity Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 54, n. 20, p. 7429-7436, 2006. [doi: 10.1021/jf0611668. PMID: 17002404].
24. Kim H, et al. Enhancement of the phenolic compounds and antioxidant activities of Kombucha prepared using specific bacterial and yeast. *Food Bioscience*, Volume 56, 103431, ISSN 2212-4292, 2023 [https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.10343].
25. Janeiro, P & Brett, AM. Mecanismos de oxidação eletroquímica da catequina. *Analytica acta*. V. 1-2, pág. 109-115, 2004. [https://doi101016/j.aca.2004.05.038].
26. ABDEL-HAMID, R. NEWAIR, EF. Electrochemical behavior of antioxidants: I. Mechanistic study of the electrochemical oxidation of gallic acid in aqueous solutions on a glassy carbon electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 657, n. 1-2, p. 107-112, 2011. [https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000100038].

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Biomarcadores eletroativos, como a catequina e o ácido gálico, representam promissores alvos para detecção e controle de qualidade em alimentos especialmente em chás e fermentados de *Camellia Sinensis*. Os resultados evidenciam as vantagens das abordagens eletroanalíticas na avaliação da capacidade antioxidante, especialmente quando comparadas aos métodos espectrométricos tradicionais da EMBRAPA.

A maior atividade antioxidante observada em amostras comerciais pode estar relacionada ao uso de aditivos oriundos do cerrado. Em contrapartida, as bebidas produzidas em laboratório, a partir de SCOBYS modificados com café ou hibisco, apresentaram menor capacidade antioxidante, indicando que as culturas puras tendem a promover maior atividade antioxidante após a fermentação.

Para avaliar a atividade antioxidante foi confeccionado um biossensor enzimático de *Cordia Superba* popularmente conhecida como baba de boi utilizando como material vegetal folhas, frutos verdes e maduros e galhos em solução em tampão fosfato pH 7,0 para preparar os biossensores com pasta de carbono e as enzimas obtidas com melhor resposta nos padrões fenólicos, sendo estes identificando majoritariamente ácido gálico e catequina.

Essas descobertas não apenas destacam a relevância do kombucha como uma fonte potencial de antioxidantes, mas também ressaltam a necessidade de continuar investigando e otimizando as condições de produção para maximizar seus benefícios à saúde. A disponibilidade de equipamentos que oferecem uma condição muito bem controlada mostrou-se um parâmetro relevante. Assim, os piores resultados foram observados em condições não otimizadas e não aromatizadas, dando resultados eletroanalíticos inferiores.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADZNI, S, HO,W, YEAP, S. ABDULLAH,S. KOH, S. Fermentation and characterisation of potential kombucha cultures on papaya-based substrates, *LWT*, 2021; Volume 151, 11206, ISSN 0023-6438, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112060>.
2. AFONSO, C, HIRANO, RS, GASPAR, AL.; et al. Biodegradable antioxidant chitosan films useful as an anti-aging skin mask. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2019, v. 132, p. 1262–1273. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.052>>.
3. AIN, NUL, SAFDAR, N, YASMIN, A. Additive-based stability assessment of biologically designed CuO and GSH-CuO nanospheres and their applicability as Nano-biosensors. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 2019, v. 178, p. 66–73. Elsevier B.V. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.02.048>>.
4. AL-QURASHI, AD, AWAD, MA. Postharvest ethanolic extract of propolis treatment affects quality and biochemical changes of ‘Hindi-Besennara’ mangos during shelf life. **Scientia Horticulturae**, 2018, 207, v. 233, n. November, p. 520–525. Elsevier. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.030>>.
5. ALEKSEJEVA, O, MATELJAK, I, LUDWIG, R, ALCALDE, M, SHLEEV, S. Electrochemistry of a high redox potential laccase obtained by computer-guided mutagenesis combined with directed evolution. **Electrochemistry Communications**, 2019, v. 106, n. April, p. 10651. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.elecom.2019.106511>>.
6. ALMEIDA, LC, CORREIA, RD, SQUILLACI, G et al. Electrochemical deposition of bio-inspired laccase-polydopamine films for phenolic sensors. **Electrochimica Acta**, 2019, v. 319, p. 462–471. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.06.180>>.
7. ALVES JUNIOR, L, SOUZA, A, HÖPNER, V. Comparação de métodos de linearização da equação de michaelis-menten da invertase de *Saccharomyces cerevisiae*. **Mostra nacional de iniciação científica-MICTI**, 2015 v. 8.

8. ALVES, T.; GIRARDI, R.; PINHEIRO, A. Micropoluentes orgânicos: ocorrência, remoção e regulamentação. **Revista de Gestão de Água da América Latina**, 2017, v. 14, n. 1, p. 1–1.
9. ANDRADE, L. et al. Pocket test for instantaneous quantification of starch adulterant in milk using a counterfeit banknote detection pen, **Food Chemistry**, 2023, Volume 405, Part A. 134844, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134844>.
10. ANDREI, V, SHARPE, E, VASILESCU, A, ANDREESCU, S. A single use electrochemical sensor based on biomimetic nanocerium for the detection of wine antioxidants. **Talanta**, 2016, v. 156–157, p. 112–118. Elsevier. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2016.04.067>>.
11. ANVISA. Guia para instrução processual de petição de avaliação de probióticos para uso em alimentos. ANVISA. Brasil: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2021, guia nº 21, versão 2.
12. APAK, R. et al. Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays. **Journal Agric. Food Chem.** 2016 Feb 10;64(5):997-1027. doi: 10.1021/acs.jafc.5b04739. Epub 2016 Jan 27. PMID: 26728425.
13. ARAÚJO NETO, J. Toxicidade do Oxigênio implicações clínicas. **Brazilian Journal of Anesthesiology**, 2020, v. 36, n. 6, p. 509-512.
14. ARRUDA, E. et al. Elaboração de kombucha e orientações sobre boas práticas de fabricação. **Alimentos: Ciência, tecnologia e Meio ambientes**, 2020, Vol. 2- n. 7. ISSN Eletrônico: 2675-2530.
15. ATKINS, P, DE PAULA, J. Físico-química. Rio de Janeiro: **LTC**, 2008. v. 2. ISBN 978- 85-216-1601-6.
16. AYED, L, BEN ABID, S, HAMDY, M. Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. *Annals of Microbiology*, 2017, 67, n. 1, p. 111-121, 2017/01/01.
17. BARBOSA, C, et al. Microbial–physicochemical integrated analysis of kombucha fermentation. **Lwt**, 2021 v. 148, p. 111788.
18. BATISTA, ÉA et al. Application of a voltammetric enzymatic biosensor based on crude extract of *marasmiellus colocasiae* for the detection of phenolic

- compounds in drinking water. **Revista Ambiente e água**, 2020 v. 15, n. 6, p. 1–10.
19. BATISTA, EA et al. Enzymatic Electroanalytical Biosensor Based on *Maramiellus colocasiae* Fungus for Detection of Phytomarkers in Infusions and Green Tea Kombucha. **Biosensors**, 2021 v. 11, n. 3.
20. BENACEUR, F, et al. Purification and characterization of catechol oxidase from Tadela (*Phoenix dactylifera L.*) date fruit. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2019 v. 125, p. 1248–1256, 2019.
21. BISHOP, P, et al. Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the chemical and flavor profile, **Food Chemistry Advances**, 2022, Volume 1, 100025, ISSN 2772-753X, <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100025>.
22. BIORENDER. *Caracterização da kombucha imagem, por BioRender.com. Disponível em: <https://app.biorender.com/biorender-templates> Acesso em: 30 de julho de 2024.*
23. BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N° 271, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para Açúcares e Produtos para Adoçar. Diário Oficial da União: Seção 1, Brasília, DF, p. 183, 23 set. 2005.
24. BRASIL. RDC n° 241, de 26 de julho de 2018. Diário Oficial da União, Brasília, 144, pp. 1.
25. BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n° 41 de 17 de setembro de 2019. Diário Oficial da União, Brasília.
26. BRASIL. Portaria de Consolidação n° 5 de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. **Ministério da Saúde**, 2017, p. 926. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/marco/29/PRC-5-Portaria-de-Consolida----o-n---5--de-28-de-setembro-de-2017.pdf>>.
27. BRASIL. Resolução da diretoriaa colegiada-RDC n° 219, de 27 de fevereiro de 2018. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, 2018, v. 1998, n. Dispõe sobre o regulamento de procedimentos para registro de alimentos com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem, p. 1–4.
28. BRASIL, A. RDC N°166, DE 24 DE JULHO DE 2017. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, 2017 p. 1–12.

29. BRITANNICA. Mapa de Manchúria Disponível em: <https://www.britannica.com/place/Manchukuo> Acesso em: 30 de julho de 2024.
30. BUGLAK, NE, JIANG, W, BAHNSON, ES. Cinnamic aldehyde inhibits vascular smooth muscle cell proliferation and neointimal hyperplasia in Zucker Diabetic Fatty rats. **Redox Biology**, 2018, v. 19, n. August, p. 166–178. Elsevier B.V. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.08.013>>.
31. CHEN, H.; LI, S.; WANG, S.; TAN, Y.; KAN, J. A new catechol biosensor immobilized polyphenol oxidase by combining electropolymerization and cross-linking process. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, 2013, v. 62, n. 12, p. 620–626.
32. COELHO, RM et al. Kombucha: Review. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, 2020, v. 22, n. July, p. 100272. Elsevier B.V. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100272>>.
33. CRUM, H, LAGORY, A, KATZ, SE. The big book of kombucha: brewing, flavoring, and enjoying the health benefits of fermented tea. **Storey Publishing**, 2016. 400 p. 9781612124353
34. DADA, A, et al. Characterization of kombucha from green tea. **Research, Society and Development**, 2021, [S. l.], v. 10, n. 15, p. e576101522992. DOI: 10.33448/rsd-v10i15.22992. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/22992>.
35. DE ASSIS, A, et al. Avaliação dos rótulos e caracterização físico-química de Kombuchas comercializados no município de Duque de Caxias-RJ. **Research, Society and Development**, 2022, v. 11, n. 11, p. e234111133691-e234111133691.
36. DE FILIPPIS F, et al. Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during Kombucha tea fermentation. **Food Microbiol.** 2018 Aug;73:11-16. doi: 10.1016/j.fm.2018.01.008. Epub Jan 9. PMID: 29526195.
37. DE OLIVEIRA, J. et al. Proteinose alveolar pulmonar: Relato de caso. **Brazilian Journal of Health Review**, 2021, v. 4, n. 5, p. 21599-21604.

38. CHEN, H, et al. A new catechol biosensor immobilized polyphenol oxidase by combining electropolymerization and cross-linking process. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, 2013 v. 62, n. 12, p. 620–626.
39. FOPASE, R. Strategies, challenges and opportunities of enzyme immobilization on porous silicon for biosensing applications. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 2020 v. 8, n. 5, p. 104266. Elsevier. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213343720306151>>.
40. FAO/WHO. Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. **Guideliness**, 2024. v.85.
41. FARAG, M, et al. Metabolomics reveals impact of seven functional foods on metabolic pathways in a gut microbiota model. **Journal of Advanced Research**, 2020 v. 23, p. 47–59. Cairo University. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.01.001>>.
42. FATIBELLO-FILHO, O, et al. Eletroanálises: aspectos teóricos e práticos. **EdUFSCar**, 2022.
43. FIRMINO, LA, MIRANDA, MP. Polifenóis totais e flavonoides em amostras de chá verde (*Camellia sinensis L.*) de diferentes marcas comercializadas na cidade de Salvador-BA. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 2015, v. 17, n. 3, p. 436–443.
44. FREEPIK. Imagens da tese Disponível em: https://br.freepik.com/vetores-premium/mapa-3d-relacoes-franca-e-alemanha_12833578.htm Acesso em: 30 de julho de 2024.
45. GALVÃO, J. Método voltamétrico para quantificação do 17 β -estradiol utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de Fe₂O₃ suportadas sobre nanotubos de carbono. 2024.
46. GIL, ES, et al. Antioxidant Activity of Commercial Kombuchas by Electrochemical Index. **Available at SSRN 4839299, 2020.**
47. GOMES, L, et al. Determinação Potenciométrica e Condutimétrica de Carbonato de Lítio em Comprimido Antidepressivo: Uma Sugestão de Prática Para o Ensino de Química Analítica Instrumental. **Revista Virtual de Química**, 2024, v. 16, n. 2.

48. GUARNER, F. et al. Probióticos e Prebióticos. Diretrizes Mundiais da Organização Mundial de Gastroenterologia, 2017.
49. GREENWALT, CJ, LEDFORD, RA, STEINKRAUS, KH. Determination and characterization of the antimicrobial activity of the fermented tea kombucha. **LWT - Food Science and Technology**, 1998, 31, n. 3, p. 291-296.
50. HAN, Q. Y.; LIU, F.; LI, M.; WANG, K. L.; NI, Y. Y. Comparison of biochemical properties of membrane-bound and soluble polyphenol oxidase from Granny Smith apple (*Malus × domestica* Borkh). **Food Chemistry**, 2019, v. 289, n. 17, p. 657–663.
51. HASSLER, V et al. Isolation and characterization of exopolysaccharides from kombucha samples of different origins, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, Volume 267, Part 1, 131377, ISSN 0141-8130, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131377>.
52. HERVÁS PÉREZ, JP, et al. Amperometric tyrosinase biosensor based on polyacrylamide microgels. **Biosensors and Bioelectronics**, 2006, v. 22, n. 3, p. 429–439.
53. HIBBETT, DS, et al. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. **Mycological Research**, 2007, v. 111, n. 5, p. 509–547.
54. HUSSAIN, SN, et al. Disinfection performance of adsorption using graphite adsorbent coupled with electrochemical regeneration for various microorganisms present in water. **Journal of industrial and Engineering Chemistry**, 2016, v. 44, p. 216–225. The Korean Society of industrial and Engineering Chemistry. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2016.09.009>>.
55. HOSU, A, CRISTEA, VM, CIMPOIU, C. Analysis of total phenolic, flavonoids, anthocyanins and tannins content in Romanian red wines: Prediction of antioxidant activities and classification of wines using artificial neural networks. **Food Chemistry**, 2014, v. 150, p. 113–118. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.153>>.
56. Huang D. OU, B. & Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agriculture Food Chem.** 2005 Mar 23;53(6):1841-56. doi: 10.1021/jf030723c. PMID: 15769103.

57. IUPAC. Biosensor. **Glossário para químicos de termos usados em biotecnologia (Recomendações da IUPAC 1992)**, 1992, v. 148, p. 2014.
58. JAIN, A, SENGUPTA, SD. Effect of process parameters on aqueous extraction of thymol and other phytonutrients from herbal seed Ajwain (*Trachyspermum ammi* L.). **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, 2018, v. 11, n. March, p. 27–36. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.09.001>>.
59. JANSEN, C, et al. Metabolomic kinetics investigation of *Camellia sinensis* kombucha using mass spectrometry and bioinformatics approaches. **Heliyon**, 2024 Volume 10, Issue 7, e 28937, ISSN 2405-8440, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e28937>.
60. JARRELL, J, CAL, T, BENNETT, J. The kombucha consortia of yeasts and bacteria. **Mycologist**, 2000, v. 14, n. 4, p. 166-170.
61. JAYABALAN, R.; MARIMUTHU, S.; SWAMINATHAN, K. Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. **Food Chemistry**, 2007, 102, n. 1, p. 392-398.
62. JAYABALAN, et al. Biochemical characteristics of tea fungus produced during kombucha fermentation. **Food Science and Biotechnology**, 2010, 19, n. 3, p. 843-847.
63. JAYABALAN, R, et al. A review on kombucha tea - Microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. Comprehensive Reviews in **Food Science and Food Safety**, 2014, 13, n. 4, p. 538-550.
64. JIA, W.; SHI, L.; ZHANG, F.; CHANG, J.; CHU, X. High-throughput mass spectrometry scheme for screening and quantification of flavonoids in antioxidant nutraceuticals. **Journal of Chromatography A**, 2019, v. 1608, n. , p. 460408, 2019. Elsevier B.V. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460408>>.
65. JIANG, H, et al. Dynamic change in amino acids, catechins, alkaloids, and gallic acid in six types of tea processed from the same batch of fresh tea (*Camellia sinensis* L.) leaves. **Elsevier Inc.**, 2019.

