

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

WILLIAM JÚNIOR RIBEIRO DOS SANTOS

**FRACIONAMENTO DO CALDO FERMENTADO DE KOMBUCHA POR COLUNA
DE TROCA IÔNICA**

DOIS VIZINHOS

2025

WILLIAM JÚNIOR RIBEIRO DOS SANTOS

**FRACIONAMENTO DO CALDO FERMENTADO DE KOMBUCHA POR COLUNA
DE TROCA IÔNICA**

Fractionation of fermented kombucha broth by ion exchange column

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Dra. Andreia Anschau
Coorientadora: Dra. Paula Fernandes Montanher

DOIS VIZINHOS

2025



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

WILLIAM JÚNIOR RIBEIRO DOS SANTOS

**FRACIONAMENTO DO CALDO FERMENTADO DE KOMBUCHA POR COLUNA
DE TROCA IÔNICA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e
Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do
Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 03/Outubro/2025

Andréia Anschau
Doutorada em Engenharia Química
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Milene Oliveira Pereira
Doutorada em Engenharia de Alimentos
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Renata Padilha De Souza Nuernberg
Doutorada em Química
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

DOIS VIZINHOS

2025

RESUMO

A produção de biomoléculas vem aumentando significativamente nos últimos anos, devido à sua grande demanda como coadjuvantes de setores alimentícios, farmacêuticos e biotecnológicos. Atrelado a isso, o custo de produção e principalmente de purificação podem atingir patamares praticamente inviáveis. Com isso, tem-se buscado alternativas que visam a redução dos custos por meio de novas estratégias de produção e separação, empregando culturas multivariáveis com boa capacidade de produção desses compostos e a utilização de tecnologias versáteis de separação de alta qualidade por compensação ionizante. Este trabalho teve como objetivo fracionar o caldo fermentado de uma cultura multivariável (Kombucha) em soluções distribuídas por cargas iônicas, empregando resinas de troca iônica comerciais. Para isso, foram realizados cultivos do Kombucha para a obtenção de seu caldo fermentado, seguido de uma separação primária por centrifugação e recuperação do sobrenadante. Em seguida, foi conduzido o fracionamento em colunas catiônicas e aniônicas, monitorando-se as etapas de carregamento, extração, eluição e regeneração. O processo foi caracterizado quanto ao teor de sólidos solúveis totais, acidez total titulável, pH, condutividade elétrica, sais dissolvidos, teor alcoólico, biomassa residual e biofilme (SCOBY). Os resultados da cinética de fermentação evidenciaram variações progressivas nos parâmetros físico-químicos, com redução do pH de valores iniciais próximos a 4,1 para cerca de 2,9 ao final do cultivo, associada ao aumento da acidez titulável de 0,29 mEq/L para valores acima de 3,2 mEq/L. A condutividade elétrica, que inicialmente variava em torno de 194 $\mu\text{S}/\text{cm}$, alcançou valores próximos a 619 $\mu\text{S}/\text{cm}$, refletindo o acúmulo de eletrólitos durante a fermentação. O processo de fracionamento por troca iônica mostrou-se relativamente eficaz, com resultados de 98% de extração e 50% de recuperação para colunas catiônicas, enquanto a coluna aniônica apresentou extração de 55% e recuperação de 99% durante a eluição, indicando a liberação de compostos retidos. As variações de condutividade, pH e sólidos solúveis ao longo das corridas confirmaram a separação seletiva de eletrólitos em suas respectivas cargas. Assim, conclui-se que o emprego de resinas de troca iônica constitui uma alternativa eficiente e escalável para o fracionamento do caldo fermentado do Kombucha, permitindo a obtenção de frações enriquecidas com diferentes metabólitos. Os resultados reforçam o potencial biotecnológico dessa abordagem para aplicações industriais, ao combinar baixo custo operacional, seletividade de separação e viabilidade ambiental.

Palavras-chave: bioprocessos; simbiose; bioativos; isoeletrico.

ABSTRACT

The production of biomolecules has increased significantly in recent years due to their high demand as adjuvants in the food, pharmaceutical, and biotechnological sectors. However, production costs, particularly those related to purification, can reach practically unfeasible levels. Therefore, alternatives have been sought to reduce costs through new production and separation strategies, employing multivariable cultures with high biosynthetic capacity and the use of versatile, high-quality separation technologies based on ion-exchange compensation. In this context, the aim of this study was to fractionate the fermented broth of a multivariable culture (Kombucha) into solutions distributed by ionic charges, using commercial ion-exchange resins. For this purpose, Kombucha cultures were prepared to obtain the fermented broth, followed by a primary separation by centrifugation and recovery of the supernatant. Subsequently, fractionation was performed using cationic and anionic columns, monitoring the steps of loading, extraction, elution, and regeneration. The process was characterized according to the content of total soluble solids, total titratable acidity, pH, electrical conductivity, dissolved salts, alcohol content, residual biomass and biofilm (SCOBY). The fermentation kinetics revealed progressive variations in physicochemical parameters, with a reduction in pH from initial values close to 4.1 to approximately 2.9 at the end of cultivation, associated with an increase in titratable acidity from 0.29 mEq/L to values above 3.2 mEq/L. Electrical conductivity, which initially varied around 194 $\mu\text{S}/\text{cm}$, reached values close to 619 $\mu\text{S}/\text{cm}$, reflecting the accumulation of electrolytes during fermentation. The ion-exchange fractionation process proved relatively effective, with results of 98% extraction and 50% recovery for cationic columns, while the anionic column showed 55% extraction and 99% recovery during elution, indicating the release of retained compounds. Variations in conductivity, pH, and soluble solids throughout the runs confirmed the selective separation of electrolytes according to their respective charges. Thus, it can be concluded that the use of ion-exchange resins is an efficient and scalable alternative for the fractionation of kombucha fermented broth, allowing the recovery of fractions enriched with different metabolites. The results highlight the biotechnological potential of this approach for industrial applications, combining low operational cost, separation selectivity, and environmental viability.

Keywords: bioprocesses; symbiosis; bioactives; isoelectric.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Visão geral dos constituintes do Kombucha.....	12
Figura 2 – Fluxograma com as classificações de resinas de troca iônica.....	24
Figura 3 – Representação tridimensional de uma microesfera de matriz poliestirenica.....	27
Figura 4 – Grupos funcionais mais empregados em resinas de troca iônica comerciais.....	30
Figura 5 – Representação da separação de troca iônica.....	33
Figura 6 – Delineamento experimental do projeto.....	35
Quadro 1 – Fatores contribuintes versus parâmetros do Kombucha.....	19
Quadro 2 – Características de matrizes em trocadores iônicos.....	29
Quadro 3 – Níveis de afinidade de contraíons em resinas catiônicas e aniônicas.....	30
Gráfico 1 – Composição dos principais microrganismos encontrados no Kombucha.....	13
Gráfico 2 – Acompanhamento de pH (●) e acidez total titulável (●) ao longo da fermentação.....	41
Gráfico 3 – Acompanhamento da condutividade elétrica (●) e acidez total titulável (●) ao longo da fermentação.....	42
Gráfico 4 – Comparativo entre condutividade elétrica (●) e sais dissolvidos (●) em (A), e entre condutividade elétrica e pH (●) em (B) ao longo da fermentação.....	43
Gráfico 5 – Cinética da biomassa em suspensão (●) e do SCOBY (●) ao longo da fermentação.....	44
Gráfico 6 – Cinética dos sólidos solúveis totais (●) em °Brix e em ppm (●) ao longo da fermentação.....	45
Gráfico 7 – Cinética de formação de etanol (A) e de ácido acético (B) ao longo da fermentação.....	47
Gráfico 8 – Perfil do pH (●) e condutividade elétrica (●) no carregamento (A) e na regeneração (B) das resinas catiônicas.....	50
Gráfico 9 – Perfil da condutividade elétrica (●) e dos sólidos solúveis totais (●) na extração (A) e eluição (B) do caldo cru em resinas catiônicas.....	52
Gráfico 10 – Perfil do pH (●) e condutividade elétrica (●) no carregamento (A) e na regeneração (B) das resinas aniônicas.....	53
Gráfico 11 – Perfil da condutividade elétrica (●) e dos sólidos solúveis totais (●) na extração (A) e eluição (B) do caldo parcial em resinas aniônicas.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais espécies descritas na literatura presente no Kombucha.....	16
Tabela 2 – Características de cada etapa de separação, purificação e tratamento.....	21
Tabela 3 – Características de resinas catiônica (ácidas) e aniônicas (básicas).....	31
Tabela 4 – Características das resinas escolhidas para o projeto.....	38
Tabela 5 – Características iniciais do Kombucha.....	40
Tabela 6 – Características das colunas de troca iônica.....	48
Tabela 7 – Características iniciais do processo de extração em resinas de troca iônica.....	49

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1	Kombucha	11
2.1.1	Composição da microbiota	12
2.1.2	Composição química e bioquímica	14
2.1.3	Parâmetros de fermentação	18
2.2	Fracionamento de biomoléculas	19
2.2.1	Centrifugação	21
2.2.2	Trocadores iônicos	22
2.3	Resinas de troca iônica	24
2.3.1	Matriz	26
2.3.2	Grupos funcionais catiônicos e aniônicos	29
2.3.3	Ambientador, eluentes e regenerador	31
3	OBJETIVO GERAL	34
3.1	Objetivo específico	34
4	MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1	Caldo de fermentação do Kombucha	36
4.2	Análise físico-química	36
4.3	Determinação de etanol e ácido acético	37
4.4	Resinas catiônicas e aniônicas	37
4.5	Ambientador, eluentes e regenerador	38
4.6	Projeto da coluna de troca iônica	38
4.7	Extração do caldo fermentado	39
4.8	Análise estatística	39
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1	Cinética de fermentação	40
5.1.1	pH e acidez total	41
5.1.2	Condutividade elétrica e sais ionizantes	42
5.1.3	Determinação de biomassa e sólidos solúveis	44
5.1.4	Concentração de etanol e ácido acético	46
5.2	Colunas de troca iônica	48
5.2.1	Coluna de troca catiônica	49
<u>5.2.1.1</u>	<u>Carregamento e regeneração</u>	<u>49</u>

<u>5.2.1.2</u>	<u>Extração e eluição</u>	<u>51</u>
5.2.2	Coluna de troca aniônica	52
<u>5.2.2.1</u>	<u>Carregamento e regeneração</u>	<u>52</u>
<u>5.2.2.2</u>	<u>Extração e eluição</u>	<u>54</u>
6	CONCLUSÃO	56
	REFERÊNCIAS.....	58

1 INTRODUÇÃO

Diversas moléculas e biomoléculas desempenham papéis importantes na indústria alimentícia, farmacêutica, cosmética e de biotecnologia (Datta; Manchineella; Govindaraju, 2020). Sua necessidade de produção em larga escala tornou-se uma necessidade para atender à demanda desses setores. Além disso, avanços na otimização do sistema *upstream* (etapas de desenvolvimento, cultivo de linhagem celular até a expansão da cultura das células) e o cultivo microbiano, permitiram a produção de diferentes compostos e o aumento da concentração desses no processo de produção (Rangel; Gómez Ramírez; González Barrios, 2020). Apesar dos avanços no sistema *upstream*, a produção de biomoléculas em larga escala requer etapas de purificação (*downstream*), necessárias para separar, purificar e remover impurezas dos produtos (Song et al., 2022). No entanto, o processo *downstream* pode representar uma parte significativa dos custos totais de produção. O número de etapas de purificação e o grau de purificação podem representar até 80% do custo final do produto (Lemma; Boi; Carbonell, 2021), podendo aumentar ainda mais dependendo do tipo de composto, complexidade do meio em que está presente e o processo envolvido para obtenção (Da Rocha et al., 2019).

Uma alternativa para redução dos custos está no emprego de sistemas de cultivos multivariáveis, com fermentações ricas na diversidade microbiana e subsequentemente ricas em seus compostos, que apresentem baixa manutenção, fácil preparação, nulo grau de toxicidade e mensuração simples da cinética de fermentação. O Kombucha é formado por uma diversidade microbiana sinérgica, rica em compostos intermediários e complexos, possui grau alimentício, tem baixa manutenção, e relatos científicos indicam diversos benefícios de seus constituintes à saúde (Leal et al., 2018; Kitwetcharoen et al., 2023). Ele é produzido por uma cultura simbiótica de bactérias ácido acéticas, ácido láctico e leveduras, que fermentam um meio complexo contendo chá e açúcar como substrato (Coelho et al., 2020).

A cromatografia de troca iônica é uma técnica comumente utilizada para separar e purificar os compostos de diferentes meios fermentados (Chen et al., 2016). Ela permite a separação com alta resolução e seletividade, possibilitando a obtenção de frações purificadas de ácidos orgânicos, polissacarídeos e outros compostos bioativos (Collins; Braga; Bonato, 2014; Rukowicz; Miesic; Alejski, 2014). Quando aplicada à base de resina, tem comportamento versátil e característico, já que

possibilita a combinação da matriz para produzir tamanhos e porosidades variáveis, tem capacidade de variar nos grupamentos funcionais para separação e possui grande faixa de operação em volume e pH (Kilikian; Pessoa Jr., 2020). É a operação unitária mais usada no processamento *downstream* de compostos bioativos, devido à sua alta capacidade de ligação e eficiência de separação (Lemma; Boi; Carbonell, 2021).

A separação por resina de troca iônica também é amplamente utilizada na indústria devido a seu grau de escalabilidade, permitindo que projetos industriais sejam dimensionados para tamanhos de partículas e formatos, sendo ainda adaptadas para volumes de produção variáveis (Grushka; Grinberg, 2009). Do ponto de vista ambiental, a utilização de resinas de troca iônica alinha-se aos princípios da química verde e pode contribuir contra impactos ambientais de acordo com sua composição e solventes de eluição (Altunterim; Vergili, 2022). Muitas vezes são empregadas para remoção de produtos tóxicos e produtos químicos agressivos em diversas áreas (Demcak; Balintova; Holub, 2020). As resinas de troca iônica, quando comparadas a outros métodos de separação, como a cromatografia líquida de alta pressão, geralmente requerem menos etapas de preparação e utilizam menos solventes, resultando em uma pegada ambiental reduzida (Alexandratos, 2021).

Embora possuam suas vantagens, sua eficiência pode ser limitada à sua capacidade de troca de íons, o que pode exigir etapas adicionais de regeneração ou substituição da resina (Kilikian; Pessoa Jr., 2020). As resinas podem ser afetadas por variações de pH, força iônica e temperatura, o que exige um controle dos parâmetros para garantir a qualidade de separação. Além disso, quando em grau analítico, podem sofrer com mão de obra intensiva e de qualidade, longos tempos de residência e quedas de pressão na corrida de separação de compostos bioativos (Collins; Braga; Bonato, 2014).

Embora vários materiais possam ser usados no processo de separação para compostos e biomoléculas, materiais de última geração disponíveis comercialmente devem ser considerados para reduzir o custo e o número de tentativas e acertos em pesquisas. Por meio de planejamentos experimentais, nesse estudo foi avaliado o fracionamento do caldo fermentado do Kombucha, empregando resinas comerciais de baixo custo como possíveis meios cromatográficos de troca iônica.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Kombucha

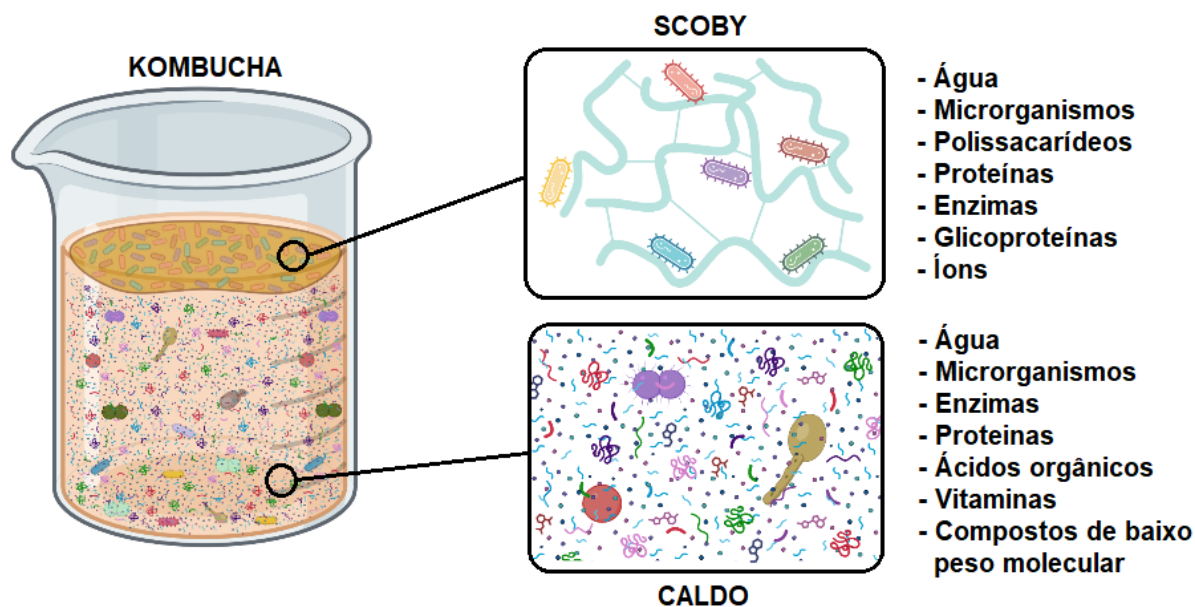
O Kombucha é uma bebida fermentada viva, refrescante e gaseificada. Sua origem não tem definição exata, porém diversos autores relatam sua originalidade no leste e nordeste asiático (Coelho et al., 2020; Mohd Ariff et al., 2023). Ela é conhecida popularmente devido a suas características sensoriais e seus benefícios associados a saúde (Coelho et al., 2020; Alves et al., 2022). Sua fermentação ocorre a partir do extrato de chá (*Camellia sinensis*) e uma fonte sacarídea, junto a uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras que é comumente abreviada em SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) (Leal et al., 2018; Kitwetcharoen et al., 2023). O SCOBY é uma película celulósica formada no processo de fermentação do Kombucha, composta principalmente por água, células microbianas, polissacarídeos (hetero e homossacarídeos), proteínas, glicoproteínas, íons e outros compostos de baixo peso molecular (Antolak; Piechota; Kucharska, 2021). A comunidade microbiana presente no Kombucha é diversa e varia entre as fermentações e meios de culturas iniciadoras, mas é composta principalmente por bactérias do ácido acético, múltiplas cepas de leveduras e a presença de pequenas quantidades de bactérias do ácido láctico (Coelho et al., 2020; Barbosa et al., 2021).

Durante a fermentação, muitos compostos bioativos do chá são liberados no caldo, como polifenóis, glicídios, cafeína e aminoácidos (Bishop et al., 2022a). Os polifenóis do chá são conhecidos por conferir a atividade antioxidante no caldo do Kombucha (Bishop et al., 2022a). Outros ingredientes bioativos também são produzidos, como ácido glucônico e ácido d-sacarico-1,4-lactona, que, segundo alguns autores podem ser usados como excelentes antídotos para proteger o fígado (Kitwetcharoen et al., 2023).

O chá fermentado de Kombucha apresenta muitos efeitos benéficos, como atividade antimicrobiana e antioxidante (Kitwetcharoen et al., 2023), tratamento de úlceras gástricas (Dimidi et al., 2019) e para colesterol alto (Costa et al., 2022). Possui em sua composição estruturas bioativas que efetuam a desintoxicação hepática (Cardoso et al., 2020a). Além disso, o fermentado do Kombucha contém muitos álcoois, ésteres e ácidos orgânicos, que realçam o sabor do chá de Kombucha (Jayabalan et al., 2014). A Figura 1 ilustra o caldo fermentado do Kombucha com

suas respectivas estruturas de formação e seus principais constituintes químicos e bioquímicos.

Figura 1 – Visão geral dos constituintes do Kombucha



Fonte: Autoria própria (2025)

2.1.1 Composição da microbiota

Uma variedade de microrganismos está envolvida no processo de fermentação do Kombucha, como *Saccharomyces*, *Komagataeibacter*, *Acetobacter* e *Gluconobacter* (Marsh et al., 2014; Barbosa et al., 2021). Além disso, o Kombucha pode apresentar diferentes perfis microbiológicos de acordo com regiões, ambientes e substratos de fermentação (Bishop et al., 2022a).

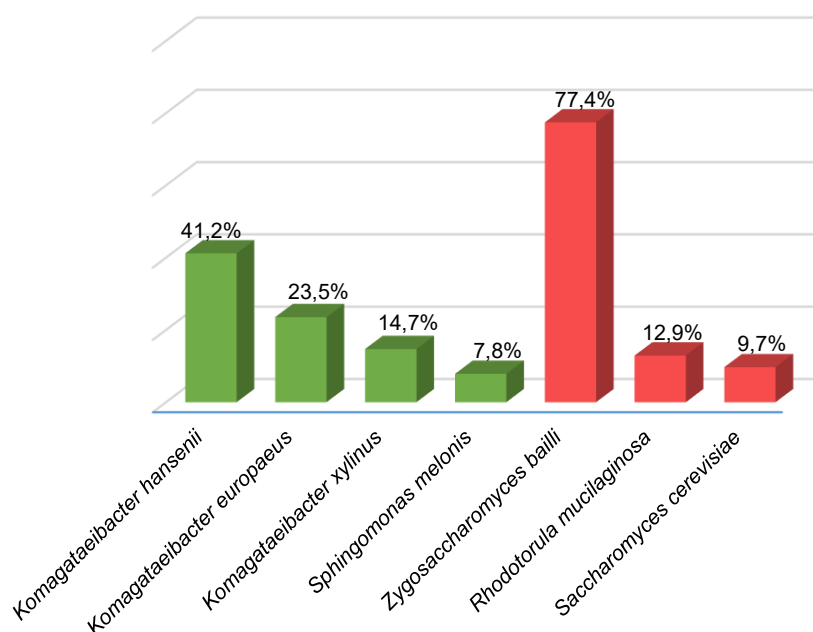
Pesquisadores norte-americanos analisaram a diversidade microbiana do Kombucha comercializada em diferentes regiões da América do Norte e descobriram que a maior abundância de bactérias era *Komagataeibacter* (Harrison; Curtin, 2021). Barbosa et al., (2021) relataram que os fungos *Zygosaccharomyces bailli*, as bactérias *Komagataeibacter hansenii* e *Komagataeibacter europaeus* foram os microrganismos dominantes no processo de fermentação do Kombucha.

Dentre os microrganismos presentes no Kombucha, as bactérias do ácido acético dos gêneros *Acetobacter*, *Gluconacetobacter* e *Gluconobacter* são as mais abundantes no processo de fermentação. Essas bactérias são responsáveis pela oxidação do álcool produzido pelas leveduras durante a fermentação, convertendo-o

em ácido acético (Barbosa et al., 2021). Além disso, elas também contribuem para a produção de outros ácidos orgânicos, enzimas, compostos bioativos e celulose no decorrer da fermentação (Villarreal-Soto et al., 2020; Alves et al., 2022).

O segundo grupo de microrganismos mais encontrado no Kombucha é o das leveduras, que correspondem a 24% da sua população de fermentação (Barbosa et al., 2021). São responsáveis pela fermentação primária do substrato, convertendo açúcares presentes no caldo em álcool e dióxido de carbono (Jayabalan et al., 2014). Diferentes gêneros de leveduras podem estar presentes, incluindo *Saccharomyces*, *Brettanomyces*, *Candida* e *Zygosaccharomyces*. Essas leveduras contribuem para a produção de compostos aromáticos, enzimas digestivas, ésteres e acetatos (Antolak; Piechota; Kucharska, 2021; Harrison; Curtin, 2021; Costa et al., 2022). O Gráfico 1 apresenta os sete principais microrganismos encontrados no caldo fermentado do Kombucha, segundo Barbosa et al. (2021).

Gráfico 1 – Principais microrganismos encontrados no Kombucha
133 linhagens ($n = 102$ bactérias, $n = 31$ fungos)



Fonte: Adaptado de Barbosa et al. (2021)

Pesquisadores também relataram a presença de bactérias ácido lácticas no processo de fermentação do Kombucha, como *Lactobacillus delbrueckii* e *Lactobacillus casei* (Júnior et al., 2022). Esses microrganismos são responsáveis pela fermentação dos açúcares presentes no chá, convertendo-os em ácido láctico. Além disso, essas bactérias desempenham um papel importante junto as bactérias acéticas

na redução do pH do caldo fermentado, contribuindo para inibição do crescimento de microrganismos indesejáveis, aumentando sua preservação e segurança alimentar (Leal et al., 2018). As bactérias do ácido lático também podem produzir substâncias antimicrobianas, bioativos e têm potencial probiótico (Antolak; Piechota; Kucharska, 2021).

As bactérias acéticas e lácticas podem interagir sinergicamente, resultando em uma produção equilibrada de ácidos orgânicos e compostos bioativos (Jayabalan et al., 2014). As bactérias acéticas também podem contribuir para a produção de vitaminas do complexo B e outros metabólitos benéficos. Já as leveduras podem produzir compostos aromáticos, antioxidantes e precursores de sabores complexos (Antolak; Piechota; Kucharska, 2021; Júnior et al., 2022). O entendimento dessas interações e da composição da microbiota é fundamental para a produção controlada de metabólitos do caldo fermentado do Kombucha.

2.1.2 Composição química e bioquímica

A complexa transformação química e bioquímica durante a fermentação do Kombucha resulta na formação de diversos compostos e biomoléculas, como: ácidos orgânicos, açúcares, vitaminas, aminoácidos, amins biogênicas, purinas, pigmentos, lipídios, proteínas, enzimas hidrolíticas, etanol, cafeína, dióxido de carbono, polifenóis, minerais e ácidos sacarídicos (D-sacárico-1,4-lactona) e outros metabólitos bacterianos (Jayabalan et al., 2014; Leal et al., 2018; Cardoso et al., 2020; Bishop et al., 2022; Costa et al., 2022). A fermentação do Kombucha com variedades do chá verde ou preto contém altos níveis de vitamina C (ácido ascórbico) e vestígios de algumas vitaminas do complexo B, tais como, tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico e fólico, piridoxina, biotina e cobalamina (Bishop et al., 2022; Kitwetcharoen et al., 2023).

Sua composição mineral apresenta uma concentração de íons que vêm do próprio chá de substrato, como flúor (F⁻), potássio (K⁺) e manganês (Mn⁴⁺), e outros minerais essenciais (traços), como cobalto (Co²⁺), cobre (Cu²⁺), ferro (Fe²⁺) e magnésio (Mg²⁺) podem ser encontrados no Kombucha (Jakubczyk et al., 2021; Bishop et al., 2022). Alguns pesquisadores quantificaram o teor de manganês, ferro, níquel, cobre, zinco, chumbo, cobalto, cromo e cádmio no Kombucha, e demonstraram que a concentração de certos minerais (Cu, Fe, Mn, Ni e Zn) aumentam ao decorrer

do processo de fermentação, enquanto outros, como o cobalto, não (Bauer-Petrovska; Petrushevska-Tozi, 2000).

Os polifenóis encontrados no Kombucha são derivados das folhas de chá de substrato, que apresentam variações em suas concentrações individuais de acordo com o tipo de folhas de chá usado. Cardoso et al., (2020) analisaram Kombuchas produzidas com folhas de chá verde e preto e verificaram que as concentrações totais de polifenóis variaram de 0,70 mg GAE/mL (verde) a 1,09 mg GAE/mL (preto), e que as amostras apresentaram quatro tipos de flavonoides, tais como catequina, epicatequina, epicatequina galato e epigallocatequina galato.

O etanol, subproduto da fermentação da levedura presente no Kombucha, também pode ser encontrado com variações de concentrações desde o primeiro dia de fermentação. Sua concentração aumenta até o décimo dia e diminui ao decorrer da fermentação. Quando efetuada sequência de fermentação aeróbica e anaeróbica, é convertido rapidamente em ácido acético.

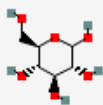
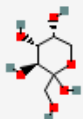



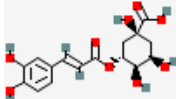
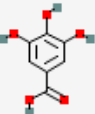
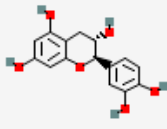
Os ácidos orgânicos encontrados na fermentação do Kombucha, como acético, glucônico, glucurônico, cítrico, láctico, málico, tartárico, malônico, oxálico, succínico, pirúvico e úsnico, podem variar de acordo com a cultura iniciadora e podem variar muito sua concentração ao longo da fermentação. Isso se deve principalmente à concentração de açúcar e chá iniciadores, tempo de fermentação e temperatura (Chen; Liu, 2000; Jayabalan; Marimuthu; Swaminathan, 2007; Nguyen et al., 2015; Watawana et al., 2017).

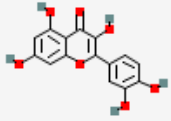
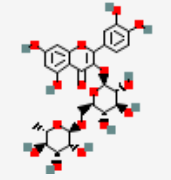





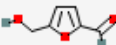
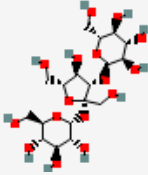
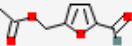
A cafeína presente no fermentado de Kombucha se deve às folhas de chá, e desempenha um papel importante durante o processo de fermentação, fornecendo às leveduras e bactérias o nitrogênio necessário para os processos metabólicos e a construção de novas células, além de fornecer energia para as leveduras e bactérias para que possam passar pelo processo de fermentação (Crum; LaGory, 2016).


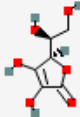

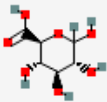
Os aminoácidos encontrados no caldo fermentado são: ácido aspártico, treonina, ácido glutâmico, glicina, alanina, valina, metionina, isoleucina, leucina, tirosina, fenilalanina, lisina, histidina, arginina, glutamina, asparagina, triptofano e teanina (Taylor; Francis, 1995; Bishop et al., 2022). Pesquisadores relataram também que o SCOBY continha maiores concentrações de lisina, isoleucina e leucina, e menores níveis de fenilalanina, valina, metionina, treonina, triptofano, ácido glutâmico, alanina, ácido aspártico e prolina (Leal et al., 2018).

Em suma, o caldo fermentado do Kombucha possui uma variedade de compostos e metabólitos presentes que desempenham papéis essenciais em seu processo de fermentação. A Tabela 1 apresenta informações moleculares dos principais compostos presentes no caldo fermentado do Kombucha descritos na literatura.

Tabela 1 – Principais espécies descritas na literatura presentes no Kombucha.

Espécie	Estrutura	Carga	Dimensão (Angström)	Caráter	Massa Molar (g/mol)
Glicose		Positiva	110 Å ²	Ácido	180,16
Frutose		Positiva	110 Å ²	Ácido	180,16
Etanol		Neutra	20,2 Å ²	-	46,07
Cafeína		Positiva	58,4 Å ²	Ácido	194,19
Ácido acético		Positiva	37,3 Å ²	Ácido	60,05
Ácido clorogênico		Positiva	165 Å ²	Ácido	354,31
Ácido gálico		Positiva	98 Å ²	Ácido	170,12
Catequina		Positiva	110 Å ²	Ácido	290,27

Espécie	Estrutura	Carga	Dimensão (Angström)	Caráter	Massa Molar (g/mol)
Quercetina		Positiva	127 Å ²	Ácido	302,23
Rutina		Positiva	266 Å ²	Ácido	610,5
Hidroxiacetona		Positiva	37,3 Å ²	Ácido	74,08
Furfural		Positiva	30,2 Å ²	Ácido	96,08
Ácido fórmico		Positiva	37,3 Å ²	Ácido	46,025
Álcool furfúrico		Positiva	33,4 Å ²	Ácido	98,10
Di-hidroxiacetona		Positiva	57,5 Å ²	Ácido	90,08
Hidroximetilfurfural		Positiva	50,4 Å ²	Ácido	126,11
D-Melezitose		Positiva	269 Å ²	Ácido	504,4
5-acetoximetil-2-furaldeído		Positiva	56,5 Å ²	Ácido	168,15

Espécie	Estrutura	Carga	Dimensão (Angström)	Caráter	Massa Molar (g/mol)
Propanol		Neutra	20,2 Å ²	-	60,10
Ácido ascórbico		Positiva	107 Å ²	Ácido	176,12
Ácido láctico		Positiva	57,5 Å ²	Ácido	90,08
Ácido glucoronico		Positiva	127 Å ²	Ácido	194,14

(■) Doadores de ligações de hidrogênio, (■) Receptores de ligação de hidrogênio.
Fonte: Adaptado de PubChem (2025)

2.1.3 Parâmetros de fermentação

A fermentação do Kombucha é um processo dinâmico e altamente influenciado por uma série de variáveis, sendo algumas diretamente afetadas pelo processo fermentativo como pH, acidez, produção de ácido acético, produção de ácido láctico, concentração de etanol, presença de compostos bioativos e o desenvolvimento do SCOBY (Jayabalan; Marimuthu; Swaminathan, 2007; Li et al., 2021). Outras variáveis do processo podem ser controladas e manipuladas para influenciar o processo fermentativo como temperatura de fermentação, tempo de fermentação, tipo e concentração do chá utilizado como substrato, concentração e variação sacarídica, proporção de inóculo e oxigenação do meio de fermentação (Jayabalan et al., 2014; Coelho et al., 2020). A mensuração adequada dessas variáveis é fundamental para monitorar o progresso de fermentação e garantir a formação de produtos fermentativos.

O Quadro 1 fornece uma referência dos parâmetros ideais de fermentação do Kombucha. O monitoramento e ajuste dos parâmetros de fermentação do Kombucha, bem como os produtos gerados durante sua fermentação, podem resultar na otimização do processo fermentativo e na maximização de produção.

Quadro 1 – Principais fatores e faixa de valores das variáveis de maior influência na produção de Kombucha

Fator	Faixa
pH	2,5 a 4,2
Concentração inicial de açúcares	50 a 80 g/L
Acidez final	30 a 130 mEq/L
Concentração final de etanol	0,0 a 17% (v/v)
Concentração final de ácido acético	0,0 a 11 g/L
Compostos bioativos	Variado
Tempo de cultivo	10 a 15 Dias
Temperatura de cultivo	28 a 36 °C
Concentração de inóculo	10 a 20% (v/v)
Oxigênio	Aeróbico e Anaeróbico
Concentração de chá	3g/L a 5g/L
Composição microbiota	Diversa

Fonte: Autoria própria (2025)

2.2 Fracionamento de biomoléculas

O fracionamento de compostos orgânicos e biomoléculas presentes em caldos fermentados é uma etapa importante no processo para obtenção de produtos de alto valor a partir de fermentações. Os processos envolvidos na separação e recuperação, incluem as etapas de clarificação do caldo, o rompimento celular, se as biomoléculas estiverem presentes no meio intracelular, purificação de baixa resolução, purificação de alta resolução e os tratamentos finais (Pessoa Jr.; Kilikian, 2005).