66. KAPP, J, SUMNER, W. Kombucha: A systematic review of the empirical evidence of human health benefit. **Annals of epidemiology**, v. 30, p. 66-70, 2019.
67. KARAMI, C, TAHER, MA. A catechol biosensor based on immobilizing laccase to Fe₃O₄ @Au core-shell nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2019 v. 129, p. 84–90. Elsevier B.V. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.015>>.
68. KHATAIBEH, M. Cinnamon modulates biochemical alterations in rats loaded with acute restraint stress. **Journal of Saudi Chemical Society**, 2016, v. 20, p. S411–S414. King Saud University. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jscs.2012.12.015>>.
69. KIM, H, et al. Enhancement of the phenolic compounds and antioxidant activities of Kombucha prepared using specific bacterial and yeast. **Food Bioscience**, v. 56, p. 103431, 2023.
70. KILMANOGLU, H, YIGIT, A, DURAK, M. Evaluation of microbiota-induced changes in biochemical, sensory properties and volatile profile of kombucha produced by reformed microbial community, **Food Chemistry**, 2024, Volume 22, 101469, ISSN 2590-1575, <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101469>.
71. KHODABAKHSHIAN, R. Feasibility of using Raman spectroscopy for detection of tannin changes in pomegranate fruits during maturity. **Scientia Horticulturae**, 2019, v. 257, n. July, p. 108670. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108670>>.
72. LATTANZIO, VG, et al. Signal transduction in artichoke [*Cynara cardunculus L.* subsp. *scolymus (L.) Hayek*] callus and cell suspension cultures under nutritional stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, 2018, v. 127, n. February, p. 97–103.
73. LAU, B. F.; ABDULLAH, N.; AMINUDIN, N.; LEE, H. B.; TAN, P. J. Ethnomedicinal uses, pharmacological activities, and cultivation of *Lignosus* spp. (tiger's milk mushrooms) in Malaysia - A review. **Journal of Ethnopharmacology**, 2015, v. 169, p. 441–458. Elsevier. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.04.042>>.

74. LAZZAROTTO, SR, et al. Método de *folin ciocalteau* adaptado para quantificar polifenóis em extratos de erva-mate. **Revista Movimenta**, 2020. 13(3), 419-426. ISSN:1984 4298.
75. LEE, CC, et al. Comprehensive phenolic composition analysis and evaluation of Yak-Kong soybean (*Glycine max*) for the prevention of atherosclerosis. **Food Chemistry**, 2017, v. 234, p. 486–493. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.012>>.
76. LEONARDIS, A, et al. Evidence of oleuropein degradation by olive leaf protein extract. **FOOD CHEMISTRY**, 2015v. 175, p. 568–574. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.016>>.
77. LI, S, et al. Soluble dietary fiber and polyphenol complex in lotus root: Preparation, interaction and identification. **Food Chemistry**, 2020, v. 314, p. 126219. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126219>>.
78. LIU, X, et al. Structural characterization and comparison of enzymatic and deep eutectic solvents isolated lignin from various green processes: Toward lignin valorization. **Bioresource Technology**, 2020, v. 310, n. April, p. 123460. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123460>>.
79. LOPEZ, JC. Development of an enzymatic biosensor to determine eugenol in dental samples. **Talanta**, 2020, v. 210, n. December 2019, p. 120647. Elsevier B.V. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120647>>.
80. MADUSHAN, R, et al. Use of natural plant extracts as a novel microbiological quality indicator in raw milk: An alternative for resazurin dye reduction method, **LWT**, 2021 Volume 144, 111221, ISSN 0023-6438, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111221>.
81. MAHMOUD, FD, et al. Effect of Diabetea tea™ consumption on inflammatory cytokines and metabolic biomarkers in type 2 diabetes patients. **Journal of Ethnopharmacology**, 2016 v. 194, p. 1069–1077. Elsevier. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.10.073>>.
82. MAGRO, M, et al. Electrocatalytic nanostructured ferric tannate as platform for enzyme conjugation: Electrochemical determination of phenolic compounds.

- Bioelectrochemistry**, 2020, v. 132, p. 107418, 2020. Elsevier B.V. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2019.107418>>.
83. MALEKI, N. A novel enzyme based biosensor for catechol detection in water samples using artificial neural network. **Biochemical Engineering Journal**, 2017, v. 128, p. 1–11. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bej.2017.09.005>>.
84. MARTINS, AR. Representação do efeito de inibição enzimática reversível para o modelo cinético de Michaelis-Menten no estado transiente. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, n. 2, p. 112–120, 2015.
85. MERCADO, Y. et al. Desenvolvimento e validação de método voltamétrico para determinação de bisfenol A em amostras de água mineral. **Matéria (Rio de Janeiro)**, 2024, v. 29, p. e20230371, 2024.
86. MIZUTA, AG et al. Evaluation of antimicrobial activity of green tea kombucha at two fermentation time points against *Alicyclobacillus spp.* **Lwt**, 2020 v. 130, p. 109641. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109641>>.
87. MOLLANIA, N, et al. Catalytic activation of Bacillus laccase after temperature treatment: Structural & biochemical characterization. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2018, v. 109, p. 49–56. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.003>>.
88. MORALES, D. Biological activities of kombucha beverages: The need of clinical evidence. **Trends in Food Science & Technology**, 2020, v. 105, p. 323-333.
89. MOREIRA, G, et al. Kombucha tea improves glucose tolerance and reduces hepatic steatosis in obese mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 2022, Volume 155, 113660, ISSN 0753-3322, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113660>.
90. MUNIANDY, P. Influence of green , white and black tea addition on the antioxidant activity of probiotic yogurt during refrigerated storage. **Food Packaging and Shelf Life**, 2016, v. 8, p. 1–8. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2016.02.002>>.
91. NANDIYANTO, A.B.D. YULIATI, L., & OKTIANI, R. How to Calculate and Measure Solution Concentration using UV-Vis Spectrum Analysis: Supporting

- Measurement in the Chemical Decomposition, Photocatalysis, Phytoremediation, and Adsorption Process. **IJoST** 8(2), 348, 2023. DOI:10.17509/ijost.v8i2.57783.
92. OLIVEIRA, A. de et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, pág. 689-702, 2009.
93. OLIVEIRA NETO, JR, et al. Electroanalysis and laccase-based biosensor on the determination of phenolic content and antioxidant power of honey samples. **Food Chemistry**, 2017, v. 237, p. 1118–1123.
94. PEREIRA, V, et al. A Review of Selection Criteria for Starter Culture Development in the Food Fermentation Industry. **Food Reviews International**, 2019, 1–33, doi:10.1080/87559129.2019.1630636
95. PEREIRA, C. Assessing tyrosol and hydroxytyrosol in Portuguese monovarietal olive oils: Revealing the nutraceutical potential by a combined spectroscopic and chromatographic techniques - based approach. **Lwt**, 2020, v. 118, p. 108797. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108797>>.
96. RADULESCU, MC et al. Ester flavorants detection in foods with a bienzymatic biosensor based on a stable Prussian blue-copper electrodeposited on carbon paper electrode. **Talanta**, 2019, v. 199, p. 541–546. Elsevier B.V. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.02.094>>.
97. REY, J et al. Tourdot-Maréchal, R. Grandvalet, C. Exploring the role of production and release of proteins for microbial interactions in kombucha, **LWT**, 2024, Volume 198, 116016, ISSN 0023 6438, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116016>.
98. RIAZ, M et al. Mechanisms of organic acids and boron induced tolerance of aluminum toxicity: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 2018, v. 165, n. August, p. 25–35. Elsevier Inc. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.08.087>>.
99. RODRÍGUEZ-CASTRO, R, et al. Cocoa Mucilage as a Novel Ingredient in Innovative Kombucha Fermentation. **Foods**, 2024, v. 13, n. 11, p. 1636.
100. RODRIGUES, MJ et al. South African Journal of Botany Coupling sea lavender (*Limonium algarvense Erben*) and green tea (*Camellia sinensis* (L .) Kuntze) to produce an innovative herbal beverage with enhanced enzymatic

- inhibitory properties. **South African Journal of Botany**, 2019, v. 120, p. 87–94. South African Association of Botanists. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.12.003>>.
101. RUFINO, MS, et al. Comunicado técnico on-line: Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução de ferro (FRAP). **EMBRAPA- Empresa brasileira de pesquisa agropecuária**, 2006. ISSN 1679-6535, Fortaleza, CE.
102. RUFINO, MS. Comunicado técnico on-line: Metodologia científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre (DPPH). **EMBRAPA- Empresa brasileira de pesquisa agropecuária**. 2007, ISSN 1679-6535, Fortaleza, CE.
103. SABELA, M, et al. Electrochemical sensing platform amplified with a nanobiocomposite of L-phenylalanine ammonia-lyase enzyme for the detection of capsaicin. **Biosensors and Bioelectronics**, 2016, v. 83, p. 45–53. Elsevier. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2016.04.037>>.
104. SANNAPANENI, S. Induced Massive Hepatic Necrosis: A Case Report and a Review of Literature, **Gastro Hep Advances**, 2023, Volume 2, Issue 2, Pages 196-198, ISSN 2772-5723, <https://doi.org/10.1016/j.gastha.2022.09.014>.
105. SANTOSA, SJ, et al. Gallic and salicylic acid-functionalized Mg/Al hydrotalcite as highly effective materials for reductive adsorption of AuCl₄⁻. **Applied surface science**, 2020, v. 507, n. P. 145115. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.145115>>.
106. SENTHIVELAN, et al. Screening and production of a potential extracellular fungal laccase from *Penicillium chrysogenum*: Média optimization by response surface methodology (RSM) and central composite rotatable design (CCRD). **Biotechnology Reports**, 2019 v. 23, p. e00344. Elsevier B.V. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00344>>.
107. SETHURAMAN, V, et al. Fabrication of an efficient polyaniline-polyphenol oxidase based biosensor for catechol. **Analytical Methods**, 2013, v. 5, n. 22, p. 6523–6530.
108. SETHURAMAN, V, et al. A highly sensitive electrochemical biosensor for catechol using conducting polymer reduced graphene oxide–metal oxide

- enzyme modified electrode. **Biosensors and Bioelectronics**, 2016, v. 84, p. 112–119. Elsevier. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2015.12.074>>.
109. SIGONA, C, et al. Role of bacterivorous organisms on fungal-based systems for natural tannin degradation. **Heliyon**, 2020, v. 6, n. 4, p. e03604. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03604>>.
110. SILVA, AL et al. Determinação de catequinas por eletrodo de carbono impresso modificado com nanotubo de carbono funcionalizado. **Aclética química**, 2015, v. 40, p. 52–61.
111. SILVA, C. Espécies reativas e a ação dos antioxidantes. **Revista saúde em foco**, 2019, Edição nº 11.
112. SILVA, J. Produção e avaliação comparativa da atividade antioxidante de bebidas fermentadas de caju sob diferentes condições de pH e temperatura. **Perspectivas da ciência e Tecnologia**, 2020, v. 12.
113. SILVA-NETO, H, et al. 3D printing of electrochemical cell for voltammetric detection and photodegradation monitoring of folic acid in juice samples, **Food Chemistry**, 2024, Volume 444, 138677, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138677>.
114. SIMÓN-HERRERO, C, et al. Immobilized laccase on polyimide aerogels for removal of carbamazepine. **Journal of Hazardous Materials**, 2019, v. 376, n. January, p. 83–90. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.05.032>>.
115. SHARIFUDIN, S, et al. Fermentation and characterisation of potential kombucha cultures on papaya-based substrates. **Lwt**, 2021, v. 151, p. 112060.
116. SKOOG, D. et al. *Fundamentals of Analytical Chemistry* (9th ed.). Cengage Learning, 2014.
117. SZCZUREK, A, et al. Carbon aerogels prepared by autocondensation of flavonoid tannin. **Carbon Resources Conversion**, 2019, v. 2, n. 1, p. 72–84. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.crcon.2019.02.001>>.
118. THEVENOT, D, et al. Electrochemical biosensors : recommended definitions and classification To cite this version : HAL Id : hal-01084678 Technical report

- Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. **Biosensors and Bioelectronic**, 2021, p. 121–131.
119. TRAN, T, et al. Microbiological and technological parameters impacting the chemical composition and sensory quality of kombucha. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 2020, 19, n. 4, p. 2050-2070.
120. UBA, A. et al. Discovery of novel inhibitors of histone deacetylase 6: Structure-based virtual screening, molecular dynamics simulation, enzyme inhibition and cell viability assays, **Life Sciences**, 2024, Volume 338, 122395, ISSN 0024-3205.
121. VALENTE, IM et al. Unravelling the phytonutrients and antioxidant properties of European *Vicia faba* L. seeds. **Food Research International**, 2019, v. 116, p. 888–896. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.025>>.
122. VARÇIN, M, ŞENER, B, BAYRAÇ, C. Adsorption of resazurin by poly(acrylic acid) hydrogels and evaluation of its use in reduction assay for quantification of cell viability. **Dyes and Pigments**, 2021, Volume 186, 109038, ISSN 0143-7208, <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.109038>.
123. VILLARREAL-SOTO, SA, et al. Understanding kombucha tea fermentation: A review. **Journal of Food Science**, 2018, 83, n. 3, p. 580-588.
124. VILLARREAL-SOTO, SA, et al. Impact of fermentation conditions on the production of bioactive compounds with anticancer, anti-inflammatory and antioxidant properties in kombucha tea extracts. **Process Biochemistry**, 2019, 83, p. 44-54.
125. VILLARREAL-SOTO, S, A. Metabolomemicrobiome signatures in the fermented beverage, Kombucha. **International Journal of Food Microbiology**, 2020, 333, p. 108778.
126. VIZZOTTO, E. Radicais livres e mecanismos de proteção antioxidante. **Fundamentos Bioquímicos dos Transtornos Metabólicos**, 2017, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 10 p.
127. WANG, B, et al. Isolation and characterisation of dominant acetic acid bacteria and yeast isolated from Kombucha samples at point of sale in New

- Zealand, Current Research in **Food Science**, Volume 5, 2022, Pages 835-844, ISSN 2665-9271, <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.04.013>.
128. YANG, J, et al. Microbial and Chemical Profiles of Commercial Kombucha Products. **Nutrients**, 2022, 14, n. 3.
129. YILMAZ, YS et al. 4-aminothiophenol-intercalated montmorillonite: Organic-inorganic hybrid material as an immobilization support for biosensors. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 307, n. September, 2019, p. 127665, 2020. Elsevier. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.127665>>.
130. XU S, et al. Revealing the microbial diversity and volatile flavor formation in finger citron kombucha by metagenomic and GC-MS analysis, **Food Bioscience**, 2024, Volume 59, 104087, ISSN 2212-4292, <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104087>.
131. ZHOU, MX, et al. Identification of novel Nrf2 activators from *Cinnamomum chartophyllum* H.W. Li and their potential application of preventing oxidative insults in human lung epithelial cells. **Redox Biology**, 2017, v. 14, n. September, p. 154–163, 2018. Elsevier B.V. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.09.004>>.
132. ZHU, J et al. Comprehensive co-expression analysis provides novel insights into temporal variation of flavonoids in fresh leaves of the tea plant (*Camellia sinensis*), **Plant Science**, 2020, Volume 290, 110306, ISSN 0168-9452, <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110306>.

ANEXOS – Normas dos Artigos

Título: Normas de submissão de artigos da Biosensor MDPI

Tipos de Publicações

Detalhes experimentais completos devem ser fornecidos para que os resultados possam ser reproduzidos. A *Biosensors* exige que os autores publiquem todos os controles experimentais e disponibilizem conjuntos de dados completos sempre que possível (veja as diretrizes em Materiais Suplementares e referências a dados não publicados).

Manuscritos submetidos à *Biosensors* não devem ter sido publicados anteriormente nem estar sob consideração para publicação em outro periódico. Os principais tipos de artigos estão listados abaixo e uma lista abrangente de tipos de artigos pode ser encontrada [aqui](#) — observe que nem todos os tipos de artigos estão disponíveis para todas as disciplinas.

Artigo: Estes são manuscritos de pesquisa originais. O trabalho deve relatar experimentos cientificamente sólidos e fornecer uma quantidade substancial de novas informações. O artigo deve incluir as referências mais recentes e relevantes no campo. A estrutura deve incluir seções de Resumo, Palavras-chave, Introdução, Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Conclusões (opcional).

Revisão: As revisões oferecem uma análise abrangente da literatura existente dentro de um campo de estudo, identificando lacunas ou problemas atuais. Elas devem ser críticas e construtivas e fornecer recomendações para pesquisas futuras. Nenhum dado novo e não publicado deve ser apresentado. A estrutura pode incluir um Resumo, Palavras-chave, Introdução, Seções Relevantes, Discussão, Conclusões e Direções Futuras.

Um tipo de Revisão de Escopo pode ser enviado como uma Revisão. A estrutura é semelhante à de uma revisão. As revisões de escopo devem seguir estritamente a extensão PRISMA para lista de verificação de revisões de escopo (<https://www.prisma-statement.org/scoping>) e enviar a lista de verificação como material não publicado durante o envio. Os modelos para o diagrama de fluxo podem

ser baixados do site PRISMA e o diagrama deve ser incluído no texto principal. Nós encorajamos fortemente os autores a registrar seus protocolos detalhados, antes do início da extração de dados, em um registro público como o Open Science Framework (<https://osf.io/>) ou Inplasy (<https://inplasy.com/>). Os autores devem incluir uma declaração sobre seguir as diretrizes PRISMA e informações de registro (se disponíveis) na seção Métodos.