A clarificação é a primeira etapa na separação de compostos orgânicos e biomoléculas do caldo fermentado. Nessa etapa, o caldo é submetido a processos de filtração e centrifugação, para remover sólidos indesejados, como células, restos de tecidos moleculares, polímeros de médio e alto peso molecular, e outros materiais insolúveis (Taghavijeloudar et al., 2023). Essa etapa objetiva obter um líquido clarificado, facilitando as etapas subsequentes de separação.

Após a clarificação, alguns processos exigem o processo de rompimento celular. Esse processo envolve a ruptura das células presentes no caldo para liberar as biomoléculas de interesse e permitir o acesso e a recuperação eficiente das biomoléculas intracelulares (Li et al., 2021). O rompimento celular pode ser realizado por diversos meios, sendo eles, o físico, com a aplicação de força mecânica, ou químicos e enzimáticos, com mecanismo de hidrólise e solubilização (Pessoa Jr.; Kilikian, 2005).

Após o rompimento celular, o caldo fermentado pode passar por uma etapa de purificação de baixa resolução. Nessa etapa, são utilizados métodos como precipitação, ultrafiltração e partição por fases para remover impurezas e compostos indesejados ou obter frações mais concentradas e enriquecidas das biomoléculas de interesse (Marson et al., 2021).

Na etapa de purificação de alta resolução, são empregadas técnicas de cromatografia de afinidade, cromatografia de troca iônica, cromatografia de exclusão molecular e outras técnicas avançadas para separar e purificar as biomoléculas alvo com maior eficiência. Essas técnicas permitem uma separação mais precisa, obtendo compostos de alta pureza e alta concentração (Kilikian; Pessoa Jr., 2020). Após esses processos, as biomoléculas e bioativos sofrem os tratamentos finais, que visam garantir a qualidade e estabilidade dos compostos orgânicos obtidos estando livres de impurezas e prontos para serem utilizados em aplicações específicas. Esses tratamentos podem incluir etapas como *desalting*, concentração, liofilização e esterilização (Evans; Romero; Westoby, 2009).

A seleção das etapas de separação e purificação depende das características específicas do caldo fermentado e dos compostos de interesse. Cada etapa deve ser cuidadosamente escolhida a fim de obter o máximo rendimento e pureza dos compostos desejados e tendo baixo custo de operação. Além disso, análises qualitativas são fundamentais durante todo o processo de separação. Essas técnicas analíticas são usadas para monitorar a composição e a pureza dos compostos em cada etapa, permitindo ajustes e otimizações necessárias (Sheen, 2016).

A Tabela 2 apresenta o princípio e a operação unitária das principais etapas de separação e purificação de compostos orgânicos, biomoléculas e bioativos. A seleção de etapas para separação de compostos orgânicos e biomoléculas presentes no caldo fermentado do Kombucha vai depender de escolhas sequenciais que visem fracionar o caldo sem danificá-lo e com número reduzido de etapas de separação. Assim, o fracionamento será realizado por meio da remoção de sólidos e partículas presentes no caldo pela técnica de centrifugação, seguida da recuperação do sobrenadante e finalizando com as colunas de troca iônica.

Tabela 2 – Características de cada etapa de separação, purificação e tratamento

Etapas	Operações unitárias	Princípio
CLARIFICAÇÃO	Filtração convencional	Tamanho da partícula
	Filtração tangencial	Tamanho da partícula
	Centrifugação	Tamanho e densidade da partícula
ROMPIMENTO CELULAR	Homogeneização	Cisalhamento
	Ultrassom	Cisalhamento
	Moagem em moinho de bolas	Cisalhamento
	Rompimento químico ou enzimático	Hidrólise ou solubilização de moléculas que compõem a parede ou membrana celular
PURIFICAÇÃO DE BAIXA RESOLUÇÃO	Precipitação	Solubilidade
	Ultrafiltração	Massa molar e raio hidrodinâmico
	Extração em sistemas de fases	Solubilidade
PURIFICAÇÃO DE ALTA RESOLUÇÃO	Cromatografia de troca iônica	Tipo e densidade de carga na superfície da biomolécula
	Cromatografia de afinidade	Sítios específicos da superfície de uma proteína (adsorção)
	Cromatografia de imunoafinidade	Sítios específicos da superfície de uma proteína (adsorção antígeno/anticorpo)
	Cromatografia de interação hidrofóbica	Hidrofobicidade
	Cromatografia de exclusão molecular	Massa molar
	Membranas adsortivas	Massa molar ou sítios específicos de superfície de uma proteína
TRATAMENTOS FINAIS	Cristalização	Solubilidade e características de equilíbrio líquido-sólido
	Secagem	Características de equilíbrio líquido-sólido

Fonte: Adaptado de Kilikian *et al.*, (2020)

2.2.1 Centrifugação

A centrifugação é um processo amplamente utilizado na engenharia e na biotecnologia para separar partículas sólidas ou líquidos de diferentes densidades através da aplicação de força centrífuga. O conceito básico da centrifugação envolve a rotação de um recipiente contendo a mistura a ser separada, resultando na formação de um gradiente de densidade. As partículas mais densas se deslocam em direção ao

fundo do recipiente, enquanto as menos densas se concentram na parte superior (Saha; Sarkar; Sen, 2022).

A centrifugação tem uma ampla variedade de aplicações em processos biotecnológicos. Um exemplo comum é a separação de células em culturas biológicas. Durante a produção de biofarmacêuticos, como proteínas recombinantes, é necessário separar as células produtoras dos produtos. A centrifugação é utilizada nesse processo para sedimentar as células, formando um *pellet* no fundo do recipiente, enquanto o sobrenadante contendo o produto desejado é removido. Esse método de centrifugação, conhecido como centrifugação celular, permite a purificação e a concentração eficiente de produtos de origem biológica (Leung, 2020).

Outra aplicação importante da centrifugação é a separação de partículas subcelulares pelo método de centrifugação em gradiente de densidade por sacarose. Segundo Srinivas *et al.* (2004), a centrifugação diferencial é utilizada para isolar mitocôndrias e outras organelas a partir de células. Nesse processo, as células são primeiramente homogeneizadas para liberar as organelas. Em seguida, a centrifugação é realizada em diferentes velocidades, permitindo a separação das mitocôndrias dos outros componentes celulares com base em suas densidades específicas (Srinivas *et al.*, 2004).

A centrifugação é uma técnica de separação essencial em bioprocessos. Através da aplicação de forças centrífugas, é possível separar eficientemente partículas sólidas e líquidos com diferentes densidades a um custo reduzido e com protocolos já bem estabelecidos na literatura.

2.2.2 Trocadores iônicos

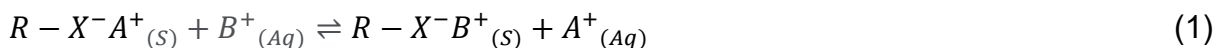
Os trocadores iônicos ou também descritos na literatura como operadores de troca iônica, são equipamentos que efetuam a separação direcional de diversos íons ou moléculas, através da remoção seletiva desses componentes com cargas elétricas líquidas não nulas de soluções líquidas (Inamuddin; Luqman, 2012). Seu mecanismo ocorre quando os íons presentes na solução são adsorvidos por matrizes carregadas ionicamente, enquanto íons de carga oposta a matriz são liberados (Abrão, 2014a).

A troca iônica tem uma ampla gama de aplicações na indústria. Um exemplo é a purificação de proteínas, através da remoção de contaminantes iônicos indesejados presentes em uma solução contendo a proteína de interesse, ou o

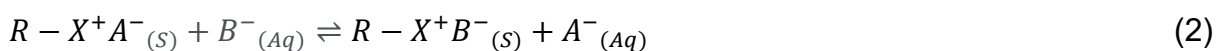
processo inverso, de ligação seletiva das próprias proteínas para soluções fracionadas (Collins; Braga; Bonato, 2014).

O fenômeno ocorre através do mecanismo equilíbrio ionizante entre espécimes diferentes, ou também pode ser definida como a interação reversível na mudança de íons entre uma fase sólida (o trocador de íons) e uma fase móvel de solução, sendo o trocador de íons insolúvel no meio em qual a troca é realizada (Cai et al., 2022).

Se um trocador de íons R-X⁻ transportando cátions A⁺ como íons de troca, é colocado em uma solução aquosa contendo cátions B⁺, e o grau de ionização do cátion B⁺ for maior que o cátion A⁺, então uma reação de troca iônica pelo equilíbrio ionizante é efetuado podendo ser melhor representado pela Equação 1:



O equilíbrio representado pela equação acima é um exemplo de troca catiônica, onde R-X⁻ é o grupo aniônico fixo insolúvel complemento do trocador de íons, e o R-X⁻A⁺ é chamado simplesmente de ânion fixo. Os cátions A⁺ e B⁺ são referidos como contraíons, enquanto os íons na solução que têm a mesma carga que o ânion fixo do trocador são chamados de coíons (Nachod; Schubert, 1956). Da mesma forma, os ânions podem ser trocados desde que seja empregado um meio receptor de ânions. Uma representação análoga de uma reação de troca aniônica pode ser escrita conforme Equação 2:



Um íon pode ser definido como um átomo ou combinação de átomos (molécula) que carregam uma carga elétrica líquida positiva (cátion) ou líquida negativa (ânion) (Nachod; Schubert, 1956). As equações anteriores ilustram a diferença essencial entre troca iônica e outros fenômenos de sorção. O fato principal é que a eletroneutralidade é preservada em todos os momentos nas fases de troca, e isso, por sua vez, requer que os contraíons sejam trocados em quantidades equivalentes (Harland, 2007). Entre as principais características de um trocador ideal estão: uma estrutura hidrófila de forma regular e reprodutível; capacidade de troca

iônica controlada e eficaz; taxa de troca rápida; estabilidade química; estabilidade física em termos de força mecânica e resistência ao atrito; tamanho de partícula consistente e área de superfície efetiva compatível com os requisitos para instalações de grande escala.

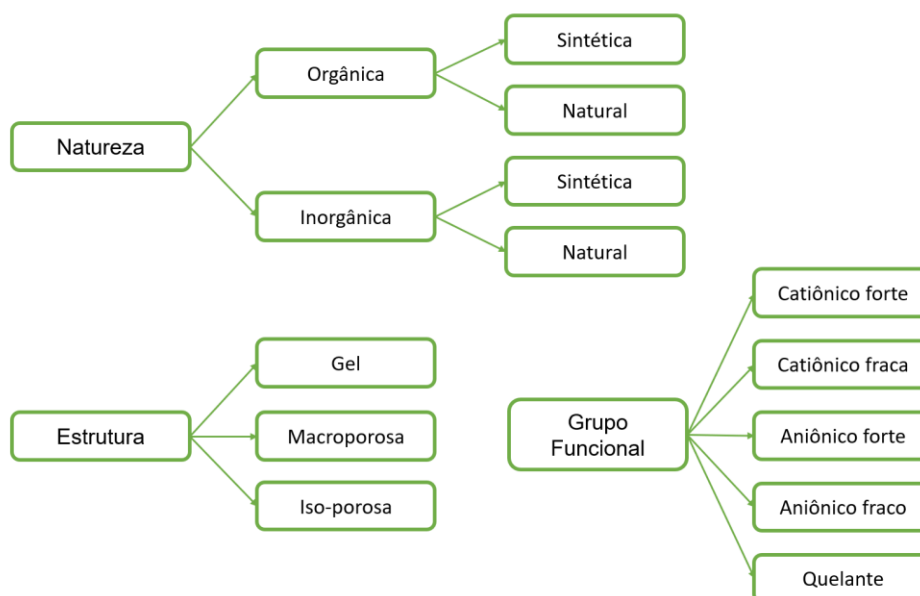
Em geral, a troca iônica é um processo versátil e eficiente que desempenha um papel importante em diversos processos industriais. Desde a remoção de contaminantes indesejados até separação e purificação de substâncias de interesse.

2.3 Resinas de troca iônica

As resinas de troca iônica compõem uma das tecnologias mais aplicadas em trocadores iônicos, possibilitam através de suas combinações, a construção e aplicação de diversas matrizes funcionalizadas para separação e purificação de diversos componentes de soluções líquidas (Abrão, 2014a). Suas estruturas são constituídas por uma matriz sólida contendo sítios ativos ligados covalentemente a grupos funcionais, e são capazes de permitir a passagem e o acesso de moléculas e íons sobre seu interior e superfície (Nachod; Schubert, 1956).

A classificação dos trocadores iônicos pode ser feita levando-se em consideração aspectos, como sua natureza, estrutura e grupo funcional Figura 2.

Figura 2 – Fluxograma com as principais classificações de resinas de troca iônica



Fonte: Autoria própria (2025)

As resinas inorgânicas sintéticas apresentam sais de silicatos na sua estrutura e são geralmente formadas por trocadores como alumínio, ferro, magnésio, zircônio ou cálcio. Apresentam propriedades, tais como resistência a decomposição na presença de radiações ionizantes ou a elevadas temperaturas, o que as torna atrativas para aplicações nucleares (Liberti; Helfferich, 1983; Abrão, 2014).

Já as resinas inorgânicas naturais, são encontradas na forma de argilas, rochas vulcânicas e minerais, como zeólitas, óxidos e sais minerais argilosos (montmorillonita, illita, caulinita, glauconita etc.). Por mais que sejam abundantes na superfície terrestre, possuem baixa capacidade de troca iônica, devido a sua dissimetria estrutural, além de serem atacados por ácidos ou bases (Williams; Hudson, 1990; Collins; Braga; Bonato, 2014)

As resinas orgânicas naturais, como a agarose, celulose e dextrana quando tratadas quimicamente, podem apresentar características adequadas a trocadores iônicos. Em contrapartida, quando não tratados possuem pouca estabilidade química e mecânica. A maioria incha excessivamente e se decompõe facilmente em contato com ácidos minerais, álcalis fortes e agentes oxidantes. Portanto necessitam ser estabilizados mediante tratamento químico (Kilikian; Pessoa Jr., 2020).

As resinas orgânicas sintéticas são amplamente utilizadas devido à sua alta capacidade de troca, estabilidade química e disponibilidade em uma ampla variedade de formas e tamanhos. Alguns exemplos comuns de matrizes de troca iônica sintéticas incluem polidivinilbenzeno, poliestireno, polimetacrilato, poliacrílico e gel de sílica modificado (Alexandratos, 2021; Liu et al., 2021).

As resinas tipo gel possuem uma estrutura de gel tridimensional altamente reticulada, o que proporciona uma grande área de superfície para a troca iônica. As resinas macroporosas são caracterizadas por uma estrutura porosa maior, permitindo uma maior capacidade de troca iônica. Já as resinas isoporosas possuem poros de tamanho uniforme, o que lhes confere propriedades de troca iônica altamente seletivas (Liberti; Helfferich, 1983; Simon, 1991).

Nos grupos funcionais, as resinas catiônicas de ácido forte possuem grupos funcionais como, o ácido sulfônico ($-\text{SO}_3\text{H}$) que são capazes de trocar cátions em solução. As resinas catiônicas de ácido fraco possuem grupos funcionais, como o ácido carboxílico ($-\text{COOH}$), que apresentam uma capacidade de troca iônica menor. Já para as resinas aniônicas de base forte possuem grupos funcionais como, o grupo amino ($-\text{NH}_2$), e são capazes de trocar ânions em solução. Por outro lado, as resinas

aniônicas de base fraca possuem grupos funcionais como, o grupo amina ($-NH_3$), apresentando uma menor capacidade de troca iônica (Williams; Hudson, 1987; Harland, 2007).

Por fim, temos as resinas quelantes, muitas vezes sintetizadas por poliestireno clorometilado com grupos funcionais específicos, como o grupo bis[2-(2-benzotiazoliltioetil)sulfóxido], capazes de formar complexos estáveis com íons metálicos de (Hg^{2+} , Ag^+ , Cu^{2+} e Cd^{2+}). Essas resinas são utilizadas para a remoção seletiva de metais pesados em amostras de águas (Ji et al., 2007).