Processo de Submissão

Manuscritos para *Biosensors* devem ser enviados on-line em susy.mdpi.com . O autor que envia, que geralmente é o autor correspondente, é responsável pelo manuscrito durante o processo de envio e revisão por pares. O autor que envia deve garantir que todos os coautores elegíveis tenham sido incluídos na lista de autores (leia os critérios para se qualificar para autoria) e que todos tenham lido e aprovado a versão enviada do manuscrito. Para enviar seu manuscrito, registre-se e faça login no site de envio . Depois de se registrar, clique aqui para acessar o formulário de envio para *Biosensors* . Todos os coautores podem ver os detalhes do manuscrito no sistema de envio, se eles se registrarem e fizerem login usando o endereço de e-mail fornecido durante o envio do manuscrito.

Formatos de arquivo aceitos

Os autores são encorajados a usar o modelo do Microsoft Word ou o modelo LaTeX para preparar seu manuscrito. Usar o arquivo de modelo encurtará substancialmente o tempo para concluir a edição de cópias e a publicação de manuscritos aceitos. A quantidade total de dados para todos os arquivos não deve exceder 120 MB. Se isso for um problema, entre em contato com o Editorial Office biosensors@mdpi.com . Os formatos de arquivo aceitos são:

Microsoft Word: Manuscritos preparados no Microsoft Word devem ser convertidos em um único arquivo antes do envio. Ao preparar manuscritos no Microsoft Word, recomendamos que você use o arquivo de modelo *Biosensors_Microsoft Word* . Insira seus gráficos (esquemas, figuras, etc) no texto principal após o parágrafo de sua primeira citação.

LaTeX: Manuscritos preparados em LaTeX devem ser reunidos em uma pasta ZIP (incluindo todos os arquivos de origem e imagens, para que o Editorial Office possa recompilar o PDF enviado). Ao preparar manuscritos em LaTeX, recomendamos que você use os arquivos de modelo LaTeX da *Biosensors*. Agora você também pode usar o aplicativo online writeLaTeX para enviar artigos diretamente para a *Biosensors*. O arquivo de modelo MDPI LaTeX deve ser selecionado na galeria de modelos writeLaTeX.

Arquivos suplementares: podem estar em qualquer formato, mas é recomendável que você use formatos comuns e não proprietários sempre que possível (veja abaixo para mais detalhes).

Isenção de responsabilidade: o uso desses modelos é destinado exclusivamente ao envio ao periódico para revisão por pares é estritamente limitado a essa finalidade, não podendo ser usados para publicação online em servidores de pré-impressão ou outros sites.

Submissão em formato livre

A *Biosensors* agora aceita submissões em formato livre: Não temos requisitos rígidos de formatação, mas todos os manuscritos devem conter as seções necessárias: Informações do autor, Resumo, Palavras-chave, Introdução, Materiais e métodos, Resultados, Conclusões, Figuras e tabelas com legendas, Informações de financiamento, Contribuições do autor, Conflito de interesses e outras declarações éticas. Verifique as *Instruções do periódico para autores* para obter mais detalhes.

Suas referências podem estar em qualquer estilo, desde que você use a formatação consistente em todo o texto. É essencial incluir o(s) nome(s) do(s) autor(es), título do periódico ou livro, título do artigo ou capítulo (quando necessário), ano de publicação, volume e edição (quando apropriado) e paginação. Os números DOI (Digital Object Identifier) não são obrigatórios, mas altamente recomendados. O pacote de software de bibliografia *EndNote*, *Zotero*, *Mendeley*, *Reference Manager* são recomendados.

Quando seu manuscrito chegar à fase de revisão, você será solicitado a formatar o manuscrito de acordo com as diretrizes do periódico.

Carta de apresentação

Uma carta de apresentação deve ser incluída com cada submissão de manuscrito. Ela deve ser concisa e explicar por que o conteúdo do artigo é significativo, colocando as descobertas no contexto do trabalho existente. Ela deve explicar por que o manuscrito se encaixa no escopo do periódico.

Quaisquer submissões anteriores do manuscrito para periódicos MDPI devem ser reconhecidas. Se esse for o caso, é altamente recomendável que o ID do manuscrito anterior seja fornecido no sistema de submissão, o que facilitará seu processo de submissão atual. Os nomes dos revisores propostos e excluídos devem ser fornecidos no sistema de submissão, não na carta de apresentação.

Todas as cartas de apresentação devem incluir as seguintes declarações:

Confirmamos que nem o manuscrito nem qualquer parte de seu conteúdo estão atualmente sob consideração para publicação ou foram publicados em outro periódico.

Todos os autores aprovaram o manuscrito e concordam com sua submissão à *Biosensors*.

Identificação do autor

Os autores são encorajados a adicionar uma biografia (300–1500 caracteres) à submissão e enviá-la para o SciProfiles . Deve ser um único parágrafo e deve conter os seguintes pontos:

Nomes completos dos autores seguidos dos cargos atuais;

Histórico educacional, incluindo informações sobre a instituição e ano de graduação (tipo e nível de diploma recebido);

Experiência de trabalho;

Interesses de pesquisa atuais e anteriores;

Associações a sociedades profissionais e prêmios recebidos.

Se um manuscrito for aceito para publicação, adicionaremos um ícone com link para seu perfil ORCID online na versão final do artigo publicado.

Afiliação do autor

Todos os autores devem listar sua afiliação atual e a afiliação onde a maioria das pesquisas foi realizada para a preparação de seu manuscrito. Recomendamos adicionar como principal a afiliação onde a maioria das pesquisas foi conduzida ou apoiada, mas verifique com sua instituição quaisquer requisitos de acordo contratual.

É muito importante que os nomes e afiliações dos autores estejam corretos. Informações incorretas podem significar falta de atribuição adequada ou citação incorreta e podem até levar a problemas com promoção ou financiamento. Após a publicação de um artigo, atualizações ou correções no endereço ou afiliação do autor podem não ser permitidas.

Pesquisador Independente

Se um ou todos os autores não estiverem atualmente afiliados a uma universidade, instituição ou empresa, ou não estiverem durante o desenvolvimento do manuscrito, eles devem se listar como “Pesquisadores Independentes”.

[Retornar ao topo]

Preparação do manuscrito considerações gerais

Os manuscritos de pesquisa devem compreender: Matéria inicial : Título, Lista de autores, Afiliações, Resumo, Palavras-chave.

Seções do manuscrito de pesquisa : Introdução, Materiais e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões (opcional).

Material complementar : Materiais suplementares, Agradecimentos, Contribuições dos autores, Conflitos de interesse, Referências .

Os manuscritos de revisão devem compreender:

Matéria inicial : Título, Lista de autores, Afiliações, Resumo, Palavras-chave.

Seções de revisão: uma revisão de literatura organizada logicamente dentro de seções e subseções específicas (opcional).

Material complementar : Agradecimentos, Contribuições dos autores, Conflitos de interesse, Referências .

O arquivo de modelo também pode ser usado para preparar a parte frontal e traseira do seu manuscrito de revisão. Não é necessário seguir a estrutura restante.

Revisões estruturadas e meta-análises devem usar a mesma estrutura dos artigos de pesquisa e devem garantir que estejam em conformidade com as diretrizes PRISMA .

Resumo gráfico:

Um resumo gráfico (GA) é uma imagem que aparece ao lado do resumo do texto no Índice. Além de resumir o conteúdo, ele deve representar o tópico do artigo de uma forma que chame a atenção. Além disso, não deve ser exatamente o mesmo que a Figura no artigo ou apenas uma simples superposição de várias subfiguras. Observe que o GA deve ser uma arte original e não publicada. Quaisquer selos postais, moeda de qualquer país ou itens de marca registrada não devem ser incluídos nele.

O GA deve ser uma ilustração ou diagrama de alta qualidade em qualquer um dos seguintes formatos: PNG, JPEG ou TIFF. O texto escrito em um GA deve ser claro e fácil de ler, usando uma das seguintes fontes: Times, Arial, Courier, Helvetica, Ubuntu ou Calibri.

O tamanho mínimo necessário para o GA é 560 × 1100 pixels (altura × largura). O tamanho deve ser de alta qualidade para reproduzir bem.

Siglas/Abreviações/Iniciais devem ser definidas na primeira vez que aparecem em cada uma das três seções: o resumo; o texto principal; a primeira figura ou tabela. Quando definido pela primeira vez, a sigla/abreviação/inicialismo deve ser adicionado entre parênteses após a forma escrita.

Unidades SI (Sistema Internacional de Unidades) devem ser usadas. Unidades imperiais, usuais dos EUA e outras devem ser convertidas para unidades SI sempre que possível.

Os números de acesso de sequências de RNA, DNA e proteína usadas no manuscrito devem ser fornecidos na seção Materiais e Métodos. Veja também a seção sobre Deposição de Sequências e Dados de Expressão .

Equações: Se você estiver usando o Word, use o Microsoft Equation Editor ou o complemento MathType. As equações devem ser editáveis pelo escritório editorial e não devem aparecer em um formato de imagem.

Dados de Pesquisa e materiais suplementares: Observe que a publicação do seu manuscrito implica que você deve disponibilizar todos os materiais, dados e protocolos associados à publicação aos leitores. Divulgue no estágio de submissão quaisquer restrições sobre a disponibilidade de materiais ou informações. Leia as informações sobre Materiais Suplementares e Depósito de Dados para diretrizes adicionais.

Pré-registro: Quando os autores tiverem pré-registrado estudos ou planos de análise, os links para o pré-registro devem ser fornecidos no manuscrito.

Diretrizes e padrões: O MDPI segue padrões e diretrizes para certos tipos de pesquisa. Veja https://www.mdpi.com/editorial_process para mais informações

Título: Normas de submissão de artigos da Biosensor MDPI

Tipos de Publicações

A revista *Beverages* não impõe restrições quanto ao tamanho máximo dos manuscritos, desde que o texto seja conciso e abrangente. Todos os detalhes experimentais devem ser fornecidos para que os resultados possam ser reproduzidos. A *Beverages* exige que os autores publiquem todos os controles experimentais e disponibilizem os conjuntos de dados completos sempre que possível (consulte as diretrizes sobre **Materiais Suplementares** e referências a dados não publicados).

Os manuscritos submetidos à revista *Beverages* não devem ter sido publicados anteriormente nem estar sob consideração para publicação em outro periódico. Os principais tipos de artigos estão listados abaixo e uma lista completa dos tipos de artigos pode ser encontrada **aqui** — observe que nem todos os tipos de artigos estão disponíveis para todas as disciplinas.

Artigo: Manuscritos de pesquisa originais. A revista considera todos os manuscritos de pesquisa originais, desde que o trabalho relate experimentos cientificamente sólidos e forneça uma quantidade substancial de informações novas. Os autores não devem dividir desnecessariamente seu trabalho em vários manuscritos relacionados, embora breves *comunicações* de resultados preliminares, porém significativos, sejam consideradas. A qualidade e o impacto do estudo serão considerados durante a revisão por pares.

Revisão: Essas revisões fornecem atualizações concisas e precisas sobre os avanços mais recentes em uma determinada área de pesquisa. As revisões sistemáticas devem seguir as **diretrizes PRISMA**.

Processo de Submissão

Os manuscritos para a revista *Beverages* devem ser submetidos online em **susy.mdpi.com**. O autor responsável pela submissão, geralmente o autor correspondente, é responsável pelo manuscrito durante o processo de submissão e revisão por pares. O autor responsável pela submissão deve garantir que todos os coautores elegíveis estejam incluídos na lista de autores (leia os **critérios de**

qualificação para autoria) e que todos tenham lido e aprovado a versão submetida do manuscrito. Para submeter seu manuscrito, registre-se e faça login no **site de submissão** . Após o registro, **clique aqui para acessar o formulário de submissão da Beverages** . Todos os coautores podem visualizar os detalhes do manuscrito no sistema de submissão, desde que se registrem e façam login utilizando o endereço de e-mail fornecido durante a submissão do manuscrito.

Formatos de arquivo aceitos

Recomenda-se aos autores que utilizem o **modelo do Microsoft Word** ou o **modelo LaTeX** para preparar seus manuscritos. O uso do arquivo modelo reduzirá significativamente o tempo necessário para a revisão e publicação dos manuscritos aceitos. O tamanho total dos arquivos não deve exceder 120 MB. Caso isso represente um problema, entre em contato com a Secretaria Editorial pelo e-mail **beverages@mdpi.com** . Os formatos de arquivo aceitos são:

Microsoft Word: Os manuscritos preparados no Microsoft Word devem ser convertidos em um único arquivo antes do envio. Ao preparar manuscritos no Microsoft Word, recomendamos que você utilize o **modelo de arquivo do Microsoft Word para a área de Bebidas** . Insira seus gráficos (esquemas, figuras etc.) no texto principal, após o parágrafo da primeira citação.

LaTeX: Os manuscritos preparados em LaTeX devem ser compactados em uma única pasta ZIP (incluindo todos os arquivos-fonte e imagens, para que a Equipe Editorial possa recompilar o PDF submetido). Ao preparar manuscritos em LaTeX, recomendamos o uso dos **arquivos de modelo LaTeX da Beverages** . Agora você também pode usar o aplicativo online **writeLaTeX** para submeter artigos diretamente à *Beverages* . O arquivo de modelo LaTeX para MDPI deve ser selecionado na **galeria de modelos do writeLaTeX** .

Arquivos suplementares: Podem estar em qualquer formato, mas recomenda-se o uso de formatos comuns e não proprietários sempre que possível (veja **abaixo** para mais detalhes).

Aviso: O uso destes modelos destina-se exclusivamente à submissão à revista para revisão por pares, e está estritamente limitado a este propósito, não

podendo ser utilizado para publicação online em servidores de pré-impressão ou outros websites.

Submissão em formato livre

A revista *Beverages* agora aceita submissões em formato livre:

Não temos requisitos rígidos de formatação, mas todos os manuscritos devem conter as seções obrigatórias: Informações do Autor, Resumo, Palavras-chave, Introdução, Materiais e Métodos, Resultados, Conclusões, Figuras e Tabelas com Legendas, Informações sobre Financiamento, Contribuições dos Autores, Declaração de Conflito de Interesses e outras Declarações Éticas. Consulte as **Instruções para Autores** da Revista para obter mais detalhes.

Suas referências podem seguir qualquer estilo, desde que você mantenha uma formatação consistente em todo o documento. É essencial incluir o(s) nome(s) do(s) autor(es), o título do periódico ou livro, o título do artigo ou capítulo (quando necessário), o ano de publicação, o volume e o número (quando aplicável) e a paginação. Os números DOI (Identificador de Objeto Digital) não são obrigatórios, mas são altamente recomendados. Recomenda-se o uso de softwares para gerenciamento de bibliografia como *EndNote*, **Zotero**, *Mendeley* e *Reference Manager*.

Quando seu manuscrito chegar à fase de revisão, você será solicitado a formatá-lo de acordo com as diretrizes da revista.

Carta de apresentação

Uma carta de apresentação deve acompanhar cada manuscrito submetido. Ela deve ser concisa e explicar por que o conteúdo do artigo é significativo, contextualizando as descobertas com os trabalhos já existentes. Deve também explicar por que o manuscrito se enquadra no escopo da revista.

Qualquer submissão anterior do manuscrito a periódicos da MDPI deve ser mencionada. Nesse caso, recomenda-se fortemente que o ID do manuscrito anterior seja fornecido no sistema de submissão, o que facilitará o processo de submissão atual. Os nomes dos revisores propostos e excluídos devem ser fornecidos no sistema de submissão, e não na carta de apresentação.

Todas as cartas de apresentação devem incluir as seguintes declarações:

Confirmamos que nem o manuscrito nem qualquer parte do seu conteúdo estão atualmente sob consideração para publicação ou foram publicados em outra revista.

Todos os autores aprovaram o manuscrito e concordam com seu envio à revista *Beverages* .

Identificação do autor

Recomenda-se aos autores que adicionem uma biografia (300 a 1500 caracteres) ao artigo submetido e a carreguem no **SciProfiles** . Esta biografia deve ser um único parágrafo e conter os seguintes pontos:

Nomes completos dos autores seguidos de seus cargos atuais;

Formação acadêmica, incluindo informações sobre a instituição e o ano de conclusão do curso (tipo e nível do diploma obtido);

Experiência profissional;

Interesses de pesquisa atuais e anteriores;

Afiliações a sociedades profissionais e prêmios recebidos.

Se um manuscrito for aceito para publicação, adicionaremos um ícone com um link para o seu perfil **ORCID** online na versão final do artigo publicado.

Afiliação do autor

Todos os autores devem listar sua afiliação atual e a afiliação onde a maior parte da pesquisa foi realizada para a preparação do manuscrito. Recomendamos adicionar como afiliação principal a da instituição onde a maior parte da pesquisa foi conduzida ou financiada, mas, por favor, verifique com sua instituição quaisquer requisitos de acordo contratual.