2.3.1 Matriz

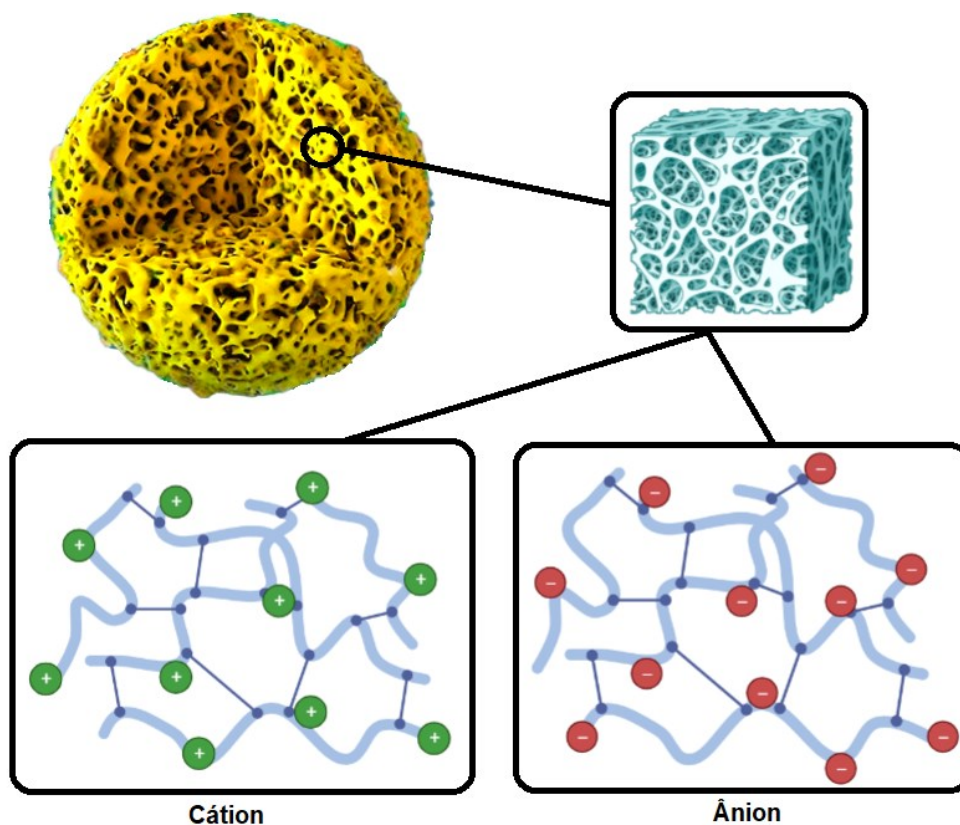
As matrizes empregadas para o processo de separação por troca iônica são elementos indispensáveis, pois são elas que vão conferir estabilidade na troca, disponibilidade para rearranjo de sítios ativos para grupos funcionais. Ou seja, elas são o corpo estrutural e a base para construção de qualquer resina de troca iônica.

Quando construídas e tratadas, tem o poder de proporcionar sítios ativos que quando ocupados por grupos ou elementos catiônicos, apresentam denominação trocador catiônico e quando ocupado por ânions recebe o nome de trocador aniônico (Simon, 1991; Collins; Braga; Bonato, 2014). Além disso, podem ser construídas de forma polifuncionais, quando apresentam sítios ativos ocupados por ânions e cátions ao mesmo tempo (Fritz, 2005).

Muitas dessas resinas, independentemente de sua natureza, possuem uma estrutura tridimensional irregular. Embora o comportamento difira entre elas, as resinas iônicas possuem uma característica comum: todos apresentam um excesso de carga na estrutura que é balanceada por íons ligados a mesma (Abrão, 2014).

As resinas formadas por monômeros de estireno e acrilato são as mais comercializadas em escala industrial, por serem de fácil manipulação e grandes volumes de mercado. Além disso, possuem uma alta resistência mecânica, grande estabilidade química de formação e alta capacidade de troca em toda faixa de pH (Lenhoff, 2011). A Figura 3 ilustra a formação estrutural de poros e sítios ativos ligados a grupos funcionais catiônicos e aniônicos de resinas macroporosas à base de poliestireno.

Figura 3 – Representação tridimensional de uma microesfera de matriz poliestirenica



Fonte: Autoria própria (2025)

O poliestireno é bem empregado como matriz de trocadores iônicos, pois podem ser funcionalizados com grupos aniônicos e catiônicos (sulfônico ou amônio quaternário), devido a seu arranjo tridimensional apresentam alta seletividade e geralmente operados em uma grande faixa de pH e temperatura. São conhecidos por sua resistência química, alta taxa de fluxo e propriedades mecânicas favoráveis. São utilizados há décadas para purificação de água, tratamento de efluentes industriais, desmineralização de soluções, remoção de íons indesejáveis e separação de componentes iônicos específicos em diferentes setores industriais. Além de possuírem facilidade termodinâmica e hidrodinâmica para ampliação de escala (Naderi et al., 2002; Ozer et al., 2013; Abayie; Leiviskä, 2022).

A matriz à base de agarose é oriunda da purificação do ágar, obtido da alga *Rhodophyciae*. É uma matriz hidrofóbica e altamente porosa, tem capacidade excelente de operação para troca iônica na faixa de temperatura de 20 a 60°C, possui baixa estabilidade em valores extremos de pH, resiste ao tratamento de autoclave até 120°C, porém pode sofrer modificações estruturais irreversíveis. Além disso, possuem

boa propriedade hidrodinâmica, possuem ainda uma taxa de fluxo que pode variar de 10 a 300 ml/cm².h, e não devem sofrer desidratação (Kilikian; Pessoa Jr., 2020).

Matrizes de base celulósicas são estudadas e aplicadas desde a década de 40. Possuem um caráter hidrofóbico, capacidade de troca na faixa do pH 3 a 10, quando construídas em estrutura macroporosa possuem boa vazão da fase móvel e fácil acesso de moléculas, adsorvem água em quatro vezes superior à sua massa, os poros dependem do grau de solvatação e necessita de intumescimento para abri-los. Além disso, possui formas estruturais de fibra, microgrânulos ou esferas, tem boa propriedade hidrodinâmica, capacidade de fluxo de 400 mL/cm²h na forma esférica, ainda apresenta boas propriedades termodinâmicas, melhor rigidez e estabilidade química (Pessoa Jr.; Kilikian, 2005; Inamuddin; Luqman, 2012; Collins; Braga; Bonato, 2014).

A matriz formada por dextrana é produzida por *Leuconostoc mesenteroides*. Possui caráter hidrofóbico, elevada estabilidade química e fácil derivatização. Porém, são menos estáveis que a celulose, mas operam em uma faixa mais ampla de pH 2 a 12 para corrida de troca iônica. Quando em forma de gel, necessita de intumescimento e sua porosidade tem capacidade natural de separar biomoléculas de até 300 kDa. Possui ainda poros homogêneos, são autoclaváveis, biodegradáveis, porém dependem de pequenos volumes de leite para funcionarem (Kilikian; Pessoa Jr., 2020; Kinrade; Davies; Vance, 2020).

As matrizes aqui apresentadas são materiais que possuem grupos funcionais capazes de trocar íons presentes em soluções aquosas, permitindo a remoção seletiva de íons específicos e a obtenção de produtos mais puros. A escolha da matriz de troca iônica adequada depende da natureza dos íons a serem separados, das condições de operação e dos requisitos específicos do processo. O quadro 2 apresenta faixas típicas de operação para algumas matrizes de troca iônica comuns. Além das faixas de operação, outros parâmetros importantes a serem considerados na escolha da matriz de troca iônica são a capacidade de troca, a seletividade para determinados íons, a resistência mecânica, a compatibilidade com solventes e a capacidade de regeneração.

Quadro 2 – Características de matrizes em trocadores iônicos

Matriz	Faixa de pH	Faixa de Temperatura (°C)	Observações e aplicações
Zeólitas Naturais	7,0	20 – 180	Alta estabilidade térmica e baixa capacidade de troca
Resinas Vegetais	2 - 11	0 – 60	Sustentáveis e compatíveis com aplicações farmacêuticas
Gel de Sílica Modificado	2 – 12	20 – 60	Alta seletividade e muito empregada para cromatografia
Celulose	3 – 10	0 – 80	Biocompatível e amplamente utilizada em cromatografia
Agarose	3 – 14	20 – 60	Amplamente utilizada em eletroforese e separação de DNA
Dextrana	2 – 12	20 – 60	Alta permeabilidade e utilizada em colunas de filtração
Poliestireno	0 – 14	0 – 80	Alta capacidade de troca e estabilidade química
Poliacrilamida	0 – 14	10 – 60	Utilizada em eletroforese de proteínas e estudos de ligação
Poliacrilato	1 – 13	0 – 60	Alta capacidade de troca e compatibilidade com solventes
Polimetacrilato	2 – 14	20 – 70	Utilizada em cromatografia e separação de compostos

Fonte: Autoria própria (2025)

2.3.2 Grupos funcionais catiônicos e aniônicos

Os grupos funcionais empregados nos sítios ativos de matrizes resinadas desempenham o papel de trocar íons aderidos nos grupos, por novos íons ou moléculas com carga elétrica líquida equivalentes presentes na solução. Eles são responsáveis por permitirem a troca seletiva de íons durante o processo de separação e purificação (Harland, 2007).

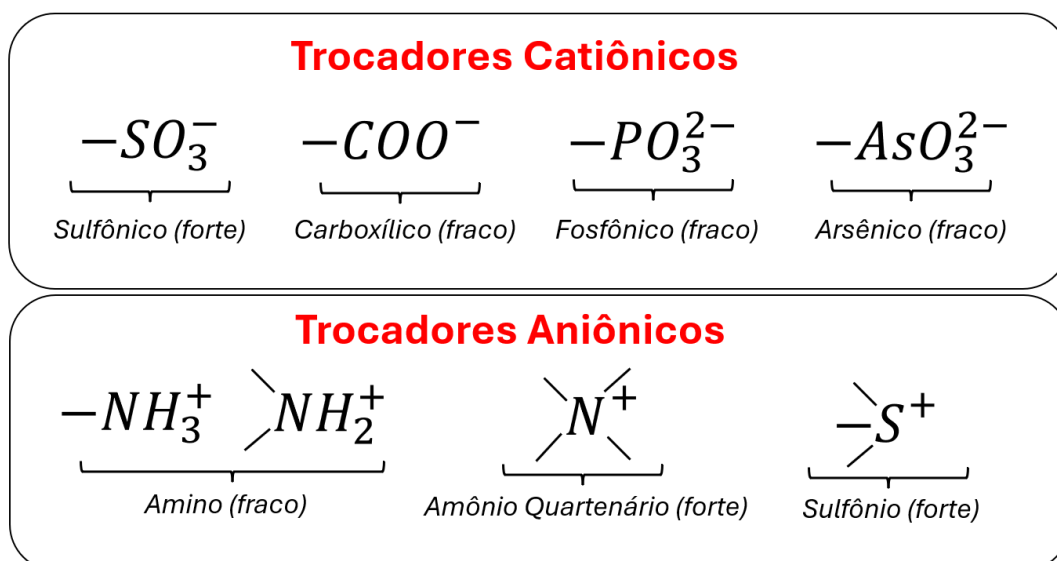
A seletividade dos grupos funcionais aumenta com o grau das ligações cruzadas presentes na matriz. Íons com carga elevada são ligados mais fortemente aos grupos do que íons de baixa carga, quando presentes nas mesmas concentrações (Abrão, 2014). Íons com a mesma carga, porém com diferentes tamanhos moleculares na solução, tem graus de afinidade diferentes. Esse efeito relaciona-se melhor com o poder de polarização do íon e seu grau de hidratação, e a afinidade diminui com o aumento do raio do íon hidratado (Collins; Braga; Bonato, 2014). Os íons de resinas catiônicas fortes seguem o grau de afinidade de acordo com sua valência e sua constante de ionização, conforme apresentado no Quadro 3.

Quadro 3 – Níveis de afinidade de contraíons em resinas catiônicas e aniônicas

Grau de afinidade de cátions em resinas funcionalizadas aniônicamente
Th ⁴⁺ > Mo ³⁺ > Fe ³⁺ > Al ³⁺ > Ba ²⁺ > Pb ²⁺ > Be ³⁺ > Sr ²⁺ > Ca ²⁺ > Co ²⁺ > Ni ²⁺ > Cd ²⁺ > Cu ²⁺ > Zn ²⁺ > Mg ²⁺ > Mn ²⁺ > Ti ⁺ > Ag ⁺ > Cs ⁺ > Rb ⁺ > K ⁺ > NH ₄ ⁺ > Na ⁺ > H ⁺ > Li ⁺
Grau de afinidade de ânions em resinas funcionalizadas catiônicamente
SO ₄ ²⁻ > CrO ₄ ²⁻ > citrato ³⁻ > tartarato ²⁻ > AsO ₄ ³⁻ > PO ₄ ³⁻ > MoO ₄ ²⁻ > ClO ₄ ⁻ > I ⁻ > NO ₃ ⁻ > Br ⁻ > CN ⁻ > Cl ⁻ > HCO ₃ ⁻ > formato ⁻ > acetato ⁻ > OH ⁻ > F ⁻

Fonte: Adaptado Collins *et al.*, (2014)

Entretanto, quando em altas concentrações, a ordem de afinidade pode ser diferente, sendo o efeito de valência diminuído ou até mesmo invertido (Collins; Braga; Bonato, 2014). A Figura 4 traz os grupos funcionais que mais são empregados comercialmente em resinas de troca iônica em seguida seus respectivos contraíons mais utilizados comercialmente.

Figura 4 – Grupos funcionais mais empregados em resinas de troca iônica comerciais

Fonte: Adaptado de PUC (2020)

Os grupos funcionais aniônicos possuem alta afinidade por cátions e os contraíons mais empregados são os íons positivos, como íon hidrônio (H₃O⁺ / H⁺) sódio (Na⁺), potássio (K⁺) e cálcio (Ca²⁺). Em contrapartida, os grupos funcionais catiônicos possuem alta afinidade por ânions e seus contraíons mais empregados são os íons negativos, como íon hidroxila (HO⁻), cloreto (Cl⁻), sulfato (SO₄²⁻) e o nitrato

(NO₃⁻). A Tabela 3 apresenta uma perspectiva das principais características de resinas catiônicas e aniônicas comercializadas pela empresa Purolite no Brasil.

Tabela 3 – Características de resinas catiônicas (ácidas) e aniônicas (básicas)

Parâmetros	Resina Catiônica	Resina Aniônica
Tamanho da partícula	10 µm – 1200 µm	10 µm – 1200 µm
Porosidade	1 nm – 8 nm	1 nm – 8 nm
Grupos funcionais fortes	Sulfônico ou Sulfometil	Amônio quaternária ou Dietil-2-hidroxipropil aminoetil
Grupos funcionais fracos	Carbóxi ou Carboximetil	Aminoetil ou Dietilaminoetil
Eluentes	Diversos	Diversos
Carga	(+) positiva	(-) negativa
Capacidade	0,6 – 10,7 Eq/L	0,4 – 4,8 Eq/L
Composição matriz	PS, PS/DVB, PMA, PMA/PS, PA, PA/DVB*	PS, PS/DVB, PA, PA/DVB*
Faixa de operação de pH	0 – 14	2 – 14

*PS: Poliestireno; DVB: Divinilbenzeno; PMA: Polimetacrilato; PA: Poliacrílico.
Fonte: Adaptado Purolite Brasil (2023)

2.3.3 Ambientador, eluentes e regenerador

O processo de separação de compostos, íons e contraíons das resinas de troca iônica, requer compatibilidade de solventes com a amostra e a resina, além da capacidade de regeneração necessária para novas separações. Assim, o processo é feito utilizando soluções químicas tamponantes, ácidas ou básicas concentradas, ou diluídas, a fim de ambientar, tratar e extrair os compostos, e depois recuperá-las (Williams; Hudson, 1987).

O processo de separação segue envolvendo as etapas de preparo ou hidratação das matrizes de troca iônica, aqui ocorre a ambientação e/ou o intumescimento das resinas. Isso envolve a imersão das resinas em água ou soluções orgânicas como etanol ou metanol, para que haja a expansão dos poros e solvatação (quando necessário) das matrizes, preparando-as para o processo de troca (Williams; Hudson, 1987, 1990).

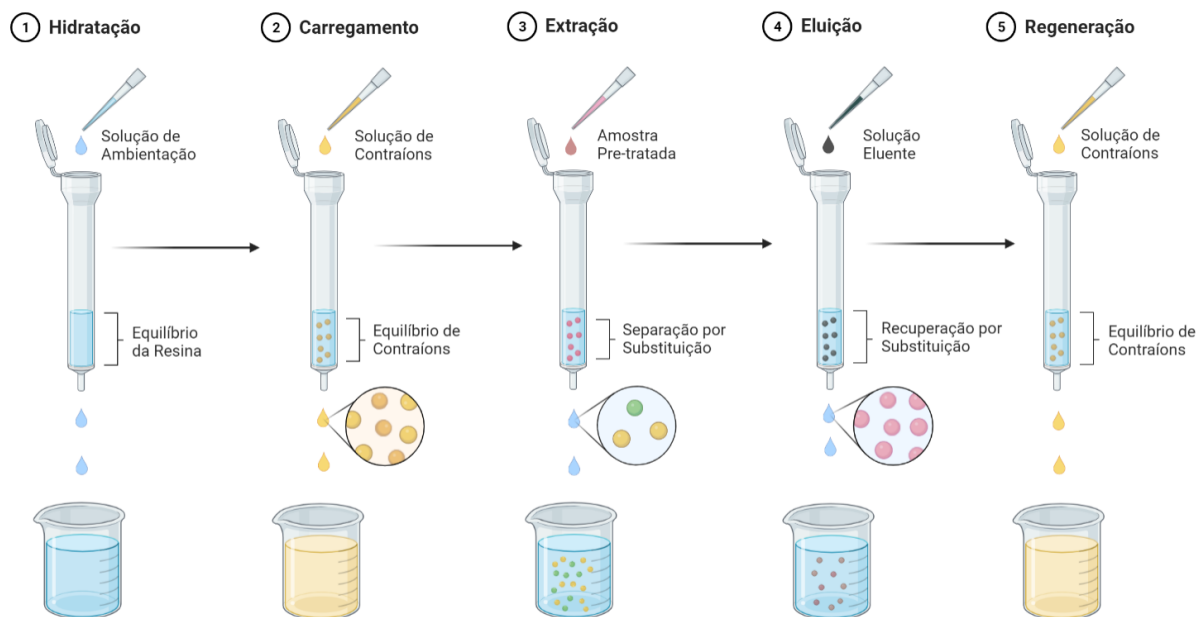
Na etapa seguinte, ocorre o carregamento, em que a matriz de troca iônica é carregada com contraíons de menor ionização do que os compostos presentes na amostra que será tratada. Isso envolve a passagem de uma solução contendo os

contraíons desejados pela matriz, permitindo que eles substituam os contraíons originais presentes nas resinas (Abrão, 2014; Rukowicz; Miesic; Alejski, 2014).