É muito importante que os nomes e afiliações dos autores estejam corretos. Informações incorretas podem resultar em atribuição inadequada ou citação incorreta, podendo inclusive causar problemas com a divulgação ou o financiamento. Após a

publicação de um artigo, atualizações ou correções no endereço ou na afiliação do autor podem não ser permitidas.

Pesquisador Independente

Se um ou todos os autores não estiverem atualmente afiliados a uma universidade, instituição ou empresa, ou não estiverem durante o desenvolvimento do manuscrito, devem se declarar como “Pesquisadores Independentes”.

[Voltar ao topo]

Preparação do manuscrito

Considerações gerais

Os manuscritos de pesquisa devem incluir:

Páginas iniciais : Título, Lista de autores, Afiliações, Resumo, Palavras-chave.

Seções do manuscrito de pesquisa : Introdução, Materiais e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões (opcional).

Páginas complementares : Materiais suplementares, Agradecimentos, Contribuições dos autores, Conflitos de interesse, **Referências** .

Os manuscritos de revisão devem incluir:

Páginas iniciais : Título, Lista de autores, Afiliações, Resumo, Palavras-chave.

Seções de revisão: uma revisão da literatura organizada logicamente em seções e subseções específicas (opcional).

Páginas finais : Agradecimentos, Contribuições dos autores, Conflitos de interesse, **Referências** .

O **arquivo modelo** também pode ser usado para preparar a parte inicial e final do seu manuscrito de revisão. Não é necessário seguir a estrutura restante.

Revisões sistemáticas e meta-análises devem usar a mesma estrutura que artigos de pesquisa e garantir que estejam em conformidade com as diretrizes **PRISMA** .

Resumo gráfico: Um resumo gráfico (RG) é uma imagem que aparece abaixo do resumo textual. Além de resumir o conteúdo, ele deve representar o tema do artigo de forma atraente. Além disso, antes de enviar quaisquer figuras para o resumo gráfico, verifique a lista a seguir para garantir que seus arquivos atendam aos critérios de resumo gráfico (RG) da MDPI:

Um resumo gráfico não deve ser exatamente igual a qualquer figura no corpo do artigo, uma simples sobreposição de várias subfiguras ou uma combinação do resumo textual com uma imagem.

Um resumo gráfico deve ser uma obra de arte original e inédita. Selos postais, moedas de qualquer país ou itens com marcas registradas não devem ser incluídos. Nenhum material protegido por direitos autorais deve ser usado em um resumo gráfico.

Um resumo gráfico deve ser uma ilustração ou diagrama de alta qualidade em um dos seguintes formatos de arquivo: PNG, JPEG ou TIFF.

O tamanho mínimo exigido para o resumo gráfico é de 560 × 1100 pixels (altura × largura).

O texto escrito em um resumo gráfico deve ser claro e de fácil leitura. Recomenda-se o uso de fontes como Times New Roman, Arial, Courier, Helvetica, Ubuntu e Calibri.

Por favor, utilize os símbolos corretamente e não use vírgulas em vez de pontos decimais em números.

Evite grandes blocos de texto ou grandes espaços em branco na imagem.

Não inclua “Resumo Gráfico” como título na imagem.

O resumo gráfico será exibido na versão online do artigo, mas normalmente não estará presente na versão impressa ou no arquivo PDF do artigo.

Siglas/Abreviações/Siglas devem ser definidas na primeira vez em que aparecerem em cada uma das três seções: o resumo; o texto principal; a primeira figura ou tabela. Quando definidas pela primeira vez, a sigla/abreviação/sigla deve ser adicionada entre parênteses após a sua forma escrita.

Devem ser utilizadas as unidades do SI (Sistema Internacional de Unidades). As unidades imperiais, americanas e outras devem ser convertidas para unidades do SI sempre que possível.

Os números de acesso das sequências de RNA, DNA e proteínas utilizadas no manuscrito devem ser fornecidos na seção Materiais e Métodos. Veja também a seção sobre **Depósito de Sequências e Dados de Expressão** .

Equações: Se estiver usando o Word, utilize o Editor de Equações da Microsoft ou o suplemento MathType. As equações devem ser editáveis pela equipe editorial e não devem aparecer em formato de imagem.

Dados de pesquisa e materiais suplementares: Observe que a publicação do seu manuscrito implica que você deve disponibilizar aos leitores todos os materiais, dados e protocolos associados à publicação. Informe, na fase de submissão, quaisquer restrições à disponibilidade de materiais ou informações. Leia as informações sobre **Materiais Suplementares** e Depósito de Dados para obter orientações adicionais.

Pré-registro: Caso os autores tenham pré-registrado estudos ou planos de análise, os links para o pré-registro devem ser fornecidos no manuscrito.

Diretrizes e padrões: A MDPI segue padrões e diretrizes para determinados tipos de pesquisa. Consulte **https://www.mdpi.com/editorial_process** para obter mais informações.

[Voltar ao topo]

Páginas Iniciais

Estas seções devem aparecer em todos os tipos de manuscritos.

Título: O título do seu manuscrito deve ser conciso, específico e relevante. Deve identificar se o estudo relata dados de ensaios clínicos (em humanos ou animais), ou se trata de uma revisão sistemática, meta-análise ou estudo de replicação. Quando nomes de genes ou proteínas forem incluídos, utilize a abreviação em vez do nome completo. Por favor, não inclua abreviações ou formas abreviadas do

título, como título de execução ou cabeçalho. Estes serão removidos pela nossa Equipe Editorial.

Lista de Autores e Afiliações: Os nomes e sobrenomes completos dos autores devem ser fornecidos. As iniciais dos nomes do meio, se houver, podem ser adicionadas. O formato padrão do PubMed/MEDLINE é utilizado para as afiliações: informações completas de endereço, incluindo cidade, CEP, estado/província e país. Pelo menos um autor deve ser designado como autor correspondente. Os endereços de e-mail de todos os autores serão exibidos nos artigos publicados. É responsabilidade do autor correspondente garantir que o consentimento para a exibição dos endereços de e-mail seja obtido de todos os autores. Se um autor (que não seja o autor correspondente) não desejar que seu endereço de e-mail seja exibido dessa forma, o autor correspondente deve indicar isso durante a revisão. Após a aceitação, atualizações nos nomes ou afiliações dos autores podem não ser permitidas. Contribuições Iguais: os autores que contribuíram igualmente devem ser marcados com um símbolo sobrescrito (†). O símbolo deve ser incluído abaixo das afiliações, e a seguinte declaração deve ser adicionada: “Estes autores contribuíram igualmente para este trabalho”. A igualdade de contribuições dos autores também deve ser adequadamente divulgada na declaração de contribuições dos autores. Ferramentas de inteligência artificial generativa (GenAI) e outros grandes modelos de linguagem (LLMs) não podem ser listados como autores, pois não atendem aos requisitos de **autoria** da MDPI. Leia os critérios para se qualificar para a autoria.

Resumo: O resumo deve ter no máximo 200 palavras. Deve ser um único parágrafo e seguir o estilo de resumos estruturados, porém sem títulos: 1) Introdução: Apresente a questão abordada em um contexto amplo e destaque o objetivo do estudo; 2) Métodos: Descreva brevemente os principais métodos ou tratamentos aplicados. Inclua quaisquer números de pré-registro relevantes, bem como as espécies e linhagens de quaisquer animais utilizados; 3) Resultados: Resuma as principais descobertas do artigo; e 4) Conclusão: Indique as principais conclusões ou interpretações. O resumo deve ser uma representação objetiva do artigo: não deve conter resultados que não sejam apresentados e comprovados no texto principal e não deve exagerar as principais conclusões.

Palavras-chave: De três a dez palavras-chave pertinentes devem ser adicionadas após o resumo. Recomendamos que as palavras-chave sejam específicas para o artigo, mas razoavelmente comuns dentro da área de conhecimento.

Seções do Manuscrito de Pesquisa

Introdução: A introdução deve contextualizar brevemente o estudo em um âmbito amplo e destacar sua importância. Deve definir o propósito e a relevância do trabalho, incluindo as hipóteses específicas testadas. O estado atual da área de pesquisa deve ser cuidadosamente revisado e as publicações principais citadas. Destaque hipóteses controversas e divergentes quando necessário. Por fim, mencione brevemente o objetivo principal do trabalho e destaque as principais conclusões. Mantenha a introdução acessível a cientistas que atuam em áreas diferentes do tema do artigo.

Materiais e Métodos: Devem ser descritos com detalhes suficientes para permitir que outros repliquem e utilizem os resultados publicados como base. Novos métodos e protocolos devem ser descritos detalhadamente, enquanto métodos já consagrados podem ser descritos brevemente e devidamente citados. Indique o nome e a versão de qualquer software utilizado e deixe claro se o código-fonte está disponível. Inclua quaisquer códigos de pré-registro. Quando aplicável, os autores devem divulgar nesta seção detalhes de como o GenAI foi utilizado no artigo (por exemplo, para gerar texto, dados ou gráficos, ou para auxiliar no planejamento do estudo, na coleta, análise ou interpretação dos dados). O uso do GenAI para edição superficial de texto (por exemplo, em relação à gramática, ortografia, pontuação e formatação) não precisa ser declarado.

Resultados: Apresente uma descrição concisa e precisa dos resultados experimentais, sua interpretação, bem como as conclusões experimentais que podem ser extraídas.

Discussão: Os autores devem discutir os resultados e como eles podem ser interpretados à luz de estudos anteriores e das hipóteses de trabalho. As descobertas e suas implicações devem ser discutidas no contexto mais amplo possível, e as

limitações do trabalho devem ser destacadas. Direções para pesquisas futuras também podem ser mencionadas. Esta seção pode ser combinada com a seção de Resultados.

Conclusões: Esta seção não é obrigatória, mas pode ser adicionada ao manuscrito caso a discussão seja excepcionalmente longa ou complexa.

Patentes: Esta seção não é obrigatória, mas pode ser adicionada caso existam patentes resultantes do trabalho relatado neste manuscrito.

[Voltar ao topo]

Material complementar

Materiais suplementares: Descreva qualquer material suplementar publicado online juntamente com o manuscrito (figuras, tabelas, vídeos, planilhas etc.). Indique o nome e o título de cada elemento da seguinte forma: Figura S1: título, Tabela S1: título etc.

Contribuições dos Autores: Espera-se que cada autor tenha contribuído substancialmente para a concepção ou o planejamento do trabalho; ou para a aquisição, análise ou interpretação dos dados; ou para a criação de novos softwares utilizados no trabalho; ou para a redação ou revisão substancial do trabalho; E tenha aprovado a versão submetida (e a versão substancialmente editada pela equipe da revista que inclua a contribuição do autor para o estudo); E concorde em ser pessoalmente responsável por suas próprias contribuições e em garantir que as questões relacionadas à precisão ou integridade de qualquer parte do trabalho, mesmo aquelas em que o autor não esteve pessoalmente envolvido, sejam devidamente investigadas, resolvidas e documentadas na literatura.

Para artigos de pesquisa com vários autores, um breve parágrafo especificando suas contribuições individuais deve ser fornecido. As seguintes declarações devem ser usadas: "Conceitualização, XX e YY; Metodologia, XX; Software, XX; Validação, XX, YY e ZZ; Análise Formal, XX; Investigação, XX; Recursos, XX; Curadoria de Dados, XX; Redação – Preparação do Rascunho Original, XX; Redação – Revisão e Edição, XX; Visualização, XX; Supervisão, XX; Administração do Projeto, XX; Obtenção de Financiamento, YY". Consulte a **taxonomia CRediT** para obter a explicação dos

termos. Para mais informações sobre o CRediT, veja [aqui](#) . A autoria deve incluir e ser limitada àqueles que contribuíram substancialmente para o trabalho. **Leia atentamente a seção referente aos critérios de qualificação para autoria .**

Financiamento: Todas as fontes de financiamento do estudo devem ser divulgadas. Indique claramente as bolsas que você recebeu para apoiar seu trabalho de pesquisa e se recebeu fundos para cobrir os custos de publicação. Observe que algumas agências de fomento não reembolsam as taxas de processamento de artigos (APC) se a agência e o número da bolsa não forem identificados de forma clara e correta no artigo. As informações sobre financiamento podem ser inseridas separadamente no sistema de submissão pelos autores durante o envio do manuscrito. Essas informações, se disponíveis, serão depositadas no FundRef caso o manuscrito seja publicado.

Adicione: “Esta pesquisa não recebeu financiamento externo” ou “Esta pesquisa foi financiada por [nome da agência de fomento], número da bolsa [xxx]” e “A APC foi financiada por [XXX]” nesta seção. Verifique cuidadosamente se os detalhes fornecidos estão corretos e utilize a grafia padrão dos nomes das agências de fomento em <https://search.crossref.org/funding>, pois quaisquer erros podem afetar seu financiamento futuro.

Declaração do Comitê de Ética em Pesquisa: Nesta seção, adicione a Declaração do Comitê de Ética em Pesquisa e o número de aprovação para estudos envolvendo seres humanos ou animais. Você pode optar por excluir esta declaração se o estudo não exigiu aprovação ética. Observe que a Equipe Editorial poderá solicitar informações adicionais. Adicione “O estudo foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsinque e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (ou Comitê de Ética) da INSTITUIÇÃO (código do protocolo XXX e data de aprovação).” para estudos envolvendo seres humanos. OU “O protocolo do estudo com animais foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (ou Comitê de Ética) da INSTITUIÇÃO (código do protocolo XXX e data de aprovação).” para estudos envolvendo animais. OU “A revisão e aprovação ética foram dispensadas para este estudo devido a MOTIVO (forneça uma justificativa detalhada).” OU “Não aplicável” para estudos que não envolvem seres humanos ou animais.

Declaração de Consentimento Informado: Qualquer artigo científico que descreva um estudo envolvendo seres humanos deve conter esta declaração. Adicione “O consentimento informado foi obtido de todos os participantes do estudo.” OU “O consentimento do paciente foi dispensado devido a MOTIVO (forneça uma justificativa detalhada).” OU “Não aplicável.” para estudos que não envolvam seres humanos. Você também pode optar por excluir esta declaração se o estudo não envolver seres humanos.

O consentimento informado por escrito para publicação deve ser obtido dos pacientes participantes que possam ser identificados (inclusive pelos próprios pacientes). Declare “O consentimento informado por escrito foi obtido do(s) paciente(s) para publicação deste artigo”, se aplicável.

Declaração de Disponibilidade de Dados: Nesta seção, forneça detalhes sobre onde os dados que sustentam os resultados relatados podem ser encontrados, incluindo links para conjuntos de dados publicamente arquivados, analisados ou gerados durante o estudo. Consulte as Declarações de Disponibilidade de Dados sugeridas na seção “**Políticas de Dados de Pesquisa da MDPI**”. Você pode optar por excluir esta declaração se o estudo não relatou nenhum dado.

Agradecimentos: Nesta seção, você pode agradecer qualquer apoio recebido que não esteja contemplado nas seções de contribuição do autor ou financiamento. Isso pode incluir suporte administrativo e técnico, ou doações em espécie (por exemplo, materiais usados em experimentos). Quando o GenAI tiver sido usado para fins como geração de texto, dados ou gráficos, planejamento de estudo ou coleta, análise ou interpretação de dados, adicione: “Durante a preparação deste manuscrito/estudo, o(s) autor(es) utilizou(aram) [nome da ferramenta, informações da versão] para os fins de [descrição do uso]. Os autores revisaram e editaram o resultado e assumem total responsabilidade pelo conteúdo desta publicação”.

Conflitos de Interesse: Os autores devem identificar e declarar quaisquer circunstâncias ou interesses pessoais que possam ser percebidos como influenciando a representação ou interpretação dos resultados da pesquisa relatados. Caso não haja conflito de interesses, declare: "Os autores declaram não haver conflito de interesses". Qualquer participação dos patrocinadores do financiamento na escolha

do projeto de pesquisa; no planejamento do estudo; na coleta, análise ou interpretação dos dados; na redação do manuscrito; ou na decisão de publicar os resultados deve ser declarada nesta seção. A revista *Beverages* não publica estudos financiados parcial ou totalmente pela indústria do tabaco. Quaisquer projetos financiados pela indústria devem dar atenção especial à declaração completa do envolvimento do financiador. Caso não haja participação, declare: "Os patrocinadores não tiveram participação no planejamento, execução, interpretação ou redação do estudo". Para mais detalhes, consulte a **seção Conflito de Interesses** .

Referências: As referências devem ser numeradas na ordem em que aparecem no texto (incluindo legendas de tabelas e figuras) e listadas individualmente ao final do manuscrito. Recomendamos preparar as referências com um software de bibliografia, como **EndNote** , **ReferenceManager** ou **Zotero**, para evitar erros de digitação e referências duplicadas. Incentivamos a citação de dados, código de computador e outros materiais de pesquisa citáveis. Se disponíveis online, você pode usar o estilo de referência 9 abaixo.

É permitida a inclusão de citações e referências em arquivos suplementares, desde que elas também constem no texto principal e na lista de referências.