A extração segue após o carregamento, na qual, a amostra contendo os compostos que se deseja separar é passada através das resinas de troca iônica. Nesse processo, ocorre a troca seletiva de íons, grupos polares ou carregados, constituintes das biomoléculas. Os compostos presentes na amostra são retidos pelas resinas, enquanto os íons não compatíveis são liberados (Collins; Braga; Bonato, 2014). É nessa etapa que ocorre a variação do pH da amostra, esse processo possibilita a mudança do ponto isoelétrico das biomoléculas, para torná-las carregadas e efetuar sua separação (Voet; Voet, 2011).

A etapa de eluição ou descompactação ocorre após o processo de extração, que consiste na recuperação dos compostos de interesse retidos nas resinas. Isso é feito por meio de uma solução carregada com os contraíons, que pode ter um pH específico para não danificar os compostos e biomoléculas. Os contraíons devem ser de maior ionização do que os íons retidos nas resinas. Essa fase também é chamada de remoção ou eluência (Kilikian; Pessoa Jr., 2020).

A regeneração é a última etapa do processo de troca iônica, em que as resinas são regeneradas para serem reutilizadas. Isso geralmente é feito ajustando o pH de soluções que contêm contraíons de carregamento, para que atinjam uma força de ionização maior que os contraíons de eluição. Ao entrar em contato com as resinas, permitir a remoção dos contraíons presentes e recarregá-las com os contraíons desejados. A regeneração pode envolver a passagem de soluções ácidas ou alcalinas, dependendo das características da matriz e dos compostos a serem separados (Harland, 2007; Inamuddin; Luqman, 2012). O processo como um todo é apresentado na Figura 5, que ilustra a sequência de etapas para a corrida de troca iônica.

Figura 5 – Representação da separação de troca iônica

Fonte: Autoria própria (2025)

3 OBJETIVO GERAL

Acompanhar a cinética de fermentação do caldo fermentado de Kombucha e fracionar o caldo em soluções distribuídas por cargas iônicas e neutra, empregando colunas recheadas com resinas de troca iônica (catiônica e aniônica) comerciais.

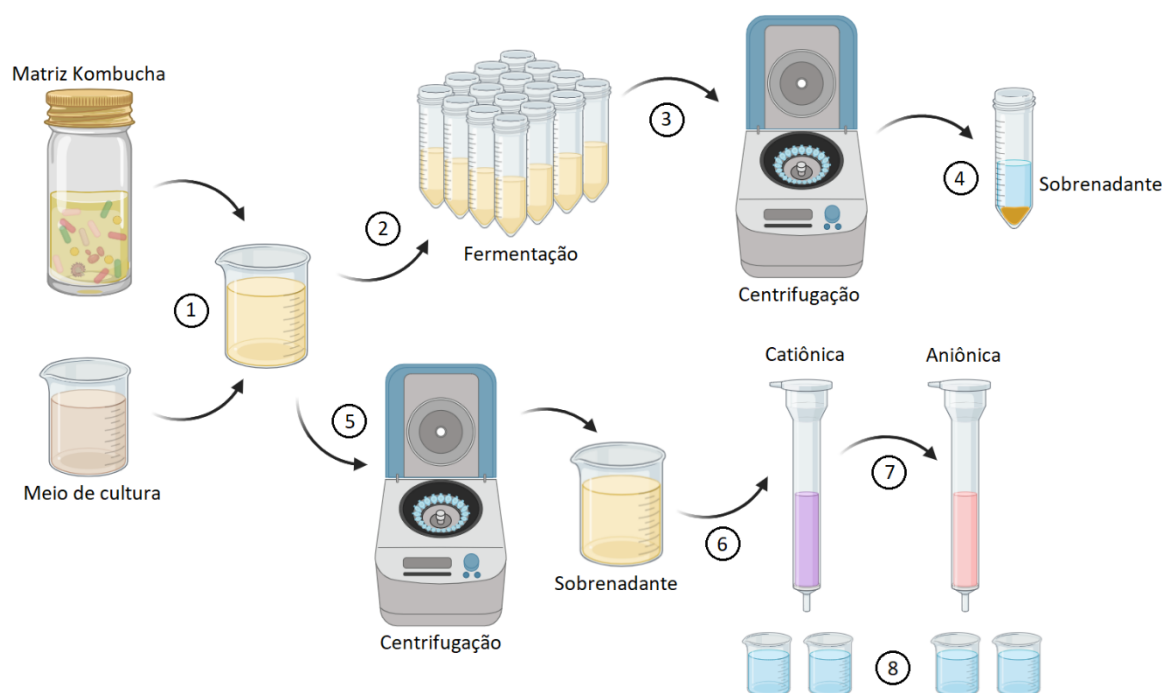
3.1 Objetivo específico

- Realizar levantamento bibliográfico para selecionar resina de troca iônica comercial adequada a meios complexos fermentados;
- Realizar cálculos preditivos da capacidade de operação e dimensionamento das colunas de troca iônica;
- Realizar os cultivos de Kombucha;
- Determinar a caracterização físico-química do caldo fermentados;
- Realizar corridas cromatográficas de troca catiônica e aniônica;
- Realizar ensaios físico-químicos das soluções fracionadas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O delineamento experimental do projeto é apresentado na Figura 6, que consiste em (1) preparo e caracterização do meio, inóculo e ponto 0h fermentado, (2) Fase I, distribuição equivalente em triplicatas para acompanhamento da cinética de fermentação, (3) separação primária, (4) recuperação do sobrenadante e análises do caldo e biomassa, (5) Fase II separação primária, (6) recuperação do sobrenadante e corrida em trocadores catiônicos, (7) corrida em trocadores aniônicos e (8) caldo fracionado em suas respectivas cargas.

Figura 6 – Delineamento experimental do projeto



Fonte: Autoria própria (2025)

As fermentações do Kombucha foram realizadas no Laboratório de processos (LAPRO) da UTFPR, as separações em colunas de troca iônica recheadas com resinas no Laboratório de polímeros (LAPOL) da UTFPR e as análises foram feitas no Laboratório Multiusuário de Biotecnologia Ambiental e Alimentos (LABIA) da UTFPR, e as análises de CLAE no Laboratórios Multiusuários (LabCA) da UTFPR.

4.1 Caldo de fermentação do Kombucha

O caldo de fermentação do Kombucha foi obtido segundo (Barbosa et al., 2021), em condições de cultivo aeróbico, com 5 g/L de chá verde (*Camellia sinensis*) comercial, 75 g/L de sacarose comercial, 10% v/v de inóculo e 25 g/L de SCOBY em base úmida por ensaio. O cultivo foi realizado em triplicata durante 15 dias em biorreatores de polipropileno de 50 ml, contendo 40 ml de meio de cultivo pré-inoculados e $1,0 \pm 0,02$ g de SCOBY. Foram coletadas amostras a cada 24h para acompanhamento da cinética de fermentação.

4.2 Análise físico-química

O caldo fermentado foi caracterizado quanto ao teor de sólidos solúveis totais, acidez total titulável, pH, condutividade elétrica, sais dissolvidos, teor alcoólico, biomassa residual e biofilme (SCOBY). Já para o fracionado foi caracterizado quanto ao teor de sólidos solúveis totais, pH, condutividade elétrica e sais dissolvidos.

O pH foi determinado por meio de pHmetro de bancada, enquanto a condutividade elétrica foi quantificada utilizando condutivímetro de bancada, com resultados expressos em $\mu\text{S}/\text{cm}$ e mS/cm . Os sólidos solúveis totais foram avaliados em refratômetro de bancada, com valores expressos em °Brix, e por meio de eletrodo, com resultados expressos em ppm. A acidez total titulável foi determinada segundo a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), empregando solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M com fator de correção de 0,99662, e os resultados expressos em mEq/L de ácido acético. A quantificação de sais dissolvidos foi realizada em analisador portátil, sendo os valores expressos em %.

A biomassa residual foi estimada a partir da massa seca obtida durante a fermentação. Para isso, as amostras foram coletadas em tubos previamente pesados e secos, centrifugadas a 3.500 rpm por 30 minutos, lavadas com água destilada, submetidas à nova centrifugação e com descarte do sobrenadante e foram então levadas à estufa a 65 °C até atingirem massa constante. O biofilme foi quantificado em gramas de base úmida, utilizando balança analítica. Todos os equipamentos utilizados foram devidamente calibrados e operados de acordo com os procedimentos operacionais padrão recomendados para cada instrumento.

4.3 Determinação de etanol e ácido acético

O teor de etanol foi determinado pelo método do dicromato de potássio ácido, adaptado conforme descrito por Salik e Povh (1993), com a leitura realizada em espectrofotômetro a 595 nm, com a curva de calibração de ($y=0,1105x+0,0022$ e $R^2=0,9939$) e a variação da concentração padrão usada (0,001 até 8,0 % v/v).

O ácido acético foi determinado por cromatografia líquida (Thermo Dionex Ultimate HPLC 3000) em uma coluna C18 – 250x4,5 mm 5 μ m, temperatura de forno 40°C, injeção 20 μ L, fase móvel tampão fosfato 0,025 M pH 2,5, tempo 22 minutos e detector DAD 210 nm.

4.4 Resinas catiônicas e aniônicas

As resinas de troca iônica foram selecionadas de acordo com as características indicadas por Collins et al., (2014) & Kilikian et al., (2020), descritas abaixo, levando em consideração o custo comercial, disponibilidade de compra a pronta entrega e informações detalhadas da ficha técnica do fabricante:

- Composição da matriz: atóxica, hidrofóbica ou parcialmente hidrofóbica, estabilidade mecânica, estabilidade química não reacional e capacidade de área superficial;
- Grãos da resina: tamanho da partícula, grau de porosidade, tamanho do poro, densidade relativa, esterilizável e baixa deformação;
- Grupos de funcionalidade: poder de seletividade, não reacionais, constante de ionização adequada a fase móvel, redução de tratamentos anteriores a corrida e faixa de pH operacional;
- Capacidade de retenção: equivalência de contração, velocidade de troca iônica, equilíbrio físico-químico entre fase móvel e estacionária;
- Compatibilidade da fase móvel: propriedades dos eletrólitos, tamponamento, concentração e difusão;
- Faixa de eluição: capacidade de dissociação, gradiente de força iônica em função do tempo, pequeno volume de solução de eluição e redução de regeneração.

As resinas selecionadas para esse trabalho são compatíveis com as características descritas por Collins e são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Características das resinas escolhidas para o projeto

Parâmetros	Resina Catiônica	Resina Aniônica
Grupo funcional	R-SO ₃ ⁻	R-CH ₂ N ⁺ (CH ₃) ₃
Densidade	780 – 880 g/L	660 – 710 g/L
Teor de umidade	50 – 56%	48 – 58%
Capacidade	2,0 Eq/L Na ⁺ 1,9 Eq/L H ⁺	1,3 Eq/L Cl ⁻
Composição matriz	PS/DVB* (8%)	PS/DVB* (5%)
Faixa de operação de pH	0 – 14	0 – 14
Preço por grama de resina	R\$ 0,11/g	R\$ 0,098/g

*PS: Poliestireno; DVB: Divinilbenzeno.

Fonte: Autoria própria (2025)

4.5 Ambientador, eluentes e regenerador

As soluções para ambientação e intumescimento empregadas no projeto foram água ultrapura e uma solução 20 % (v/v) de etanol respectivamente. Para o carregamento e regeneração das resinas catiônica e aniônica foi empregada uma solução de cloreto de sódio (NaCl) a 0,1M (5,84g/L). Já para eluição, em ambas as resinas foi empregada uma solução de sulfato de cálcio (CaSO₄) a 0,007M (1g/L). Essas soluções foram definidas de acordo com ensaios preliminares, que levaram em consideração, baixa toxicidade, replicação, participação de íons e contraíons nas amostras fracionadas, grau alimentício, baixo custo e acessibilidade de produtos.

4.6 Projeto da coluna de troca iônica

O projeto de dimensionamento da coluna para corrida cromatográfica foi calculado de acordo com Collins et al., (2014) com base na capacidade operacional e volumétrica das resinas recheadoras da coluna, demonstradas nas Equações (3) (4) (5) e (6) para os cálculos de volume da coluna, capacidade de troca total do trocador, sua quantidade máxima de amostra e volume máximo de amostra por corrida.

$$V_C = \pi * r^2 * h_a \quad (3)$$

$$C_{TT} = C_{Tr} * V_C \quad (4)$$

$$Q_{Max} = \frac{C_{TT} * V_{TT}}{100} \quad (5)$$

$$V_{Max} = \frac{V_{TT} * V_C}{100} \quad (6)$$

Em que: V_C = Volume da coluna (ml); h_a = Altura da coluna; C_{TT} = Capacidade total de troca da coluna (mEq); C_{Tr} = Capacidade de troca da resina (mEq/ml); Q_{Max} = Quantidade máxima de amostra; V_{TT} = Volume total de troca orientada (ml) e V_{Max} = Volume máximo de amostra (ml).

4.7 Extração do caldo fermentado

A corrida cromatográfica seguiu as etapas abaixo tanto para os trocadores catiônicos (+) quanto para os aniônicos (-):

- (1) Passagem da solução carregadora de cloreto de sódio contendo contraíons com capacidade de ionização menor que os compostos presentes na amostra do caldo;
- (2) Passagem do caldo fermentado após 15 dias de fermentação. Os contraíons serão substituídos por compostos e biomoléculas presentes no caldo de acordo com suas respectivas cargas;
- (3) Dessorção dos compostos através da solução eluente de sulfato de cálcio, que substituem as moléculas e biomoléculas por contraíons com capacidade de ionização maior que as contidas no caldo;
- (4) Passagem da solução regeneradora de cloreto de sódio contendo contraíons a fase estacionária com poder de substituição de íons agregados por novos íons, na qual, o regenerador com pH alterado, reduz a força iônica dos contraíons promovendo sua substituição;
- (5) Finalização da corrida com a passagem da solução ambientadora de água ultrapura para o próximo teste.

4.8 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) a 5% de probabilidade através do software Excel® e posteriormente comparados ao teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Cinética de fermentação

Os parâmetros físico-químicos iniciais do meio de cultura, do inóculo e do início da fermentação são apresentados na Tabela 5, na qual, podemos observar que o pH inicial do meio de cultura foi de 5,57, demonstrando uma leve acidez, compatível com a presença residual de ácidos orgânicos e constituintes fenólicos provenientes do chá de substrato. Esse valor está dentro da faixa encontrada por outros autores, que varia de 3,2 a 7,5 e em grande parte formado por catequinas epiestruturadas que promovem pH de 3 a 5, diferente das catequinas não epiestruturadas que variam de pH entre 6 a 7 (Vuong et al., 2013; Meremäe et al., 2025). O estudo de Lau et al., (2025), a matriz do Kombucha apresentou pH mais baixo que 3,08, indicando a presença de ácidos orgânicos e voláteis acumulados por atividade microbiana.

A condutividade elétrica variou de 165 $\mu\text{S}/\text{cm}$ no meio de cultura para 391 $\mu\text{S}/\text{cm}$ na matriz do Kombucha, refletindo uma maior carga eletrolítica na matriz. No tempo 0h de cultivo, a condutividade elétrica foi estabilizada em 194 $\mu\text{S}/\text{cm}$, demonstrando que a diluição parcial da matriz tem a predominância dos eletrólitos presentes.

A concentração de sólidos solúveis totais manteve-se entre 82 e 195 ppm, sugerindo uma matriz relativamente limpa e com baixa interferência particulada e a acidez total titulável variou expressivamente, chegando a 11,20 mEq/L (matriz) que contribuiu para a acidez final do tempo 0h de cultivo de 0,29 mEq/L. A presença de ácido acético e outros ácidos justifica esses valores.

Tabela 5 – Características iniciais do Kombucha

Parâmetro	Meio de cultura	Matriz do Kombucha	0h de fermentação
pH	5,57	3,08	4,13
ATT	1,15 mEq/L	11,20 mEq/L	0,29 mEq/L
C.E.	165 $\mu\text{S}/\text{cm}$	391 $\mu\text{S}/\text{cm}$	194 $\mu\text{S}/\text{cm}$
SALT	0	0,01	0
SST	82 ppm	195 ppm	97 ppm
Brix	7,2 °Brix	9,0 °Brix	7,4 °Brix
Etanol	-	0,0073 % (v/v)	0,0028 % (v/v)

ATT: Acidez total titulável; C.E.: Condutividade elétrica; SALT: Sais dissolvidos; SST: Sólidos solúveis totais.

Fonte: Autoria própria (2025)

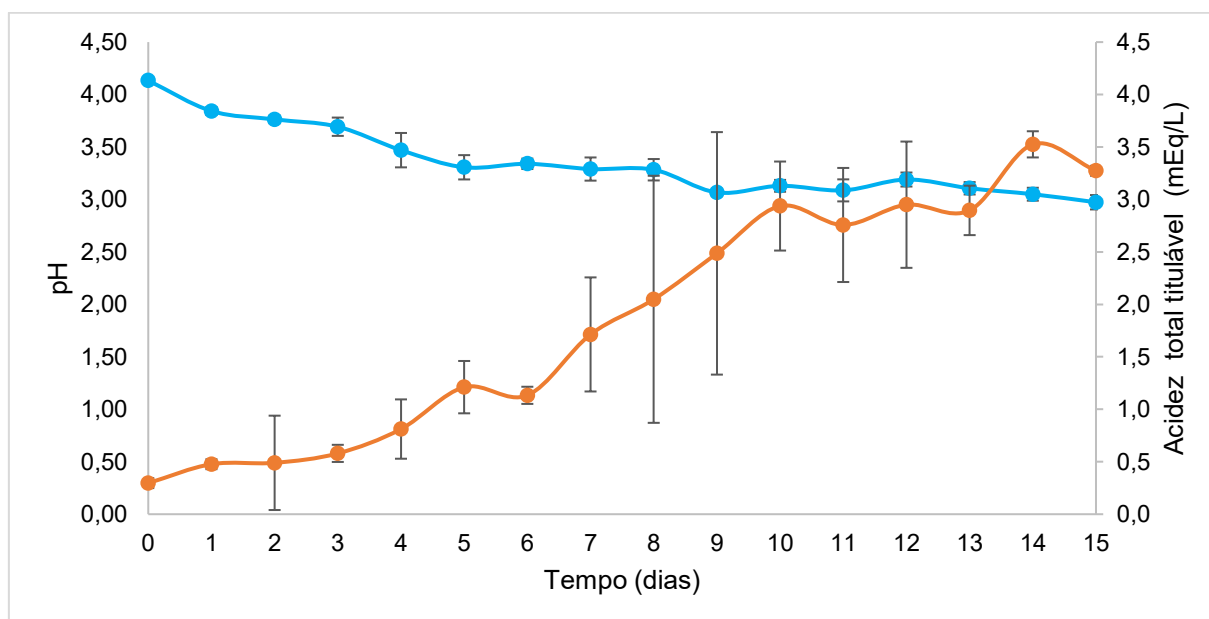
5.1.1 pH e acidez total

O Gráfico 2 apresenta a evolução do pH e da acidez total titulável respectivamente ao longo dos 15 dias de fermentação e revelaram comportamento inversamente proporcional, indicando o sentido da fermentação e a produção e acúmulo de eletrólitos com perfis de carga ácida no meio fermentativo.

O pH reduziu de 4,13 no início da fermentação para cerca de 2,97 ao final dos 15 dias de fermentação, enquanto a acidez total titulável elevou-se de 0,29 para mais de 3,27 mEq/L. Essa correlação negativa indica acúmulo de ácidos orgânicos no meio, compatível com o metabolismo acidogênico de culturas bióticas (Yuliana et al., 2023; Setyaningsih et al., 2025; Zheng et al., 2025).

Comparando com dados encontrados na literatura, observa-se que os valores obtidos se alinham com estudos sobre fermentação do Kombucha, nos quais o pH final oscila entre 2,2 e 3,5 e a acidez total titulável atinge valores superiores a 6,0 mEq/L (Yuliana et al., 2023; Wang et al., 2025). Além disso, os estudos também relataram que a variação da acidez total titulável quando muito discrepante dentro da mesma faixa de oscilação de pH é devido à predominância de grupos microbianos dentro da fermentação.

Gráfico 2 – Acompanhamento de pH (●) e acidez total titulável (●) ao longo da fermentação



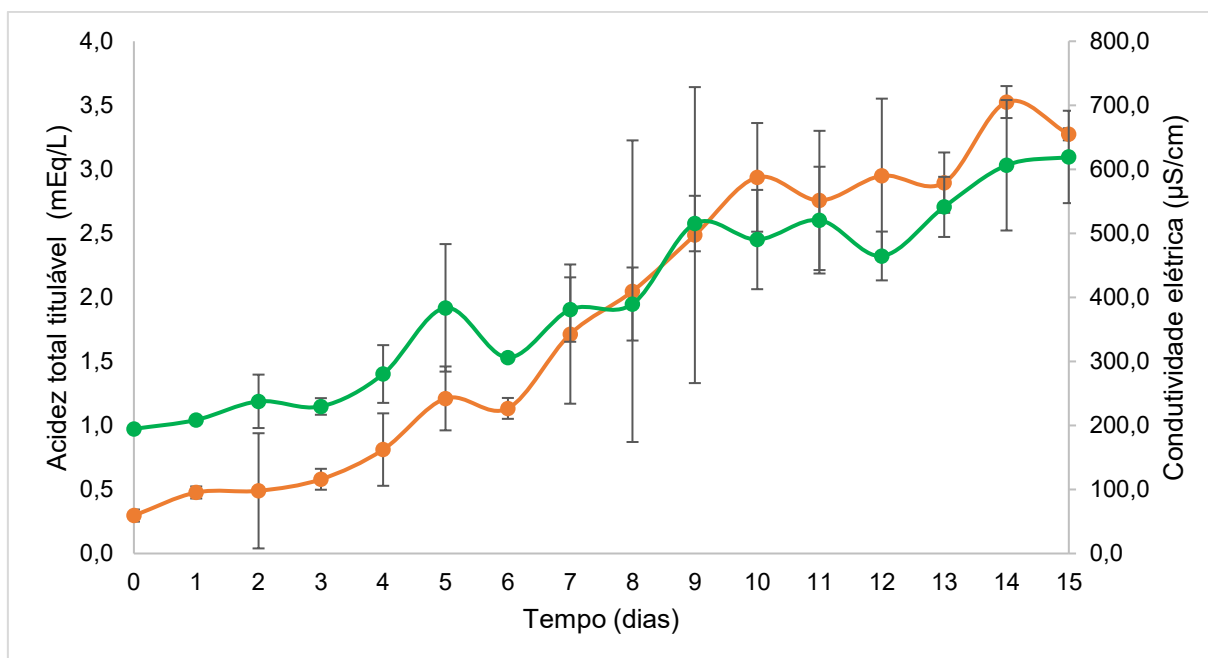
Fonte: Autoria própria (2025)

5.1.2 Condutividade elétrica e sais ionizantes

A condutividade elétrica aumentou de forma contínua durante os 15 dias de fermentação, passando de 194 a 619 $\mu\text{S}/\text{cm}$ como indicado no Gráfico 3. Isso ocorre principalmente por parte da liberação de eletrólitos na forma de ácidos orgânicos dissociados e da mobilização de minerais associados ao metabolismo microbiano. De acordo com Silva (2017) os íons como H^+ , K^+ , Na^+ , além de ânions orgânicos (acetato, lactato), são os principais a contribuir para o incremento da carga eletrolítica.

Verificou-se uma correlação positiva entre condutividade elétrica e acidez total titulável, que reforça a hipótese de que a produção de ácidos fracos e sua subsequente dissociação são os principais responsáveis pelo aumento da condutividade. Este comportamento é consistente com modelos cinéticos de fermentação acidogênicos, em que o acúmulo de produtos ácidos gera efeitos cumulativos sobre os parâmetros elétricos da solução (Wang et al., 2025; Zheng et al., 2025).

Gráfico 3 – Acompanhamento da condutividade elétrica (●) e acidez total titulável (●) ao longo da fermentação

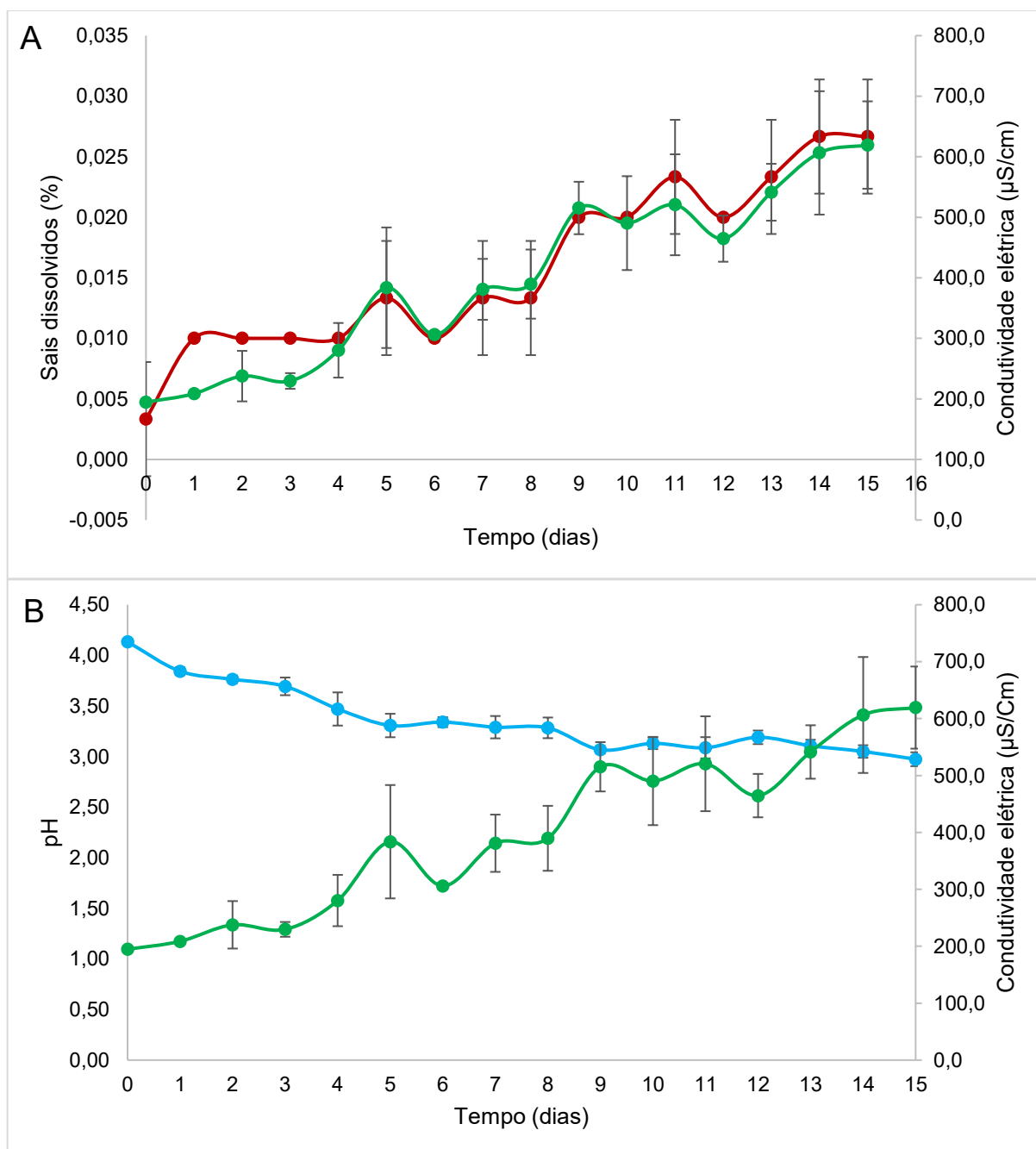


Fonte: Autoria própria (2025)

A concentração de sais dissolvidos manteve padrão similar à condutividade elétrica, conforme Gráfico 4 (A), com leve flutuação inicial seguida de estabilização, indicando equilíbrio entre liberação e consumo iônico durante a fermentação. Fazendo

uma análise conjunta de condutividade elétrica e sais dissolvidos Gráfico 4 (A) com pH, Gráfico 4 (B), pode-se confirmar que a fermentação promove a intensificação da carga iônica total da solução, além de demonstrar a formação de ácidos com baixo pKa e a ausência de tamponamento significativo (Jayabalan et al., 2014).

Gráfico 4 – Comparativo entre condutividade elétrica (●) e sais dissolvidos (●) em (A), e entre condutividade elétrica e pH (●) em (B) ao longo da fermentação

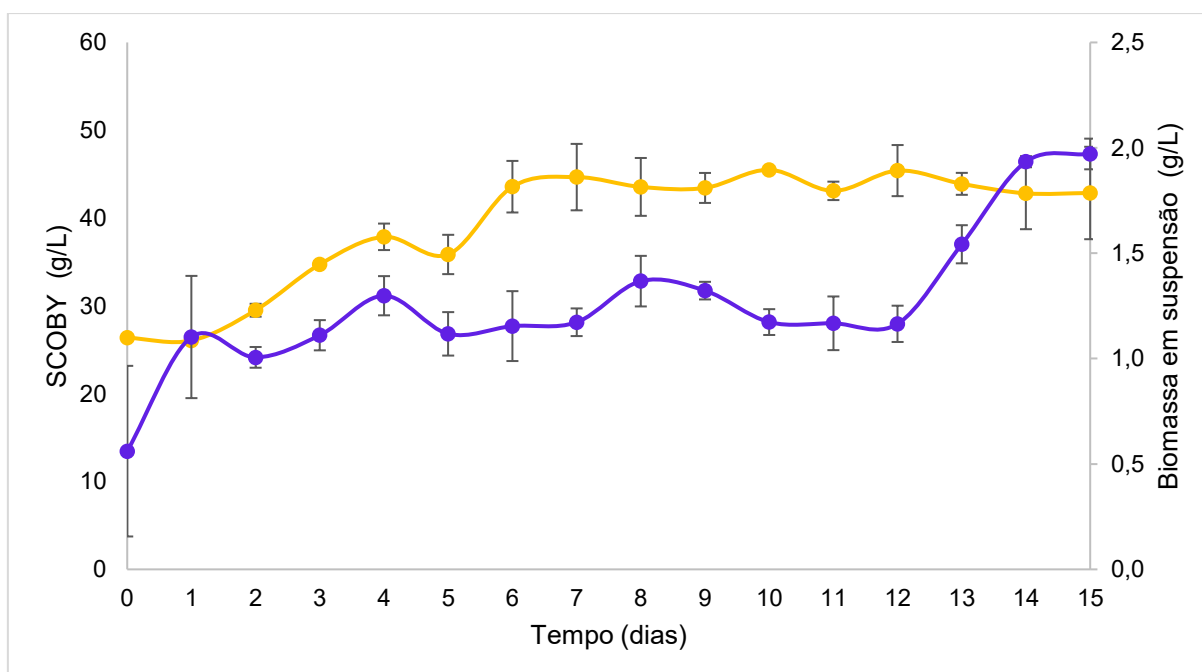


Fonte: Autoria própria (2025)

5.1.3 Determinação de biomassa e sólidos solúveis

A biomassa em suspensão quantificada é composta por células microbianas (bactérias e leveduras), além de macropolímeros extracelulares e resíduos sólidos provenientes do chá utilizado como substrato. Durante os primeiros dias de fermentação, a concentração de biomassa em suspensão no caldo permaneceu relativamente estável, variando entre 0,5 e 1,1 g/L até aproximadamente o 12º dia Gráfico 5. Após isso, observou-se um incremento significativo na concentração de biomassa em suspensão atingindo seu ponto máximo de 1,97 g/L ao final da fermentação. Alguns autores descrevem esse comportamento como característico de sistemas fermentativos do Kombucha, nos quais, ocorre um acúmulo progressivo de células no sistema acompanhado de variações pontuais devido à velocidade de crescimento microbiano, que é um reflexo da diversidade de espécies presentes e de seus diferentes tempos de geração (Antolak; Piechota; Kucharska, 2021; Harrison; Curtin, 2021; Costa et al., 2022).

Gráfico 5 – Cinética da biomassa em suspensão (●) e do SCOBY (●) ao longo da fermentação



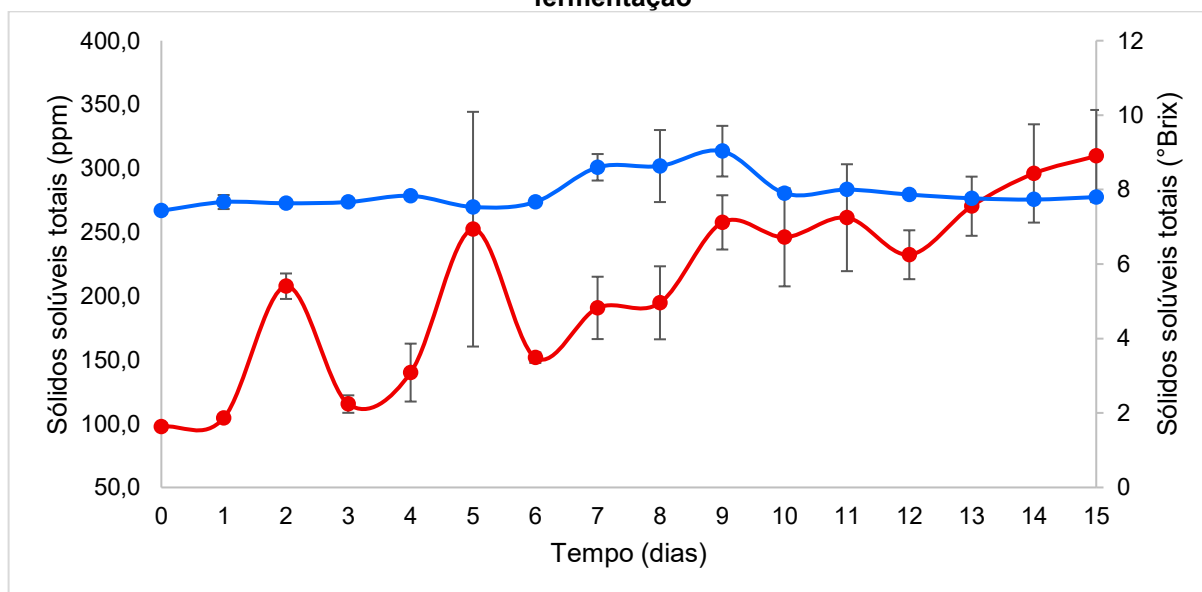
Fonte: Autoria própria (2025)

O biofilme (SCOBY) apresentou aumento progressivo de concentração, sendo mais estável comparado à biomassa em suspensão, atingindo cerca de 42,8 g/L no final da fermentação, com uma taxa média de produtividade de 1,12 g/L.dia de

formação Gráfico 5. Comparando os resultados de biomassa em suspensão e do biofilme, podemos observar que não há uma correlação direta além do acúmulo ao longo da fermentação, já que parte do SCOBY é formada por microrganismos aderidos e a biomassa em suspensão contém macropolímeros não fixados ao biofilme.