No texto, os números de referência devem ser colocados entre colchetes [], antes da pontuação; por exemplo, [1], [1–3] ou [1,3]. Para citações incorporadas no texto com paginação, use parênteses e colchetes para indicar o número da referência e os números das páginas; por exemplo, [5] (p. 10) ou [6] (pp. 101–105).

A lista de referências deve incluir o título completo, conforme recomendado pelo guia de estilo da ACS. Arquivos de estilo para **Endnote** e **Zotero** estão disponíveis.

As referências devem ser descritas da seguinte forma, dependendo do tipo de trabalho:

Artigos de periódicos:

1. Autor 1, AB; Autor 2, CD. Título do artigo. *Nome abreviado do periódico*. **Ano** , *Volume* , intervalo de páginas.

Livros e capítulos de livros:

2. Autor 1, A.; Autor 2, B. *Título do livro* , 3ª ed.; Editora: Local da editora, País, Ano; pp. 154–196.
3. Autor 1, A.; Autor 2, B. Título do capítulo. Em *Título do livro* , 2ª ed.; Editor 1, A., Editor 2, B., Eds.; Editora: Local da editora, País, Ano; Volume 3, pp. 154–196.

Materiais não publicados destinados à publicação:

4. Autor 1, AB; Autor 2, C. Título do Trabalho Não Publicado (opcional). Afiliação para correspondência, Cidade, Estado, País. Ano, *status* (manuscrito *em preparação*; *a ser submetido*).
5. Autor 1, AB; Autor 2, C. Título do Trabalho Não Publicado. *Nome abreviado do periódico*, ano, *frase indicando o estágio de publicação* (submetido ; *aceito* ; *em publicação*).

Materiais não publicados e não destinados à publicação:

6. Autor 1, AB (Afiliação, Cidade, Estado, País); Autor 2, C. (Afiliação, Cidade, Estado, País). Fase descritiva do material, ano. (fase: Comunicação pessoal; Comunicação privada; Trabalho não publicado; etc.)

Atas da Conferência:

7. Autor 1, AB; Autor 2, CD; Autor 3, EF Título da Apresentação. Em *Título da Coletânea* (se disponível), Atas da Conferência, Local da Conferência, País, Data da Conferência; Editor 1, Editor 2, Eds. (se disponíveis); Editora: Cidade, País, Ano (se disponível); Número do Resumo (opcional), Paginação (opcional).

Tese:

8. Autor 1, AB Título da Tese. Nível da Tese, Universidade que Concede o Grau, Local da Universidade, Data de Conclusão.

Sites da Web:

9. Título do Site. Disponível online: URL (acessado em Dia Mês Ano).
- Ao contrário de obras publicadas, os sites da Web podem mudar com o tempo ou desaparecer, por isso recomendamos que você crie um arquivo do site citado usando um serviço como **o WebCite** . Os sites arquivados devem ser citados usando o link

fornecido da seguinte forma:

10. Título do Site. URL (arquivado em Dia Mês Ano).

Consulte a **Lista de Referências e o Guia de Citações** para obter informações mais detalhadas.

[Voltar ao topo]

Preparando figuras, esquemas e tabelas

A revista *Beverages* pode publicar arquivos multimídia em artigos ou como material suplementar. Para mais informações, entre em contato com a redação.

Nossas orientações referentes a diversos aspectos de figuras, esquemas e tabelas são descritas abaixo.

Resolução, cor e formato:

Todas as figuras devem ser de alta qualidade (de preferência com resolução não inferior a 600 dpi) nos formatos PNG, JPEG ou TIFF.

Os autores são incentivados a preparar figuras e esquemas em cores (RGB de 8 bits por canal). Não há custo adicional para a publicação de gráficos coloridos.

As imagens devem ser combinadas para evitar problemas durante alterações de formatação. Não deve haver partes editáveis nas imagens.

Todas as colunas da tabela devem ter um título explicativo. Para facilitar a revisão de tabelas maiores, podem ser usadas fontes menores (não inferiores a 8 pontos). Os autores devem usar a opção "Tabela" do Microsoft Word para criar tabelas.

Ordem:

Todas as figuras, esquemas e tabelas devem ser inseridas no texto principal próximas à sua primeira citação e devem ser numeradas de acordo com a ordem em que aparecem (ex.: Figura 1, Esquema 1, Figura 2, Esquema 2, Tabela 1, etc.).

Contente:

Em geral, as figuras devem conter apenas texto em inglês e os símbolos matemáticos corretos, por exemplo, - em vez de — e pontos decimais em vez de vírgulas.

O conteúdo da figura deve estar completo e os personagens não devem estar mascarados. Marcas desnecessárias, como linhas onduladas vermelhas e contornos rígidos (ou suaves), não são permitidas.

Em números com cinco ou mais dígitos, deve-se adicionar uma vírgula em todas as figuras, esquemas e tabelas. A numeração científica deve ser correta.

Todas as figuras, esquemas e tabelas devem ter um título e uma legenda explicativos concisos. Quaisquer caracteres especiais ou ícones em uma imagem, como *, ** e #, precisam ter uma explicação correspondente na legenda.

Direitos autorais:

Figuras ou tabelas reproduzidas/adaptadas podem estar sujeitas a direitos autorais. Será necessário determinar se a permissão de direitos autorais é necessária e se deve ser obtida. Adicione o conteúdo correspondente relacionado a direitos autorais na legenda, se necessário (consulte **Propriedade Intelectual em Direitos Autorais, Patentes e Licenciamento**).

Observe que a MDPI oferece suporte profissional para a criação de figuras prontas para publicação que comuniquem sua pesquisa de forma clara aos leitores. Saiba mais sobre o Serviço de Edição de Figuras [aqui](#) .

[\[Voltar ao topo\]](#)

Requisitos das imagens originais

Para garantir a integridade e a validade científica das imagens de eletroforese em gel, blots e microscopia, a Equipe Editorial reserva-se o direito de solicitar as imagens originais, sem cortes e sem ajustes, no momento da submissão. As imagens originais devem ser fornecidas em um único arquivo zip como Material Suplementar, com resolução suficientemente alta (mínimo de 1000 pixels de largura/altura ou resolução de 300 dpi ou superior) ou por meio de um link para o local onde as imagens originais não processadas foram depositadas no momento da submissão

inicial. Os formatos preferenciais para géis, blots e imagens de microscopia (microscopia óptica e eletrônica, como TEM, SEM criomicroscopia eletrônica, etc.) são **TIFF**, PNG, GIF e EPS. A não apresentação das imagens originais antes da decisão final poderá resultar na rejeição do artigo, e a questão poderá ser levada à instituição dos autores.

As imagens digitais presentes no manuscrito submetido devem ser minimamente processadas. Um certo grau de processamento de imagem é aceitável para publicação, mas a imagem final deve representar corretamente os dados originais e estar em conformidade com os padrões da comunidade científica. Observe que as imagens de microscopia eletrônica submetidas com o manuscrito devem ser apresentadas na íntegra, sem recortes, e com todos os detalhes relevantes claramente visíveis.

Quando imagens recortadas forem apresentadas nas figuras, uma digitalização completa da(s) imagem(ns) original(is) deverá ser submetida como Material Suplementar. Quando imagens de controle forem reutilizadas para fins ilustrativos, isso deverá ser claramente declarado na legenda da figura. Se qualquer forma de processamento de imagem for legitimamente necessária para a interpretação dos dados, o software e a técnica de aprimoramento utilizados deverão ser declarados na seção de métodos do manuscrito. O agrupamento e a junção de imagens deverão ser claramente indicados no manuscrito e no texto da figura.

Não é recomendável o uso de filtros de software para melhorar a qualidade da imagem. Pequenos ajustes nas configurações de contraste, brilho, intensidade, cor, etc., são geralmente aceitáveis, mas devem ser aplicados igualmente a toda a imagem. Manipulações excessivas da imagem, específicas para uma área e não realizadas em outras áreas, são consideradas práticas antiéticas de processamento de imagens, pois enfatizam os dados experimentais em relação ao controle.

Imagens coletadas em momentos diferentes ou em locais diferentes não devem ser combinadas em uma única imagem, a menos que seja explicitamente declarado que a imagem resultante é produto de dados com média temporal ou de uma sequência de lapso de tempo. Caso a justaposição de imagens seja

imprescindível, as bordas devem ser claramente demarcadas na figura e descritas na legenda.

Géis e blots eletroforéticos

Certifique-se de que:

Todas as amostras experimentais e controles usados para uma análise comparativa são executados no mesmo blot/gel. Quando os controles de processamento de amostras são executados em géis diferentes, isso deve ser indicado na legenda da figura. Os géis recortados no artigo devem reter todas as bandas importantes.

Os marcadores de peso molecular estão incluídos ou indicados na imagem original, e quaisquer faixas não incluídas na figura final são marcadas com um “X” acima da etiqueta da faixa na imagem original do blot/gel. Todas as marcações e anotações devem ser feitas sem obscurecer quaisquer dados ou bandas de fundo.

Métodos de processamento de imagem, como ajuste de brilho ou contraste, não alteram nem distorcem as informações da figura e são aplicados a cada pixel. Não é recomendável o uso de blots/géis de alto contraste.

As imagens recortadas de blots/géis presentes no texto principal retêm todas as informações e bandas importantes.

Cada imagem original é anotada e corresponde à figura no artigo principal ou nos materiais suplementares, e cada faixa ou ordem de carregamento é identificada.

Você verificou se há duplicatas nos números e garantiu que as legendas estejam claras e precisas. Inclua todas as informações relevantes nas legendas e indique claramente qualquer reorganização das faixas.

Em géis emendados, é necessário adicionar uma linha divisória fina para indicar a alteração. É aceitável remover uma faixa inteira e emendar as faixas restantes, desde que os fragmentos emendados sejam originários da mesma imagem original. Nesses casos, a alteração deve ser indicada na figura por uma linha fina branca ou preta entre as partes justapostas e deve ser descrita na legenda da figura.

As imagens devem conter o "ruído" de fundo original. O fundo não deve apresentar uma cor uniforme.

Não é prática aceitável "limpar" o fundo de imagens com carimbos, usar ferramentas de "apagar" para melhorar a aparência estética ou ajustar excessivamente o brilho ou o contraste para remover o fundo.

Todas as amostras experimentais e controles utilizados em uma análise comparativa devem ser analisados na mesma imagem de blot/gel. Para análises quantitativas, forneça os blots/géis de cada réplica biológica independente utilizada na análise.

Comparações quantitativas entre amostras em diferentes géis/blots são desencorajadas; caso sejam inevitáveis, a legenda da figura deve indicar que as amostras provêm do mesmo experimento ou de experimentos paralelos e que os géis/blots foram processados em paralelo.

Recomendamos a inclusão dos seguintes itens na versão final revisada do manuscrito para publicação:

Na seção Métodos, especifique o tipo de equipamento (microscópios/lentes objetivas, câmeras, detectores, modelo do filtro e número do lote), o software de aquisição utilizado e a ampliação ou a escala na legenda da figura. Embora reconheçamos que haja alguma variação entre os instrumentos, as configurações do equipamento para medições críticas também devem ser listadas.

Incentivamos o depósito de arquivos de imagem não processados em um banco de dados público (um **link** para a tabela para download, a partir das instruções de disponibilidade de dados, deve ser compartilhado aqui) (incluindo metadados relevantes com informações de aquisição, como dados de resolução temporal e espacial (xyzt e dimensões de pixel); profundidade de bits da imagem; condições experimentais, como temperatura e meio de imagem; e fluorocromos (comprimentos de onda ou faixas de excitação e emissão, filtros e divisores de feixe dicróicos), se houver).

O software de processamento deve ser mencionado na seção Métodos e quaisquer manipulações devem ser indicadas nas legendas das figuras relevantes

(como tipo de deconvolução, reconstruções tridimensionais, renderização de superfície e volume, "alterações gama", filtragem, limiarização e projeção).

Diretrizes abrangentes sobre gerenciamento de dados e o tratamento ético de imagens digitais podem ser obtidas no Escritório de Integridade em Pesquisa (Office of Research Integrity): <http://ori.hhs.gov/images/ddblock/data.pdf>

A MDPI é membro do Comitê de Ética em Publicações e leva muito a sério a responsabilidade de manter políticas e padrões éticos rigorosos.

[Voltar ao topo]

Materiais suplementares, depósito de dados e código-fonte do software

Políticas de Dados de Pesquisa da MDPI

A MDPI está comprometida em apoiar o intercâmbio científico aberto e em permitir que nossos autores adotem as melhores práticas no compartilhamento e arquivamento de dados de pesquisa. Incentivamos todos os autores de artigos publicados em periódicos da MDPI a compartilhar seus dados de pesquisa, incluindo, entre outros, protocolos, métodos analíticos, dados brutos, dados processados, código, software, algoritmos e material de estudo. Os dados devem ser FAIR – localizáveis, acessíveis, interoperáveis e reutilizáveis – para que outros pesquisadores possam encontrá-los e utilizá-los.

Recomendamos que os dados e o código sejam depositados em um repositório confiável que permita a máxima reutilização (consulte a seção Preservação de Dados abaixo). Caso isso não seja possível, os autores são encorajados a compartilhar o motivo específico na Declaração de Disponibilidade de Dados e disponibilizar esse material mediante solicitação a pesquisadores interessados. Além disso, os materiais de pesquisa necessários para permitir a reprodução de um experimento devem ser indicados na seção Materiais e Métodos. As diretrizes específicas de cada periódico podem ser encontradas na página "Instruções para Autores" do periódico. As políticas de compartilhamento de dados dizem respeito ao conjunto mínimo de dados que sustenta as principais conclusões de um estudo publicado. Os dados gerados devem ser disponibilizados publicamente e citados de acordo com as diretrizes do periódico.

As políticas de dados da MDPI são baseadas nas **diretrizes TOP** .

Nos casos em que existam questões éticas, legais ou de privacidade, os dados não devem ser compartilhados. Os autores devem esclarecer a disponibilidade dos dados no momento da submissão e deixar claras quaisquer limitações ou exceções na Declaração de Disponibilidade de Dados. Os autores devem garantir que os dados compartilhados estejam de acordo com o consentimento fornecido pelos participantes para o uso de dados confidenciais. Os autores devem garantir que a publicação desses dados não comprometa o anonimato dos participantes nem viole as leis locais de proteção de dados.

Em situações em que o acesso é restrito para proteger informações confidenciais ou proprietárias, os autores serão solicitados a explicar claramente as restrições ao conjunto de dados e a disponibilizar os dados mediante solicitação, com permissão para fins de revisão por pares.

A MDPI reconhece que algumas instituições e agências de financiamento exigem a retenção de dados de pesquisa apenas por um período determinado após a conclusão ou publicação de um projeto. No entanto, não existem tais limites especificados na Política de Disponibilidade de Dados da MDPI e, portanto, incentivamos os autores a arquivar seus dados de pesquisa em repositórios de dados apropriados ou a nos fornecer conjuntos de dados mínimos como Material Suplementar.

Declarações de disponibilidade de dados

Declarações de disponibilidade de dados são obrigatórias para todos os artigos publicados pela MDPI. Durante o processo de revisão por pares e decisão editorial, os autores podem ser solicitados a compartilhar conjuntos de dados existentes ou dados brutos que foram analisados no manuscrito, e se estes serão disponibilizados a outros pesquisadores após a publicação. Os autores também serão solicitados a fornecer detalhes sobre quaisquer conjuntos de dados existentes que tenham sido analisados no manuscrito.

A seguir, apresentamos as Declarações de Disponibilidade de Dados recomendadas:

Estado de disponibilidade dos dados	Declaração de Disponibilidade de Dados Recomendada
<p>Dados disponíveis em um repositório de acesso público.</p>	<p>Os dados originais apresentados no estudo estão disponíveis publicamente em [nome do repositório, por exemplo, FigShare] em [DOI/URL] ou [número de referência/acesso].</p>
<p>Os dados estão disponíveis mediante solicitação devido a restrições (por exemplo, privacidade, razões legais ou éticas).</p>	<p>Os dados apresentados neste estudo estão disponíveis mediante solicitação ao autor correspondente devido a (especificar o motivo da restrição).</p>
<p>Dados de terceiros</p>	<p>A disponibilidade destes dados está sujeita a restrições. Os dados foram obtidos de [terceiros] e estão disponíveis [com os autores/no URL] com a permissão de [terceiros].</p>
<p>Embargo de dados devido a restrições comerciais</p>	<p>Os dados que sustentam as conclusões estarão disponíveis em [nome do repositório] em [URL / link DOI] após um período de embargo a partir da data de publicação, para permitir a comercialização dos resultados da pesquisa.</p>
<p>Aplicam-se restrições aos conjuntos de dados.</p>	<p>Os conjuntos de dados apresentados neste artigo não estão prontamente disponíveis porque [incluir o motivo, por exemplo, os dados fazem parte de um estudo em andamento ou devido a limitações técnicas/de tempo]. Os pedidos de acesso aos conjuntos de dados devem ser dirigidos a [entrada de texto].</p>

<p>Dados derivados de recursos de domínio público</p>	<p>Os dados apresentados neste estudo estão disponíveis em [nome do repositório] em [URL/DOI], número de referência [número de referência]. Esses dados foram obtidos dos seguintes recursos disponíveis em domínio público: [lista de recursos e URLs].</p>
<p>O compartilhamento de dados não se aplica (só é apropriado se nenhum dado novo for gerado ou se o artigo descrever uma pesquisa inteiramente teórica).</p>	<p>Nenhum dado novo foi criado ou analisado neste estudo. O compartilhamento de dados não se aplica a este artigo.</p>
<p>Os dados estão contidos no artigo ou no material suplementar.</p>	<p>As contribuições originais apresentadas neste estudo estão incluídas no artigo/material suplementar. Para mais informações, entre em contato com o(s) autor(es) correspondente(s).</p>
<p>O conjunto de dados está disponível mediante solicitação aos autores.</p>	<p>Os dados brutos que sustentam as conclusões deste artigo serão disponibilizados pelos autores mediante solicitação.</p>

Preservação de dados

A MDPI reconhece que pesquisadores, instituições, periódicos e repositórios de dados compartilham a responsabilidade de garantir a preservação de dados a longo prazo e incentiva os autores a selecionarem repositórios de dados tendo esse objetivo em mente.

A MDPI incentiva os autores a se comprometerem a preservar seus conjuntos de dados em seus servidores de laboratório ou institucionais por, pelo menos, cinco anos após a publicação. Se, durante esse período, o repositório para o qual os dados foram originalmente submetidos desaparecer ou sofrer perda de dados, poderemos

solicitar aos autores que carreguem os dados em outro repositório e publiquem uma correção ou atualização da publicação original.

Caso os autores removam seus dados do repositório público original ou alterem os critérios de acesso de forma inconsistente com a publicação, poderemos solicitar que notifiquem a redação o mais breve possível.

Como escolher um repositório de dados adequado

A MDPI incentiva o envio de dados para repositórios de dados reconhecidos pela comunidade sempre que possível. Recomendamos que os autores visitem re3data.org ou fairsharing.org para ajudar a identificar repositórios de dados registrados e certificados relevantes para sua área de pesquisa, caso não haja recursos da comunidade disponíveis. Se a instituição dos autores possuir um repositório de dados generalista, este poderá ser utilizado para hospedar os dados dos autores, desde que o repositório possa gerar **DOIs DataCite** e permita o compartilhamento de dados sob termos de uso abertos (por exemplo, a **licença CC0**).

Crítérios do repositório de dados

Os seguintes critérios devem ser considerados ao selecionar um repositório apropriado, garantindo que as plataformas:

Garantir a persistência e preservação a longo prazo dos conjuntos de dados em sua forma publicada;

Fornecer identificadores estáveis para os conjuntos de dados submetidos (DOIs na maioria dos casos);

Permitir o acesso público aos dados sem barreiras, como logins ou restrições de acesso;

Apoiar licenças abertas (CC0 e CC-BY, ou seus equivalentes, são exigidos na maioria dos casos);

Fornecer revisão confidencial dos conjuntos de dados submetidos, sem exigir que os revisores forneçam informações de identificação.

Citação de dados

Os autores são encorajados a citar formalmente quaisquer conjuntos de dados armazenados em repositórios externos que sejam mencionados em seu manuscrito, incluindo os principais conjuntos de dados que são o foco da submissão, bem como quaisquer outros conjuntos de dados que tenham sido utilizados no trabalho. Para conjuntos de dados previamente publicados, os autores devem citar tanto os artigos de pesquisa relacionados quanto os próprios conjuntos de dados. A citação adequada dos dados é verificada e assegurada pela equipe *editorial da revista* antes da publicação.

Código de computador e software

Para trabalhos que envolvam o desenvolvimento de código computacional inédito, os autores devem disponibilizar o código, seja depositando-o em um repositório público reconhecido, como **o GitHub**, seja enviando-o como informação suplementar à publicação. O nome, a versão, a empresa e a localização de todos os softwares utilizados devem ser claramente indicados. Inclua também todos os parâmetros utilizados para executar as análises dos softwares/programas.

Material suplementar

Dados e arquivos adicionais podem ser enviados como "Arquivos Suplementares" durante o processo de submissão do manuscrito. Os arquivos suplementares também estarão disponíveis para os revisores como parte do processo de revisão por pares. Qualquer formato de arquivo é aceitável; no entanto, recomendamos que formatos comuns e não proprietários sejam usados sempre que possível. Para mais informações sobre materiais suplementares, consulte https://www.mdpi.com/authors/layout#_bookmark83.

Referências nos Arquivos Suplementares

É permitida a inclusão de citações e referências em arquivos suplementares, desde que estas também constem na lista de referências do texto principal.

Dados não publicados

Restrições quanto à disponibilidade de dados devem ser mencionadas durante a submissão e no manuscrito. A expressão "Dados não apresentados" deve ser evitada: os autores são encorajados a publicar todas as observações relacionadas ao

manuscrito submetido como Material Suplementar. "Dados não publicados" destinados à publicação em um manuscrito que esteja planejado, "em preparação" ou "submetido", mas ainda não aceito, devem ser citados no texto e uma referência deve ser adicionada na seção de Referências. "Comunicação pessoal" também deve ser citada no texto e a referência adicionada na seção de Referências. (Consulte também o guia de estilo de lista de referências e citações da MDPI).

Hospedagem remota e grandes conjuntos de dados

Os dados podem ser depositados em provedores de serviços especializados ou repositórios institucionais/temáticos, preferencialmente aqueles que utilizam o mecanismo DataCite. Conjuntos de dados grandes e arquivos com mais de 60 MB devem ser depositados dessa forma. Para obter uma lista de outros repositórios especializados em dados científicos e experimentais, consulte datatib.org ou re3data.org. O nome do repositório de dados, o link para o conjunto de dados (URL) e o número de acesso, DOI ou identificador do conjunto de dados devem ser fornecidos no artigo. A revista **Data** também aceita submissões de artigos com conjuntos de dados.

Deposição de Sequências e Dados de Expressão

As novas informações de sequência devem ser depositadas no banco de dados apropriado antes do envio do manuscrito. Os números de acesso fornecidos pelo banco de dados devem ser incluídos no manuscrito submetido. Os manuscritos não serão publicados até que o número de acesso seja fornecido.

Novas sequências de ácidos nucleicos devem ser depositadas em um repositório aceitável, como **GenBank**, **EMBL** ou **DDBJ**. As sequências devem ser submetidas a apenas um banco de dados.

Novos conjuntos de dados de sequenciamento de alto rendimento (HTS) (RNA-seq, ChIP-Seq, análise de degradoma, ...) devem ser depositados no **banco de dados GEO** ou no **Sequence Read Archive (SRA)** do NCBI.

Os novos dados de microarray devem ser depositados nos bancos de dados **GEO** ou **ArrayExpress**. As diretrizes "Informações Mínimas sobre um

Experimento de Microarray" (MIAME), publicadas pela Microarray Gene Expression Data Society, devem ser seguidas.

Novas sequências de proteínas obtidas por sequenciamento de proteínas devem ser submetidas ao UniProt (ferramenta de submissão **SPIN**). A estrutura proteica anotada e sua sequência de referência devem ser submetidas ao **RCSB do Protein Data Bank**.

Todos os nomes de sequência e os números de acesso fornecidos pelos bancos de dados devem ser incluídos na seção Materiais e Métodos do artigo.

Deposição de dados proteômicos

Os métodos utilizados para gerar os dados proteômicos devem ser descritos em detalhes, e incentivamos os autores a seguirem as diretrizes de "**Informações Mínimas sobre um Experimento Proteômico**". Todos os dados brutos de espectrometria de massa gerados devem ser depositados em um banco de dados público apropriado, como **ProteomeXchange**, **PRIDE** ou **jPOST**. No momento da submissão, inclua todas as informações relevantes na seção de materiais e métodos, como o repositório onde os dados foram submetidos e o link, o identificador do conjunto de dados, o nome de usuário e a senha necessários para acessar os dados.

[Voltar ao topo]

Ética em Pesquisa e Publicação

Ética em pesquisa

Pesquisa envolvendo seres humanos

Declaração do Comitê de Revisão Institucional

Ao relatar pesquisas que envolvam seres humanos, material humano, tecidos humanos ou dados humanos, os autores devem declarar que as investigações foram realizadas seguindo as normas da **Declaração de Helsinque de 1975**, revisada em 2013. De acordo com o ponto 23 desta declaração, a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) local ou de outro comitê de ética competente deve ser obtida antes do início da pesquisa para confirmar que o estudo atende às diretrizes nacionais e internacionais. No mínimo, uma declaração contendo o código de

identificação do projeto, a data de aprovação e o nome do comitê de ética ou do CEP deve ser incluída na seção "Declaração do Comitê de Ética em Pesquisa" do artigo.

Exemplo de uma declaração do comitê de revisão institucional: "O estudo foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsinque, e o protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética de XXX (Código de identificação do projeto) em [data de aprovação]."

Para estudos não intervencionistas (por exemplo, pesquisas, questionários, pesquisas em mídias sociais), todos os participantes devem ser plenamente informados se seu anonimato será garantido, o motivo da pesquisa, como seus dados serão utilizados e se há algum risco envolvido na participação. Como em todas as pesquisas envolvendo seres humanos, a aprovação ética de um comitê de ética competente deve ser obtida antes da realização do estudo. Caso a aprovação ética não seja necessária, os autores devem apresentar uma declaração de isenção emitida pelo comitê de ética ou citar a legislação local ou nacional que indique que a aprovação ética não é exigida para esse tipo de estudo. Quando um estudo receber uma isenção, o nome do comitê de ética que a concedeu deve ser mencionado na seção "Declaração do Comitê de Revisão Institucional", juntamente com uma explicação completa para a recusa da aprovação ética.

Declaração de Consentimento Informado

Manuscritos que relatam estudos envolvendo participantes humanos, dados humanos ou tecido humano devem incluir uma **declaração de consentimento livre e esclarecido para participação** na pesquisa. O consentimento livre e esclarecido verbal para participar de um estudo pode ser aceitável em algumas circunstâncias (como em estudos etnográficos). Os autores devem explicar a justificativa para o uso desse tipo de consentimento na seção "Declaração de Consentimento Livre e Esclarecido". Para o consentimento livre e esclarecido verbal, uma cópia do texto utilizado deve ser fornecida durante a fase de submissão.

Para todos os manuscritos que incluam informações de identificação de pacientes/participantes (dados pessoais, imagens ou vídeos relativos a uma pessoa), **o consentimento informado por escrito para a publicação** dessas informações deve ser obtido dos pacientes/participantes (ou seus

familiares/responsáveis) antes do envio para um periódico da MDPI. Uma versão em branco do formulário utilizado para obter a permissão (sem os nomes ou assinaturas dos pacientes/participantes) deve ser fornecida no momento do envio. Você pode consultar nosso **modelo de formulário de permissão** e fornecer um formulário adequado após consultar sua instituição de origem.

Para fins de publicação em periódicos da MDPI, o formulário de consentimento, permissão ou autorização deve incluir permissão irrestrita para publicação em todos os formatos (incluindo impresso, eletrônico e online), em versões sublicenciadas e reimpressas (incluindo traduções e obras derivadas) e em outras obras e produtos sob licença de acesso aberto. Para respeitar a privacidade dos pacientes/participantes e de quaisquer outros indivíduos, não envie formulários assinados.

Informações privadas que identifiquem os participantes não precisam ser incluídas, a menos que os materiais identificáveis sejam relevantes para a pesquisa (por exemplo, fotografias dos rostos dos participantes que mostrem um sintoma específico). As iniciais ou outros identificadores pessoais dos pacientes/participantes não devem aparecer em nenhuma imagem. Os dados dos pacientes/participantes devem ser anonimizados o máximo possível; por exemplo, não mencione idade, etnia ou ocupação específicas quando não forem relevantes para as conclusões. As medidas necessárias para proteger a privacidade podem incluir a desidentificação de dados, a adição de ruído ou o bloqueio de partes do banco de dados. Os editores reservam-se o direito de rejeitar qualquer submissão que não atenda a esses requisitos.

A Equipe Editorial reserva-se o direito de solicitar documentação adicional quando necessário. O manuscrito submetido será analisado pela Equipe Editorial e, mediante solicitação, será necessário fornecer comprovantes documentais (formulários de consentimento assinados e quaisquer documentos de discussão relacionados ao comitê de ética).

Exemplo de uma Declaração de Consentimento Livre e Esclarecido: “O consentimento livre e esclarecido para participação foi obtido de todos os participantes envolvidos no estudo.” OU “O consentimento livre e esclarecido para

participação não é exigido pela legislação local [fornecer a legislação local].” OU “O consentimento livre e esclarecido foi obtido verbalmente dos participantes. O consentimento verbal foi obtido em vez do consentimento por escrito porque [indicar o motivo].” OU “O consentimento livre e esclarecido para publicação foi obtido de todos os participantes humanos identificáveis.”

Requisitos para estudos sobre grupos vulneráveis e transplantes de órgãos

Se um estudo envolver grupos vulneráveis, o manuscrito será submetido a uma revisão adicional pela equipe editorial. Caso solicitado, o autor deverá fornecer documentação comprobatória, incluindo formulários de consentimento livre e esclarecido e quaisquer documentos de discussão relacionados, emitidos pelo comitê de ética ou outros órgãos competentes. Além disso, quando os estudos descreverem grupos por raça, etnia, gênero, deficiência, doença etc., uma explicação sobre a necessidade dessa categorização deverá ser claramente apresentada no artigo.

Artigos que descrevem estudos de transplante de órgãos humanos estão sujeitos a todas as políticas para pesquisa envolvendo seres humanos. Além disso, os autores devem especificar a(s) instituição(ões), clínica(s) ou departamento(s) de onde os órgãos ou tecidos foram obtidos. A MDPI não aceita manuscritos que relatem dados sobre órgãos e/ou outros materiais obtidos de atividades comerciais ilegais, prisioneiros executados ou outras práticas antiéticas relacionadas à doação de órgãos. Manuscritos que abordem essa prática, como editoriais ou relatos sobre suas consequências secundárias, podem ser considerados a critério do Editor-Chefe, mas exigem um apelo por escrito ao escritório editorial antes do envio. Para mais recursos sobre transplante de órgãos, a MDPI segue o glossário mantido pela Rede de Aquisição e Transplante de Órgãos (<https://optn.transplant.hrsa.gov/patients/glossary/>).

Registro de Ensaios Clínicos

Inscrição

Os ensaios clínicos estão sujeitos a todas as políticas relativas **à pesquisa envolvendo seres humanos**. Além disso, a MDPI segue as **diretrizes** do Comitê

Internacional de Editores de Revistas Médicas (ICMJE) , que exigem o registro de ensaios clínicos em um registro público de ensaios clínicos no momento do primeiro recrutamento de pacientes ou antes dele, como condição para a consideração da publicação. O ICMJE define um ensaio clínico como qualquer projeto de pesquisa que atribua prospectivamente pessoas ou um grupo de pessoas a uma intervenção, com ou sem grupos de comparação ou controle concomitantes, para estudar a relação entre uma intervenção relacionada à saúde e um desfecho de saúde. Portanto, "ensaio clínico" não se refere apenas a estudos que ocorrem em um hospital ou envolvem produtos farmacêuticos, mas também a todos os estudos que envolvem randomização de participantes e classificação de grupos no contexto da intervenção em avaliação.

Os autores devem pré-registrar os ensaios clínicos em um registro internacional de ensaios clínicos. Bancos de dados adequados incluem o **clinicaltrials.gov** , o **Registro de Ensaios Clínicos da UE** e aqueles listados na **Plataforma Internacional de Registro de Ensaios Clínicos** da Organização Mundial da Saúde . O nome do registro, o número de registro do ensaio e a data de registro devem ser incluídos na declaração do Comitê de Ética em Pesquisa ou na seção de Materiais e Métodos.

Estudos puramente observacionais (por exemplo, estudos de coorte, estudos transversais e estudos de caso-controle) não exigem registro. Os editores podem considerar exceções aos requisitos de registro prévio em alguns casos. Se uma exceção for concedida, os autores devem registrar o estudo retroativamente e indicar claramente a data e os motivos do registro retroativo na seção de Materiais e Métodos da publicação.

A aprovação para conduzir um estudo por um órgão de revisão independente local, regional ou nacional não equivale ao registro prospectivo de um ensaio clínico. A MDPI reserva-se o direito de recusar qualquer artigo sem registro de ensaio clínico para revisão por pares adicional.

Diretrizes para Relatórios de Ensaios Clínicos Randomizados

Além do registro do ensaio clínico, a MDPI exige um checklist e um **fluxograma CONSORT 2025** preenchidos como condição para a submissão de artigos que relatam os resultados de um ensaio clínico randomizado. Os modelos de checklist podem ser encontrados no **site do CONSORT**, que também descreve diversas extensões do checklist CONSORT para diferentes delineamentos e tipos de dados além de ensaios paralelos com dois grupos. Como requisito mínimo, os artigos sobre ensaios clínicos devem relatar o conteúdo abordado por cada item do checklist.