Avaliando a evolução dos sólidos solúveis totais ($^{\circ}$ Brix), apresentados no Gráfico 6, permaneceu praticamente estável durante todo o processo fermentativo, com apenas uma leve variação entre os dias 6 e 10. Esse comportamento diverge de alguns relatos da literatura (Muhialdin et al., 2019; Da Silva et al., 2024) que observaram quedas mais acentuadas, porém é coerente com outros estudos que também reportaram estabilidade nos $^{\circ}$ Brix ao longo da fermentação (Durães; Pires; Lins, 2021; Klawpiyapamornkun et al., 2023) A estabilidade nos $^{\circ}$ Brix pode estar associada à interferência de sólidos coloidais, proteínas, polímeros e detritos celulares, que afetam a leitura óptica por refração, mascarando parcialmente a real redução dos açúcares. Em contrapartida, os sólidos solúveis totais, obtidos por medidas eletroquímicas em ppm, apresentaram um aumento expressivo, superando 300 ppm, evidenciando a formação de partículas coloidais, biomassa microbiana, resíduos celulares e exopolímeros gerados durante o processo de fermentação.

Gráfico 6 – Cinética dos sólidos solúveis totais (●) em $^{\circ}$ Brix e em ppm (●) ao longo da fermentação



Fonte: Autoria própria (2025)

Esse cenário reforça a importância da análise conjunta de parâmetros ópticos, visto que compostos com propriedades refratárias e cargas eletroativas impactam diretamente ambas as medições. A interpretação isolada de °Brix não reflete fielmente o avanço da fermentação, sendo fundamental o suporte de indicadores complementares para uma avaliação precisa do metabolismo e da dinâmica microbiana.

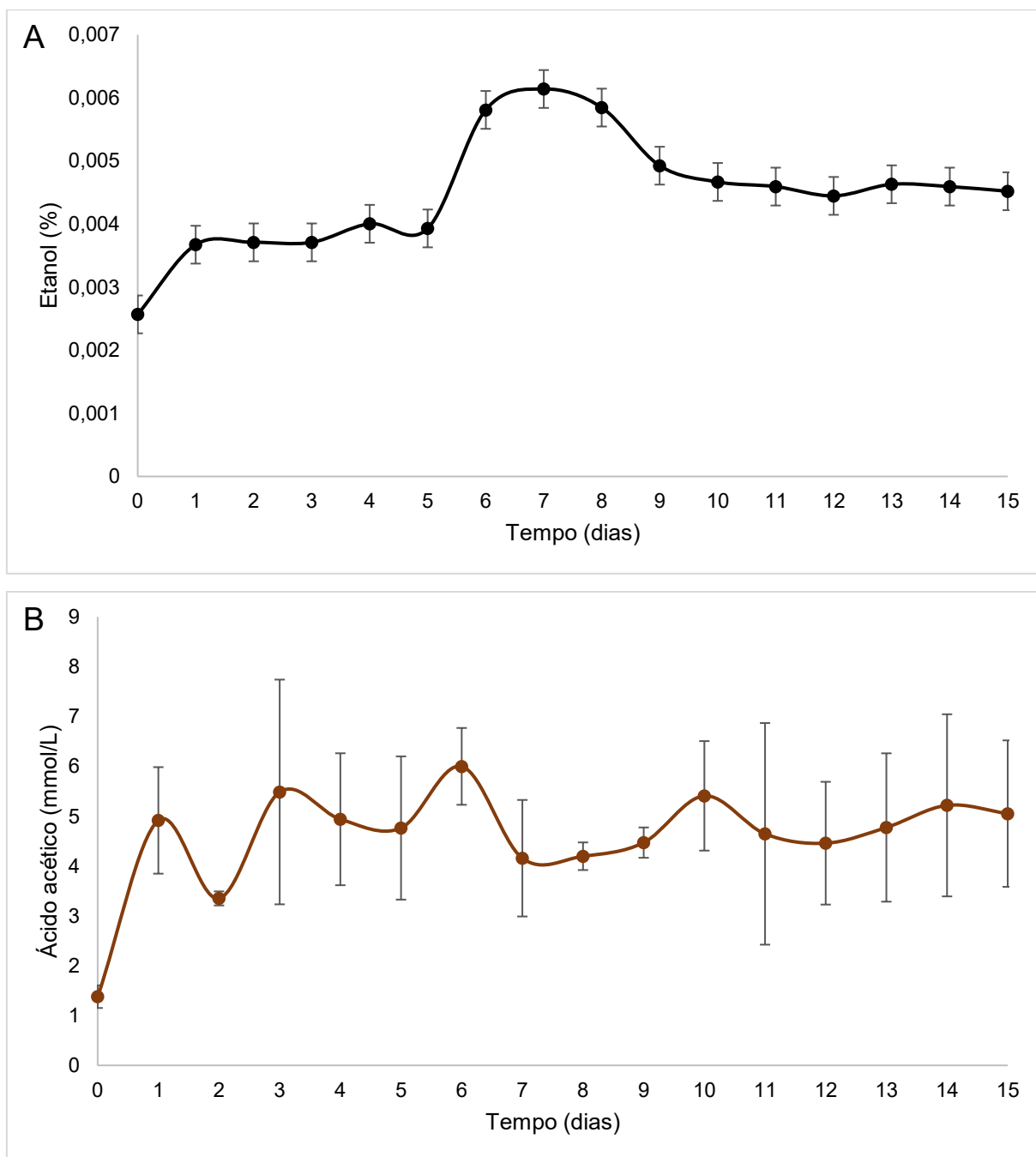
5.1.4 Concentração de etanol e ácido acético

A evolução na produção de etanol durante a fermentação é apresentada no Gráfico 7 (A), com um pico no 7º dia em torno de 0,006% (v/v), seguido de redução nos dias seguintes, provavelmente em função da oxidação acética.

O comportamento oscilatório da concentração de ácido acético, até 6 mmol/L, reflete um balanço dinâmico entre formação e oxidação do composto, bem como sua participação em processos de troca iônica e estabilização do pH. A conversão de etanol em ácido acético por *Acetobacter spp.* justifica a queda subsequente no teor alcoólico (Crum; LaGory, 2016; Antolak; Piechota; Kucharska, 2021; Costa et al., 2022).

Apesar das oscilações da concentração de ácido acético Gráfico 7 (B), a tendência geral foi de acúmulo, compatível com os aumentos de acidez total titulável e as quedas de pH observadas. Os dados sugerem que o sistema alcançou um balanço entre produção e consumo de compostos voláteis, mantendo-se dentro da faixa de consumo e produção ao longo da fermentação.

A comparação com fermentações relatadas por Chen *et al.*, (2000) e Jayabalan *et al.*, (2007), evidencia que os níveis de etanol e ácido acético encontrados são típicos de Kombuchas bem conduzidas, com predominância de metabolismo oxidativo após a fase inicial de fermentação alcoólica.

Gráfico 7 – Cinética de formação de etanol (A) e de ácido acético (B) ao longo da fermentação

Fonte: Autoria própria (2025)

5.2 Colunas de troca iônica

As características iniciais e operacionais das colunas de troca catiônica e aniônica são apresentadas na Tabela 6 e descrevem a massa de resina empregada (g), capacidade de troca da coluna (Eq/ml) e das resinas (Eq/L), volume útil preenchido pelas resinas dentro das colunas descontando suas respectivas capilaridades (ml) e volume teórico de troca iônica por volume de amostra (ml).

O preparo das colunas de troca iônica seguiu bases teóricas e estudos experimentais preliminares, e foi fundamental para estabelecer condições operacionais e iniciais das colunas, a fim de assegurar sua reprodutibilidade no processo de adsorção e eluição em futuros projetos.

Tabela 6 – Características das colunas de troca iônica

Parâmetros	Coluna catiônica	Coluna aniônica
Massa de resina	2,0941 g	2,0817 g
Capacidade de troca resina	2 Eq/L Na ⁺	1,3 Eq/L Cl ⁻
Volume útil da coluna	2,5 ml	2,8 ml
Capacidade de troca da coluna	0,005 Eq Na ⁺	0,00364 Eq Cl ⁻
Volume máximo teórico de amostra	247,5 ml	453,1 ml

Fonte: Autoria própria (2025)

Os parâmetros físico-químicos iniciais do caldo fermentado (caldo cru), caldo parcial (fracionado em coluna catiônica), solução de carregamento (NaCl) e a solução de eluição (CaSO₄) são apresentados na Tabela 7. Observa-se que o pH do caldo cru, inicialmente ácido em 2,97 passou para 3,67 no caldo parcial e as soluções de carregamento e eluição apresentaram perfil parcialmente ácido de 5,62 e 4,13 respectivamente.

A condutividade elétrica apresentou 619 µS/cm no caldo cru, enquanto 11240 µS/cm para solução de carregamento e 1070 µS/cm para solução de eluição. Isso demonstra que a quantidade de íons livres nas soluções é mais alta que no caldo cru, indicando a força favorável de troca de contraíons dentro da coluna.

O caldo parcial confirma essa força de condutividade, onde podemos ver uma redução na metade da condutividade pós passagem pela coluna catiônica em 323 µS/cm e sua redução de 0,03 para 0,01 em sais dissolvidos, isso demonstra que a

carga de contraíons para carregamento e eluição são superiores na força de ionização para o processo de adsorção e dessorção dentro da coluna.

Tabela 7 – Características iniciais do processo de extração em resinas de troca iônica

Parâmetros	Caldo cru	Carregamento	Eluição	Caldo Parcial
pH	2,97	5,62	4,13	3,67
C.E.	619 $\mu\text{S/cm}$	11240 $\mu\text{S/cm}$	1070 $\mu\text{S/cm}$	323 $\mu\text{S/cm}$
SALT	0,03	0,6	0,05	0,01
SST	309 ppm	5650 ppm	535 ppm	162 ppm

C.E.: Condutividade elétrica; SALT: Sais dissolvidos; SST: Sólidos solúveis totais.

Fonte: Autoria própria (2025)

5.2.1 Coluna de troca catiônica

5.2.1.1 Carregamento e regeneração

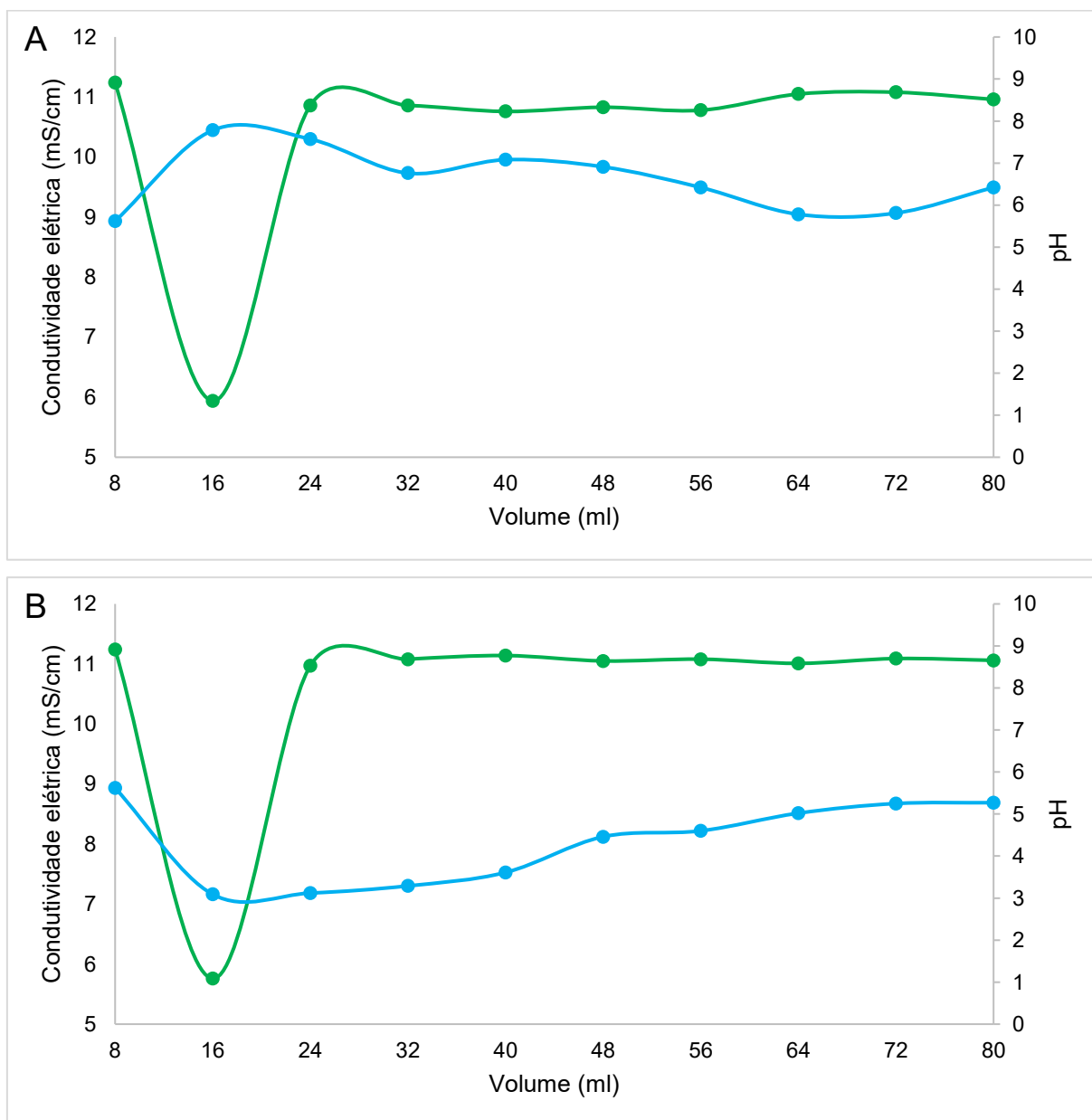
O perfil de carregamento da coluna preenchida com resinas catiônicas é apresentado no Gráfico 8 (A), e demonstra uma queda abrupta e uma rápida recuperação na condutividade elétrica nos primeiros 15 a 25 ml de percolado durante a etapa de carregamento da coluna com solução de cloreto de sódio (NaCl). Isso indica rápida saturação da resina por contraíons presentes na solução de carregamento e confirma sua estabilização nos demais volumes percolados.

O aumento subsequente do pH nos primeiros 15 a 25 ml de percolado, reflete a liberação de íons catiônicos presentes nas resinas durante seu carregamento. Sua confirmação é vista ao decorrer da estabilização após esse ponto de equilíbrio. Além disso, conforme o volume da solução é percolado vemos o retorno aos padrões iniciais de condutividade elétrica e pH no ponto de entrada da coluna.

Na etapa de regeneração Gráfico 8 (B), podemos ver que a coluna catiônica promoveu a restauração parcial da capacidade de troca iônica nos primeiros 25 ml de percolado em relação a sua condutividade. Porém, o retorno dos valores de pH próximos aos padrões iniciais de entrada foram observados apenas próximo aos 72 ml de percolado. Esse resultado demonstra que houve a saída tardia de compostos e moléculas não eluídas na etapa de eluição da coluna catiônica. A eficiência observada em curto prazo foi inferior à reportada por Liu et al., (2021), e ao fim do processo a coluna regenerada apresentou comportamento efetivo, sugerindo que a solução

regenerante pode aumentar a recuperação de capacidade de troca e prolongar a vida útil da resina.