Diretrizes éticas para o uso de animais em pesquisa

Os editores exigirão que os benefícios potencialmente derivados de qualquer pesquisa que cause danos a animais sejam significativos em relação a qualquer custo suportado pelos animais, e que os procedimentos seguidos sejam pouco propensos a ofender a maioria dos leitores. Os autores devem garantir, em particular, que sua pesquisa esteja em conformidade com os '3Rs' [1] comumente aceitos:

Substituição de animais por alternativas sempre que possível.

Redução no número de animais utilizados, e

Aprimoramento das condições e procedimentos experimentais para minimizar os danos aos animais.

Os autores devem incluir detalhes sobre alojamento, manejo e controle da dor em seu manuscrito.

Para obter mais orientações, os autores devem consultar o Código de Práticas para Alojamento e Cuidado de Animais Utilizados em Procedimentos Científicos [2], a Associação Americana para a Ciência de Animais de Laboratório [3] ou a Associação Europeia de Investigação Animal [4].

Caso a legislação nacional assim o exija, estudos envolvendo vertebrados ou invertebrados superiores só devem ser realizados após a obtenção da aprovação do comitê de ética competente. No mínimo, o código de identificação do projeto, a data de aprovação e o nome do comitê de ética ou conselho de revisão institucional devem ser declarados na seção "Declaração do Conselho de Revisão Institucional". Os procedimentos de pesquisa devem ser realizados em conformidade com as normas nacionais e institucionais. As declarações sobre bem-estar animal devem confirmar

que o estudo cumpriu toda a legislação pertinente. Estudos clínicos envolvendo animais e intervenções fora da rotina de cuidados veterinários exigem a supervisão de um comitê de ética, conforme as diretrizes da Associação Americana de Medicina Veterinária (AVMA). Se o estudo envolver animais de propriedade de clientes, o consentimento informado do cliente deve ser obtido e certificado no relatório do manuscrito da pesquisa. Os proprietários devem ser plenamente informados sobre quaisquer riscos associados aos procedimentos e sobre a publicação da pesquisa. Se disponível, um alto padrão de atendimento veterinário deve ser fornecido. Os autores são responsáveis pela veracidade das informações contidas no manuscrito.

Caso a aprovação ética não seja exigida pelas leis nacionais, os autores devem apresentar uma declaração de isenção do comitê de ética, se houver. Quando um estudo obtiver isenção, o nome do comitê de ética que a concedeu deverá ser mencionado na seção "Declaração do Comitê de Revisão Institucional", juntamente com uma explicação completa sobre os motivos pelos quais a aprovação ética não foi necessária.

Caso não haja um comitê de ética em pesquisa animal disponível para analisar as solicitações, os autores devem estar cientes de que a ética de sua pesquisa será avaliada por revisores e editores. Os autores devem fornecer uma declaração justificando o trabalho sob uma perspectiva ética, utilizando a mesma estrutura utilitarista empregada pelos comitês de ética. Os autores podem ser solicitados a fornecer essa declaração mesmo que já tenham recebido aprovação ética.

A MDPI endossa as diretrizes ARRIVE (arriveguidelines.org/) para o relato de experimentos com animais vivos. Autores e revisores devem usar as diretrizes ARRIVE como um guia de verificação, que pode ser encontrado em <https://arriveguidelines.org/sites/arrive/files/documents/ARRIVE%20Compliance%20Questionnaire.pdf> . Os editores reservam-se o direito de solicitar o guia de verificação e de rejeitar submissões que não estejam em conformidade com essas diretrizes, bem como de rejeitar submissões com base em preocupações éticas ou de bem-estar animal, ou se o procedimento descrito não parecer justificado pelo valor do trabalho apresentado.

Painel de Revisão de Pesquisa Animal e do Departamento de Indústrias Primárias de Nova Gales do Sul. Os Três Rs. Disponível online: <https://www.dpi.nsw.gov.au/dpi/animals/animal-ethics-infolink/three-rs>

Ministério do Interior. Lei de Animais (Procedimentos Científicos) de 1986. Código de Práticas para o Alojamento e Cuidado de Animais Criados, Fornecidos ou Utilizados para Fins Científicos. Disponível online: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/388535/CoPanimalsWeb.pdf

Associação Americana para a Ciência de Animais de Laboratório. A Base Científica para a Regulamentação do Cuidado e Uso de Animais. Disponível online: <https://www.aalas.org/about-aalas/position-papers/scientific-basis-for-regulation-of-animal-care-and-use>

Associação Europeia de Investigação Animal. Regulamentos da UE sobre investigação animal. Disponível online: <https://www.eara.eu/animal-research-law>

Pesquisa envolvendo linhagens celulares

A seção de métodos para submissões que relatam pesquisas com linhagens celulares deve indicar a origem de quaisquer linhagens celulares utilizadas. Para linhagens celulares já estabelecidas, a proveniência deve ser declarada e referências devem ser fornecidas, seja para um artigo publicado ou para uma fonte comercial. Se linhagens celulares *de novo* não publicadas anteriormente foram utilizadas, incluindo aquelas cedidas por outro laboratório, detalhes da aprovação do comitê de ética em pesquisa ou do comitê de ética institucional devem ser fornecidos, e a confirmação do consentimento livre e esclarecido por escrito deve ser apresentada se a linhagem for de origem humana.

Um exemplo de declarações éticas:

A linhagem celular HCT116 foi obtida da XXXX. A linhagem celular MLH1⁺ foi fornecida pela XXXXX, Ltd. A linhagem celular DLD-1 foi obtida do Dr. XXXX. Os plasmídeos repórteres DR-GFP e SA-GFP foram obtidos do Dr. XXX e o vetor de expressão Rad51K133A foi obtido do Dr. XXXX.

Pesquisa envolvendo plantas

A pesquisa experimental com plantas (cultivadas ou silvestres), incluindo a coleta de material vegetal, deve estar em conformidade com as diretrizes institucionais, nacionais ou internacionais. Recomendamos que os autores cumpram a **Convenção sobre Diversidade Biológica** e a **Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Fauna e da Flora Selvagens Ameaçadas de Extinção**.

Para cada manuscrito submetido, devem ser fornecidas informações genéticas e de origem que comprovem a sua existência. Para manuscritos de pesquisa envolvendo plantas raras e não-modelo (exceto, por exemplo, *Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana benthamiana*, *Oryza sativa* ou muitas outras plantas-modelo típicas), espécimes-testemunho devem ser depositados em um herbário ou museu acessível. Os espécimes-testemunho podem ser solicitados para revisão por pesquisadores futuros, a fim de verificar a identidade do material utilizado no estudo (especialmente se ocorrerem rearranjos taxonômicos no futuro). Devem incluir detalhes das populações amostradas no local de coleta (coordenadas GPS), data da coleta e documentar a(s) parte(s) utilizada(s) no estudo, quando apropriado. Para espécies raras, ameaçadas ou em perigo de extinção, essa exigência pode ser dispensada, mas é necessário que o autor descreva essa situação na carta de apresentação.

Os editores reservam-se o direito de rejeitar qualquer submissão que não cumpra estes requisitos.

Um exemplo de declarações éticas:

Plantas de Torenia fournieri foram utilizadas neste estudo. Cultivares de Coroa Branca (CrW) com flores brancas e Coroa Violeta (CrV) com flores violetas, selecionadas da 'Crown Mix' (Empresa XXX, Cidade, País), foram gentilmente cedidas pelo Dr. XXX (Instituto XXX, Cidade, País).

As linhagens mutantes de *Arabidopsis* (SALKxxxx, SAILxxxx,...) foram gentilmente cedidas pelo Dr. XXX, instituto, cidade, país).

Pesquisa de dupla utilização preocupante

A MDPI segue a estrutura prática descrita no documento "**Guia para Editores: Pesquisa, Auditoria e Avaliações de Serviço**", introduzido pelo Comitê de Ética em

Publicações (COPE). Pesquisas que possam representar uma ameaça significativa, com amplas consequências potenciais para a saúde pública ou segurança nacional, devem ser claramente indicadas no manuscrito, e pesquisas com potencial para uso duplo que gerem preocupação devem ser explicadas na carta de apresentação no momento da submissão. Áreas de preocupação em potencial incluem, entre outras, biossegurança, ameaças nucleares e químicas e pesquisas com finalidade ou aplicação militar. Para que esses manuscritos sejam considerados para revisão por pares, os benefícios para o público em geral ou para a saúde pública devem superar os riscos. Os autores têm a responsabilidade de cumprir as leis nacionais e internacionais pertinentes.

Sexo e gênero na pesquisa

Incentivamos nossos autores a seguirem as **diretrizes "Equidade de Sexo e Gênero na Pesquisa – SAGER"** e a incluírem considerações sobre sexo e gênero quando relevantes. Os autores devem usar os termos sexo (atributo biológico) e gênero (moldado por circunstâncias sociais e culturais) com cuidado para evitar confusão entre eles. Os títulos e/ou resumos dos artigos devem indicar claramente a qual(is) sexo(s) o estudo se aplica. Os autores também devem descrever, na introdução, se diferenças de sexo e/ou gênero são esperadas; relatar como o sexo e/ou gênero foram considerados no planejamento do estudo; fornecer dados desagregados por sexo e/ou gênero, quando apropriado; e discutir os respectivos resultados. Caso uma análise de sexo e/ou gênero não tenha sido realizada, a justificativa deve ser apresentada na Discussão. Sugerimos que nossos autores consultem as **diretrizes** completas antes da submissão.

Fronteiras e Territórios

Possíveis disputas sobre fronteiras e territórios podem ter particular relevância para os autores na descrição de suas pesquisas ou no endereço de correspondência entre autor e editor, e devem ser respeitadas. As decisões sobre o conteúdo são de responsabilidade editorial e, quando houver uma possível ou percebida disputa ou reclamação, a equipe editorial tentará encontrar uma solução que satisfaça as partes envolvidas.

A MDPI mantém-se neutra em relação a reivindicações jurisdicionais em mapas publicados e afiliações institucionais.

Declaração de Ética de Publicação

A *Beverages* é membro do Comitê de Ética em Publicações (**COPE**). Aderimos integralmente ao seu **Código de Conduta** e às suas **Diretrizes de Boas Práticas** .

Os editores desta revista aplicam um rigoroso processo de revisão por pares, juntamente com políticas e padrões éticos estritos, para garantir a publicação de trabalhos científicos de alta qualidade no campo acadêmico. Infelizmente, casos de plágio, falsificação de dados, manipulação de imagens, atribuição de autoria inadequada e similares podem ocorrer. Os editores da *revista Beverages* levam essas questões de ética editorial muito a sério e são treinados para lidar com esses casos com uma política de tolerância zero.

Os autores que desejam publicar seus artigos na *revista Beverages* devem seguir as seguintes diretrizes:

Quaisquer fatos que possam ser percebidos como um possível conflito de interesses do(s) autor(es) devem ser divulgados no artigo antes do envio.

Os autores devem apresentar suas descobertas de forma precisa e incluir uma discussão objetiva sobre a importância dessas descobertas.

Os dados e métodos utilizados na pesquisa precisam ser apresentados com detalhes suficientes no artigo, para que outros pesquisadores possam replicar o trabalho.

Os dados brutos devem ser preferencialmente depositados publicamente pelos autores antes da submissão do manuscrito. Os autores precisam ter, no mínimo, os dados brutos prontamente disponíveis para apresentação aos revisores e editores da revista, caso solicitados. Os autores precisam garantir que as medidas apropriadas sejam tomadas para que os dados brutos sejam mantidos integralmente por um período razoável após a publicação.

A submissão simultânea de manuscritos a mais de uma revista não é tolerada.

A revista aceita traduções literais de trabalhos previamente publicados. Todas as traduções submetidas devem estar em conformidade com nossas **políticas sobre traduções** .

Caso os autores identifiquem erros ou imprecisões após a publicação do artigo, devem comunicá-los imediatamente aos editores desta revista para que as medidas cabíveis sejam tomadas. Consulte nossa **política sobre Atualização de Artigos Publicados** .

Seu manuscrito não deve conter nenhuma informação que já tenha sido publicada. Caso inclua figuras ou imagens já publicadas, obtenha a permissão necessária do detentor dos direitos autorais para publicação sob a licença CC-BY. Para mais informações, consulte a página de **Direitos e Permissões** .

Plágio, fabricação de dados e manipulação de imagens não são tolerados.

O plágio não é aceitável em trabalhos submetidos à *categoria Bebidas* .

Plágio inclui copiar texto, ideias, imagens ou dados de outra fonte, inclusive de suas próprias publicações, sem dar crédito à fonte original.

A reutilização de texto copiado de outra fonte deve ser feita entre aspas e a fonte original deve ser citada. Se o desenho do estudo, a estrutura do manuscrito ou a linguagem tiverem sido inspirados em trabalhos anteriores, esses trabalhos devem ser explicitamente citados.

Todos os artigos submetidos à MDPI são verificados quanto a plágio utilizando o software padrão da indústria, iThenticate. Se o plágio for detectado durante o processo de revisão por pares, o manuscrito poderá ser rejeitado. Se o plágio for detectado após a publicação, será realizada uma investigação e as medidas cabíveis serão tomadas de acordo com nossas políticas.

Os arquivos de imagem não devem ser manipulados ou ajustados de forma alguma que possa levar a uma interpretação errônea das informações fornecidas pela imagem original.

A manipulação irregular inclui: 1) introdução, realce, movimentação ou remoção de elementos da imagem original; 2) agrupamento de imagens que obviamente deveriam ser apresentadas separadamente (por exemplo, de diferentes partes do mesmo gel ou de géis diferentes); ou 3) modificação do contraste, brilho ou equilíbrio de cores para obscurecer, eliminar ou realçar alguma informação.

Caso seja identificada e confirmada manipulação irregular de imagens durante o processo de revisão por pares, poderemos rejeitar o manuscrito. Caso seja identificada e confirmada manipulação irregular de imagens após a publicação, poderemos corrigir ou retratar o artigo.

Nossos editores internos investigarão quaisquer alegações de má conduta na publicação e poderão entrar em contato com as instituições ou financiadores dos autores, se necessário. Caso sejam encontradas evidências de má conduta, as medidas cabíveis serão tomadas para corrigir ou retratar a publicação. Espera-se que os autores sigam as melhores práticas éticas de publicação ao publicar com a MDPI.

Política de Citação

Os autores devem garantir que, quando utilizarem material retirado de outras fontes (incluindo seus próprios trabalhos publicados), a fonte seja claramente citada e que a devida permissão seja obtida.

Os autores não devem se envolver em autocitações excessivas de seus próprios trabalhos.

Os autores não devem copiar referências de outras publicações se não tiverem lido a obra citada.

Os autores não devem citar preferencialmente as suas próprias publicações ou as de seus amigos, colegas ou da instituição.

Os autores não devem citar anúncios ou material publicitário.

De acordo com as diretrizes do COPE, esperamos que “trechos originais extraídos diretamente de publicações de outros pesquisadores apareçam entre aspas, acompanhados das devidas citações”. Essa condição também se aplica aos trabalhos

do próprio autor. O COPE elaborou um documento de discussão sobre **manipulação de citações** com recomendações de boas práticas.

[Voltar ao topo]

Sugestões do avaliador

Durante o processo de submissão, sugira três potenciais revisores com a experiência adequada para avaliar o manuscrito. Os editores não entrarão em contato com esses revisores necessariamente. Forneça informações de contato detalhadas (endereço, página inicial, telefone e e-mail). Os revisores sugeridos não devem ser colaboradores atuais dos coautores nem ter publicado com nenhum dos coautores do manuscrito nos últimos três anos. Os revisores sugeridos devem ser de instituições diferentes das dos autores. Você pode indicar membros do Conselho Editorial da revista como potenciais revisores. Você também pode sugerir revisores dentre os autores que você cita frequentemente em seu artigo. Para obter informações detalhadas sobre as qualificações e responsabilidades dos revisores, visite **<https://www.mdpi.com/reviewers>** .

[Voltar ao topo]

Revisão extensiva em inglês

É responsabilidade dos autores submeter seus trabalhos em inglês correto. A taxa de publicação (APC) inclui apenas revisão básica do inglês, realizada por falantes nativos. A APC não inclui revisão extensa do inglês. Caso seja necessária revisão extensa, seu artigo poderá ser devolvido a você na etapa de revisão do inglês do processo de publicação. Isso poderá atrasar a publicação do seu trabalho. Você pode solicitar a revisão do seu trabalho por um colega experiente em inglês ou utilizar um serviço pago de revisão linguística antes de submeter seu artigo para publicação. Oferecemos revisão rápida em inglês, concluída em 1 dia, aqui: **Serviços para Autores** .

[Voltar ao topo]

Pré-publicações e artigos de conferência

A revista *Beverages* aceita artigos que já tenham sido disponibilizados como pré-publicações, desde que não tenham passado por revisão por pares. Uma pré-publicação é uma versão preliminar de um artigo disponibilizada online antes do seu envio para publicação na revista.

A MDPI opera o **Preprints**, um servidor de pré-publicações no qual os artigos submetidos podem ser enviados diretamente após a conclusão do envio para a revista. Observe que o *Preprints* opera independentemente da revista e a publicação de uma pré-publicação não afeta o processo de revisão por pares. Consulte as **instruções para autores do Preprints** para obter mais informações.

Artigos de conferência expandidos e de alta qualidade podem ser considerados artigos científicos se atenderem aos seguintes requisitos: (1) o artigo deve ser expandido para o tamanho de um artigo científico; (2) o artigo de conferência deve ser citado e mencionado na primeira página do artigo; (3) se os autores não detiverem os direitos autorais do artigo de conferência publicado, os autores devem obter a permissão apropriada do detentor dos direitos autorais; (4) os autores devem informar que se trata de um artigo de conferência em sua carta de apresentação e incluir uma declaração sobre as alterações em relação ao artigo de conferência original.

Recomenda-se que os artigos de conferência não publicados que não atendam às condições acima sejam submetidos aos **periódicos da Série de Anais**.

[Voltar ao topo]

Autoria

A MDPI segue as diretrizes do Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (**ICMJE**), que estabelecem que, para ser considerado autor de um manuscrito, os seguintes critérios devem ser observados:

Contribuir substancialmente para a concepção ou o projeto do trabalho, ou para a aquisição, análise ou interpretação dos dados necessários ao trabalho;

Elabore o trabalho ou revise-o criticamente quanto ao conteúdo intelectual importante;

Aprovar em versão final a versão a ser publicada;

Concordar em ser responsável por todos os aspectos do trabalho, garantindo que as questões relativas à precisão ou integridade de qualquer parte do trabalho sejam devidamente investigadas e resolvidas.

Aqueles que contribuíram para o trabalho, mas não se qualificam como autores, devem ser listados nos agradecimentos. Orientações mais detalhadas sobre autoria são fornecidas pelo **Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas (ICMJE)**.

Qualquer alteração na lista de autores deve ser aprovada por todos os autores, incluindo aqueles que foram removidos da lista. O autor correspondente deve atuar como ponto de contato entre o editor e os demais autores, mantendo os coautores informados e envolvendo-os nas principais decisões sobre a publicação. Reservamo-nos o direito de solicitar a confirmação de que todos os autores atendem às condições de autoria.

Para obter mais detalhes sobre a autoria, consulte **o site de ética da MDPI**.

Independência Editorial

Ausência de interferência nas decisões editoriais

A independência editorial é de suma importância e a MDPI não interfere nas decisões editoriais. Todos os artigos publicados pela MDPI são revisados por pares e avaliados por nossos conselhos editoriais independentes, e a equipe da MDPI não se envolve nas decisões de aceitação de manuscritos. Ao tomar uma decisão editorial, esperamos que o editor acadêmico baseie sua decisão apenas em:

A adequação dos revisores selecionados;

Adequação dos comentários dos revisores e da resposta do autor;

Qualidade científica geral do artigo.

Em todas as nossas revistas, em todos os aspectos de nossa operação, as políticas da MDPI são orientadas pela missão de tornar a ciência e as descobertas da pesquisa abertas e acessíveis o mais amplamente e rapidamente possível.

Editores e equipe editorial como autores

Os membros da equipe editorial ou editores não devem se envolver no processamento de seus próprios trabalhos acadêmicos. Os artigos submetidos por membros da equipe editorial/editores serão atribuídos a pelo menos dois revisores externos independentes. As decisões serão tomadas por outros membros do Conselho Editorial que não tenham conflito de interesses com o autor. Os funcionários da revista não se envolvem no processamento de seus próprios trabalhos submetidos a qualquer revista da MDPI.

Conflitos de interesse

De acordo com o Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas, “Os autores devem evitar firmar acordos com patrocinadores de estudos, sejam eles com ou sem fins lucrativos, que interfiram no acesso dos autores a todos os dados do estudo ou que interfiram em sua capacidade de analisar e interpretar os dados e de preparar e publicar manuscritos de forma independente, quando e onde desejarem”.

Todos os autores devem divulgar quaisquer relações ou interesses que possam influenciar ou enviesar indevidamente seu trabalho. Exemplos de potenciais conflitos de interesse incluem, mas não se limitam a, interesses financeiros (como filiação, emprego, consultoria, participação acionária, honorários, bolsas ou outros financiamentos, depoimentos periciais remunerados e acordos de licenciamento de patentes) e interesses não financeiros (como relações pessoais ou profissionais, afiliações, crenças pessoais).

Os autores podem divulgar potenciais conflitos de interesse por meio do sistema de submissão online durante o processo de submissão. Declarações sobre conflitos de interesse também podem ser coletadas por meio do **formulário de divulgação da MDPI**. O autor correspondente deve incluir uma declaração resumida no manuscrito em uma seção separada intitulada “Conflitos de Interesse”, localizada imediatamente antes da lista de referências. A declaração deve refletir todas as divulgações de potenciais conflitos de interesse coletadas no formulário.

Veja abaixo exemplos de divulgações:

Conflitos de interesse: O autor A recebeu financiamento para pesquisa da Empresa A. O autor B recebeu honorários como palestrante da Empresa X e possui

ações da Empresa Y. O autor C atuou como consultor e perito da Empresa Z. O autor D é o inventor da patente X.

Caso não haja conflitos de interesse, os autores devem declarar:

Conflitos de interesse: Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

[Voltar ao topo]

Procedimentos editoriais e revisão por pares

Verificação prévia

Imediatamente após o envio, o Editor-Chefe da revista realizará a verificação técnica prévia para avaliar:

Adequação geral do manuscrito à revista/seção/edição especial;

O manuscrito deve seguir padrões éticos e de pesquisa de alta qualidade;

Critérios rigorosos para qualificação para análise posterior.

O editor acadêmico (ou seja, o Editor-Chefe no caso de submissões regulares, o Editor Convidado no caso de submissões para Edições Especiais, ou um membro do Conselho Editorial em caso de conflito de interesses e de submissões regulares, se o Editor-Chefe permitir) será notificado da submissão e convidado a realizar uma pré-avaliação editorial. Durante essa fase, o editor acadêmico avaliará a adequação da submissão ao escopo da revista, bem como a solidez científica geral do manuscrito, incluindo a relevância das referências e a correção da metodologia aplicada. Os editores acadêmicos podem decidir rejeitar o manuscrito, solicitar revisões antes da revisão por pares ou prosseguir com o processo de revisão por pares e recomendar revisores adequados.

Revisão por pares

Após a aprovação nas verificações iniciais, o manuscrito será encaminhado para pelo menos dois especialistas independentes para revisão por pares. Adota-se o método de revisão cega simples, no qual a identidade dos autores é conhecida pelos revisores. Os comentários dos revisores são confidenciais, mas serão divulgados caso os autores optem pela revisão por pares aberta.

No caso de submissões regulares, os editores assistentes internos convidarão especialistas, incluindo recomendações de um editor acadêmico. Esses especialistas também podem incluir *membros do Conselho Editorial* e Editores Convidados da revista. Potenciais revisores sugeridos pelos autores também poderão ser considerados. Os revisores não devem ter publicado com nenhum dos coautores nos últimos três anos e não devem trabalhar ou colaborar atualmente com nenhuma das instituições dos coautores do manuscrito submetido. Para mais detalhes sobre potenciais conflitos de interesse, consulte aqui: https://www.mdpi.com/reviewers#_bookmark9 .

Revisão por pares aberta opcional

A revista adota o sistema opcional de revisão por pares aberta: *os autores têm a opção de publicar todos os relatórios de revisão e decisões editoriais juntamente com o manuscrito. Além disso, os revisores podem assinar suas revisões, ou seja, identificar-se nos relatórios de revisão publicados.* Os autores podem alterar sua escolha pela revisão por pares aberta a qualquer momento antes da publicação, mas, após a publicação do artigo, as alterações serão feitas somente a critério do *Editor* e do *Editor-Chefe* . Incentivamos os autores a aproveitarem essa oportunidade como prova do rigor do processo empregado na publicação de suas pesquisas. Para garantir a imparcialidade da revisão por pares, os nomes dos revisores serão revelados somente se eles concordarem e após a aceitação do artigo para publicação.

Decisão e revisão editorial

Todos os artigos, revisões e comunicações publicados nos periódicos da MDPI passam pelo processo de revisão por pares e recebem pelo menos duas avaliações. O editor interno comunicará a decisão do editor acadêmico, que será uma das seguintes:

Aceitação após revisão mínima :

O artigo é, em princípio, aceito após revisão com base nos comentários do revisor. Os autores têm cinco dias para realizar revisões mínimas.

Reconsideração após Revisão Substancial :

A aceitação do manuscrito dependerá da revisão. O autor deverá fornecer uma resposta ponto a ponto ou uma refutação caso alguns dos comentários do revisor não possam ser revisados. Normalmente, são permitidas no máximo duas rodadas de revisão substancial por manuscrito. Os autores serão solicitados a reenviar o artigo revisado dentro de um prazo adequado, e a versão revisada será devolvida ao revisor para comentários adicionais.

Rejeição e incentivo à nova submissão :

Caso sejam necessários experimentos adicionais para corroborar as conclusões, o manuscrito será rejeitado e os autores serão incentivados a reenviá-lo após a realização desses experimentos.

Rejeitado :

O artigo apresenta falhas graves e/ou não oferece nenhuma contribuição original significativa. Não há oferta de nova submissão à revista.

Todos os comentários dos revisores devem ser respondidos ponto por ponto. Quando os autores discordarem de um revisor, devem fornecer uma resposta clara.

Caso a equipe editorial da revista não consiga manter contato com o autor durante o processo de revisão ou produção do manuscrito, a revista reserva-se o direito de retirar o manuscrito após um período determinado de inatividade.

Apelos do autor

Os autores podem recorrer de uma rejeição enviando um e-mail para a Secretaria Editorial da revista. O recurso deve apresentar uma justificativa detalhada, incluindo respostas ponto a ponto aos comentários dos revisores e/ou do Editor, utilizando um **formulário de recurso**. Os recursos só podem ser submetidos após uma decisão de “rejeitar e recusar nova submissão” e devem ser enviados dentro de três meses a partir da data da decisão. O não cumprimento desses critérios resultará na não consideração do recurso. O *Editor Executivo* encaminhará o manuscrito e as informações relacionadas (incluindo a identidade dos revisores) a um *membro designado do Conselho Editorial*. O *Editor Acadêmico* consultado será solicitado a fornecer uma recomendação sobre o manuscrito e poderá recomendar a aceitação,

uma nova revisão por pares ou a manutenção da decisão original de rejeição. Essa decisão será então validada pelo *Editor-Chefe* . Uma decisão de rejeição nesta etapa é final e irreversível.

Produção e publicação

Após a aceitação, o manuscrito passará por revisão profissional de texto, revisão do inglês, revisão final pelos autores, correções, paginação e publicação no site www.mdpi.com .

Normalmente, não é permitido aos autores alterar o texto principal após a aceitação (exceto em relação à formatação, gramática inglesa, etc.). Caso desejem revisar o texto principal, os autores devem informar a equipe editorial da revista e apresentar suas justificativas. Em seguida, uma nova rodada de decisões acadêmicas será tomada com base no manuscrito e nas respostas dos autores.

Leia [aqui](#) os detalhes do Processo Editorial.

[\[Voltar ao topo\]](#)

Recomendações para publicações que contenham dados sensoriais

[Por favor, visite aqui.](#)

[\[Voltar ao topo\]](#)

Serviço de Transferência

A transferência de manuscritos oferece aos autores um método conveniente para reenviar o arquivo do manuscrito e quaisquer comentários dos revisores para outro periódico dentro do nosso portfólio de publicações.

Estamos empenhados em ajudar os autores a encontrar o local ideal para suas pesquisas e forneceremos orientação e suporte técnico em todas as etapas do processo de transferência. Os autores poderão optar por transferir um manuscrito em uma das duas situações descritas abaixo.

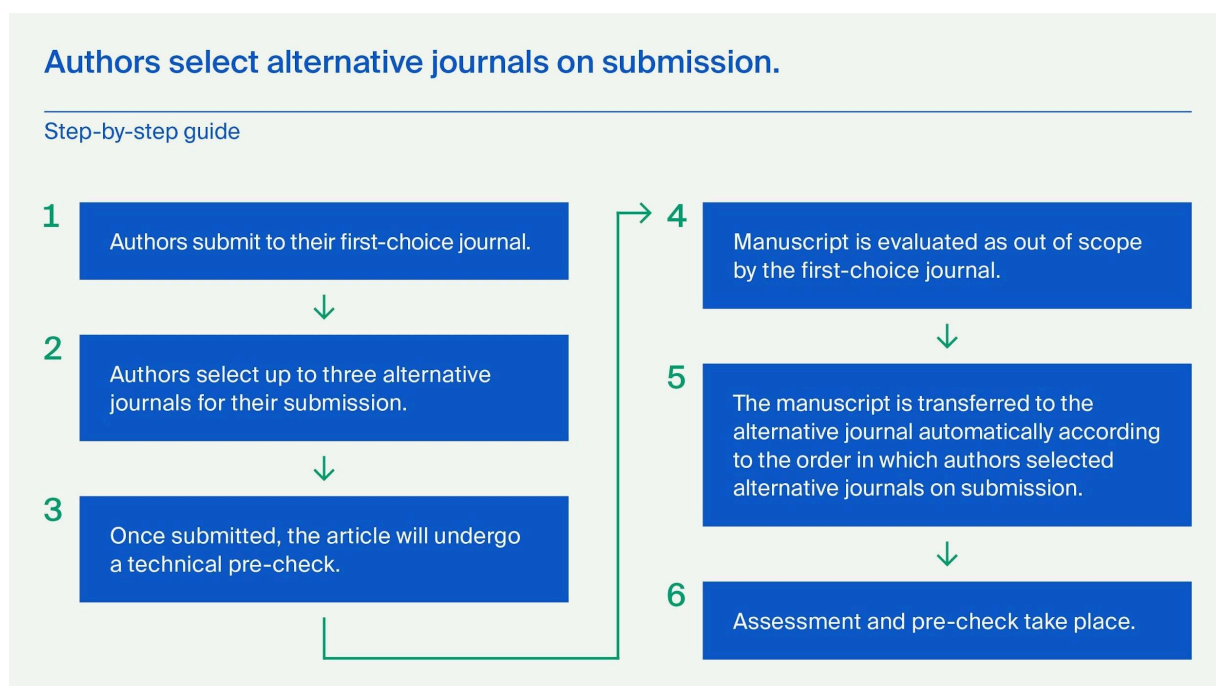
1. Selecione periódicos alternativos para submissão.

Atualmente, solicitamos a todos os autores que selecionem até três periódicos alternativos durante o processo de submissão. Os periódicos alternativos sugeridos

serão ordenados de acordo com a preferência dos autores. Se um artigo for considerado fora do escopo pelo periódico de primeira escolha, ele será automaticamente transferido para o primeiro periódico alternativo. Se o primeiro periódico alternativo também rejeitar o artigo por estar fora do escopo, ele será automaticamente transferido para o segundo periódico alternativo, e assim por diante.

As informações abaixo se aplicam à transferência de manuscritos quando seu artigo for rejeitado e transferido automaticamente para o periódico alternativo selecionado.

Observação: Se você não selecionou uma revista alternativa durante o envio, o que segue abaixo não se aplica.



Como faço para selecionar uma revista alternativa?

Os autores podem usar nossa ferramenta **de busca de periódicos** para identificar periódicos adequados em nosso portfólio. Sugerimos que você selecione periódicos alternativos com base no escopo e na área temática do seu manuscrito.

Todas as nossas revistas estão listadas **aqui** , e você pode saber mais sobre cada uma clicando no link para a página inicial.

Preciso pagar para transferir meu manuscrito?

Não, não há nenhuma taxa direta para a transferência do seu manuscrito.

taxas de publicação de acesso aberto

Se você transferir seu manuscrito para outro periódico de acesso aberto (OA), será cobrada uma Taxa de Processamento de Artigo (APC) caso seu artigo seja aceito para publicação. A APC de cada periódico pode ser encontrada no site específico do periódico. Para mais informações sobre APCs, consulte **aqui** .

Os autores são encorajados a transferir seus manuscritos para outros periódicos da MDPI.

Caso a revista para a qual o artigo foi submetido não possa processá-lo, mas outras revistas da MDPI possam, ou se o Editor Acadêmico incentivar os autores a transferir o manuscrito para outras revistas da MDPI após a revisão, os autores receberão um e-mail com a lista das revistas recomendadas. Os autores poderão clicar no link presente no e-mail para transferir ou reenviar o artigo, conforme desejarem.