Gráfico 8 – Perfil do pH (●) e condutividade elétrica (●) no carregamento (A) e na regeneração (B) das resinas catiônicas



Fonte: Autoria própria (2025)

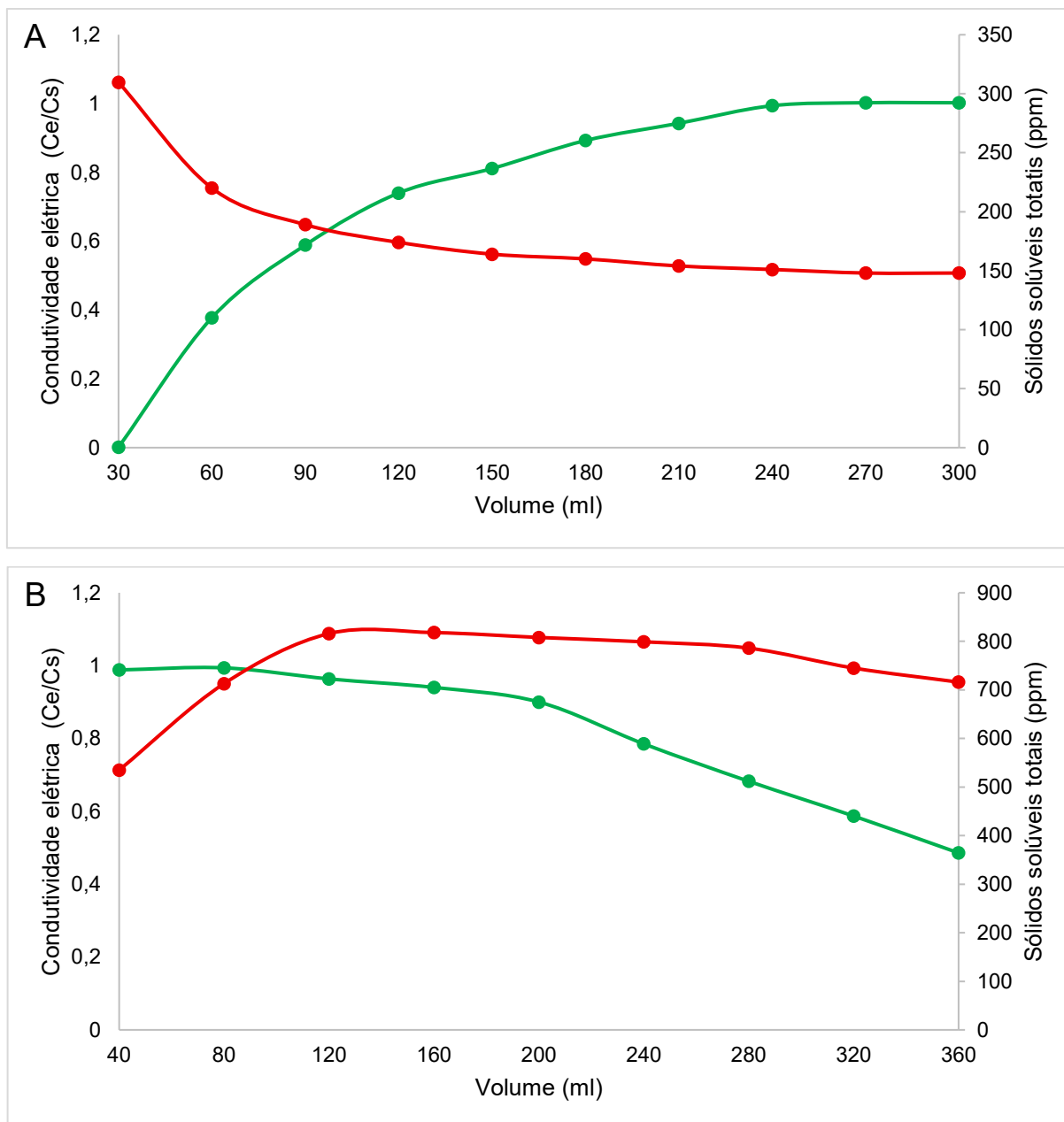
5.2.1.2 Extração e eluição

O processo de extração do caldo cru em coluna catiônica é apresentado no Gráfico 9 (A), no qual, o perfil de condutividade elétrica durante a extração confirma que a seletividade dos eletrólitos catiônicos ocorreu de forma crescente até aproximadamente 240 ml de volume percolado, indicando a saturação dos sítios ativos e da coluna próximo aos valores teóricos. Já a curva de sólidos solúveis totais apresentou decréscimo regular ao longo do processo, indicando a adsorção iônica parcial de compostos associados ao comportamento catiônico ao longo do processo.

A eluição seletiva dos eletrólitos catiônicos é apresentada no Gráfico 9 (B), onde observamos que a condutividade foi mais lenta e fraca até os 200 ml de percolado, posterior seguiu decrescente de forma mais abrupta até os 300 ml, isso demonstra que o processo não promoveu a recuperação completa dos eletrólitos catiônicos dentro da coluna, correspondendo apenas a 50% do recuperado em todas as frações analisadas.

A curva de sólidos solúveis totais revela que a eluição ocorreu de forma coesa, com intensa saída nos primeiros 120 ml de percolado seguida por estabilização e pouco decréscimo ao longo do processo. Esse perfil é compatível com o modelo de dispersão axial descrito por Helfferich (1995), no qual a concentração de íons eluídos diminui à medida que a frente de eluição se propaga, indicando que a força de ionização mais fraca dos eletrólitos é a primeira a sair da coluna e as de maior força são as últimas a saírem.

Gráfico 9 – Perfil da condutividade elétrica (●) e dos sólidos solúveis totais (●) na extração (A) e eluição (B) do caldo cru em resinas catiônicas



Fonte: Autoria própria (2025)

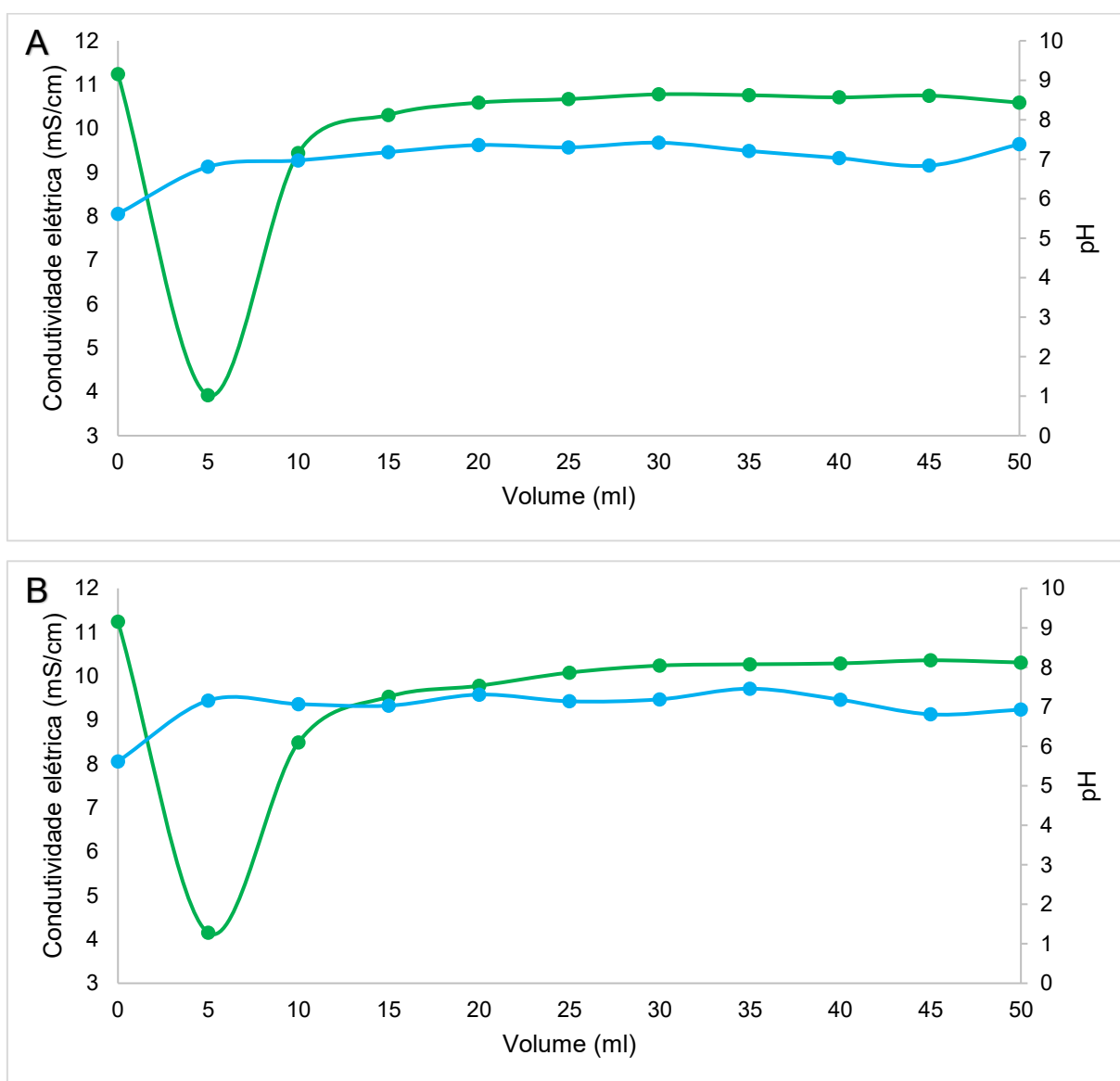
5.2.2 Coluna de troca aniônica

5.2.2.1 Carregamento e regeneração

Durante o carregamento da coluna aniônica, apresentado no Gráfico 10 (A), verificou-se comportamento semelhante ao da catiônica, com redução inicial da condutividade elétrica nos seus 5 ml, e estabilização após os 15 ml de percolado. O pH sofreu leve aumento, mas manteve-se dentro da faixa de comportamento esperado.

A regeneração da coluna aniônica apresentada no Gráfico 10 (B), diferente da regeneração da coluna catiônica, apresentou maior grau de recuperação com a solução de cloreto de sódio (NaCl), que promoveu a restauração completa da capacidade da coluna aniônica. Isso é refletido pela recuperação dos valores de pH e condutividade elétrica aos seus estados iniciais. Esse resultado confirma a eficiência do processo de regeneração e permite a reutilização da coluna em novos ciclos de extração, ainda que com possível perda gradual de desempenho após múltiplos reusos.

Gráfico 10 – Perfil do pH (●) e condutividade elétrica (●) no carregamento (A) e na regeneração (B) das resinas aniônicas



Fonte: Autoria própria (2025)

Embora a recuperação da capacidade de troca da coluna aniônica seja de eficiência aparentemente superior à da resina catiônica, um fator importante pode estar relacionado ao tamanho dos eletrólitos presentes no caldo cru e parcial, que podem estar associados à maior complexidade antes da primeira etapa de fracionamento. Segundo Lopez (2022), a maior difusividade de ânions multivalentes dentro da matriz das resinas pode promover ou desfavorecer a sua regeneração e recuperação a novas etapas do processo.

5.2.2.2 Extração e eluição

O perfil obtido para a extração com resina aniônica Gráfico 11 (A), revelou aumento inicial na condutividade elétrica ao decorrer do processo, atingindo sua máxima em 55%, ou seja, não atingindo sua capacidade total de saturação. Isso demonstra que os eletrólitos de carga aniônica presentes no caldo parcial não foram os suficientes para saturar a coluna aniônica. Isso pode ser devido à baixa concentração de ácidos orgânicos no caldo parcial, ou em função da perda ao longo dos processos anteriores. Além disso, seria necessário mais de 400 ml de amostra de caldo parcial para saturação da coluna de acordo com cálculos teóricos e o volume máximo do experimento foi de 150 ml. A concentração de sólidos solúveis totais apresentou diminuição relativa ao decorrer do processo, mas assim como a condutividade, não se atingiu o máximo esperado.

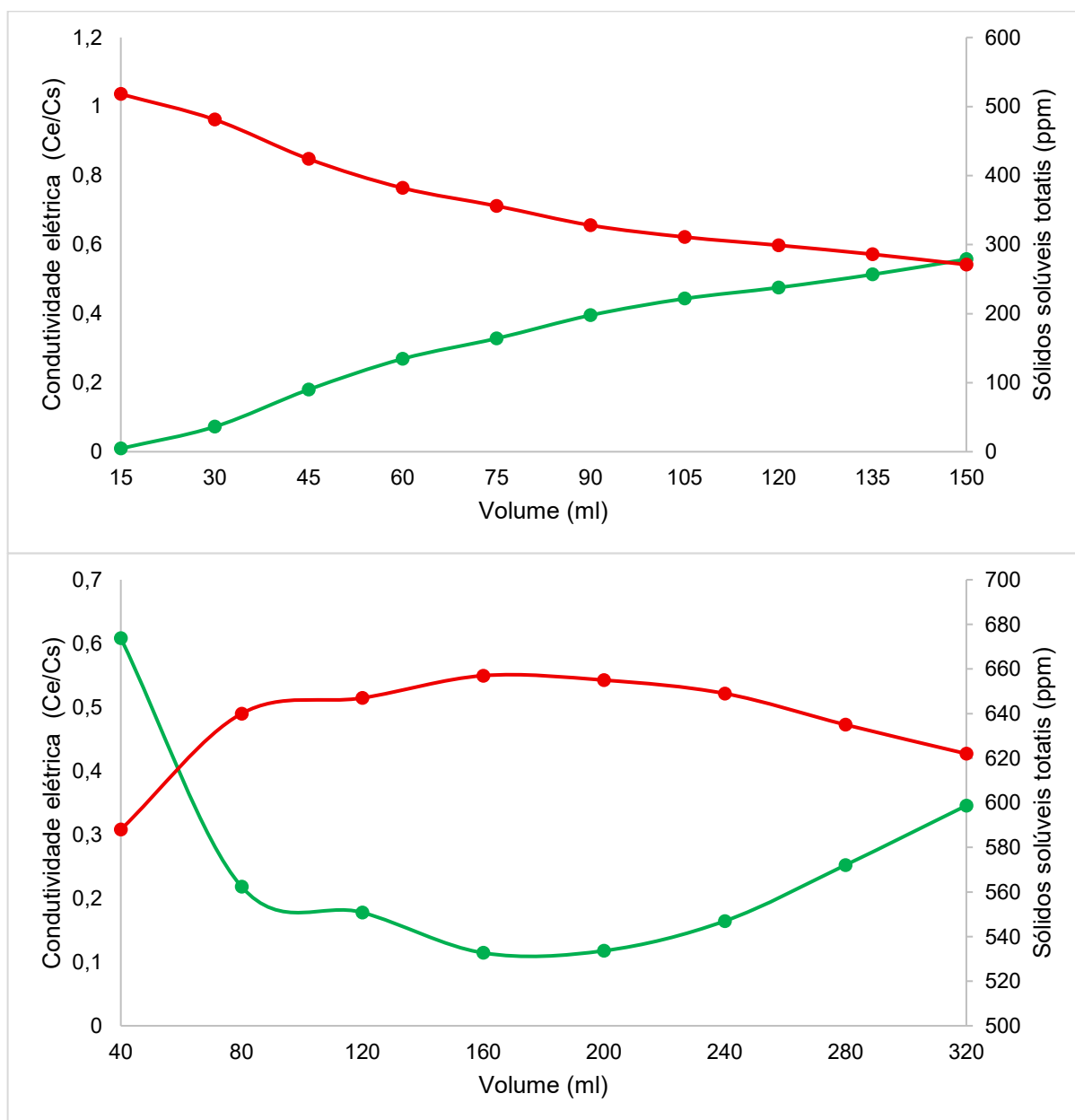
Alguns estudos como os de Kunz (2018), relatam elevada afinidade de resinas aniônicas por ânions de ácidos orgânicos, o que pode explicar o comportamento observado. Além disso, resultados similares foram descritos por Zhang (2021) na separação de ácidos orgânicos de caldos fermentativos, reforçando a aplicabilidade das resinas aniônicas em processos de fracionamento seletivo.

Por fim, a eluição aniônica conforme Gráfico 11 (B), apresentou perfil distinto da catiônica, enquanto a concentração de sólidos solúveis totais apresentou sua máxima dessorção em 160 ml de solução de eluição percolada, a condutividade elétrica decresceu abruptamente até atingir sua máxima eluição também em 160 ml de percolado, ambas retornando ao seu parâmetro de entrada de forma gradual ao longo do processo. Esse comportamento sugere a presença de compostos menores e de maior estabilidade química, eluídos de maneira contínua e rápida. Essa característica pode ser vantajosa em processos de purificação que demandam maior

regularidade na fração recuperada, como apontado por Chowdhury (2020) em estudos de purificação de metabólitos secundários.

Esse comportamento sugere que a resina aniônica retém compostos menos voláteis e mais estáveis, os quais são liberados de forma contínua ao longo do processo. Assim, a eluição aniônica se caracteriza por maior uniformidade, em contraste com a eluição catiônica, que apresentou picos bem definidos.

Gráfico 11 – Perfil da condutividade elétrica (●) e dos sólidos solúveis totais (●) na extração (A) e eluição (B) do caldo parcial em resinas aniônicas



Fonte: Autoria própria (2025)

6 CONCLUSÃO

O presente estudo evidenciou que o fracionamento do caldo fermentado de Kombucha por colunas de troca iônica constitui uma abordagem promissora para a separação direcionada de compostos bioativos com características eletrolíticas provenientes de meios complexos de fermentação. A cinética de fermentação demonstrou a formação progressiva de uma cultura complexa e bioquimicamente diversa, cujo comportamento dinâmico ao longo dos 15 dias de cultivo, reforça a robustez do Kombucha como plataforma natural para a geração de compostos de alto valor agregado. Esse acompanhamento também mostrou que a utilização de diferentes métodos e ensaios analíticos permite uma visão mais clara e preditiva dos tempos ideais de fermentação, bem como dos parâmetros eletroquímicos mais adequados para o fracionamento do caldo.

O fracionamento realizado nas colunas de troca iônica demonstrou eficiência na retenção e recuperação de biomoléculas com diferentes tipos de cargas. As etapas de carregamento, eluição e regeneração resultaram em alterações expressivas nos parâmetros físico-químicos, confirmando a capacidade das resinas em separar compostos de acordo com sua natureza iônica. Esses resultados não apenas confirmam a aplicabilidade do método, mas também ressaltam seu potencial de escalabilidade, considerando a relação custo-benefício favorável em comparação a técnicas cromatográficas convencionais como a HPLC.

Em outra perspectiva, o fracionamento obtido amplia as possibilidades de aproveitamento do Kombucha como matriz para a recuperação de ácidos orgânicos, polifenóis e outros metabólitos de interesse funcional, abrindo novas perspectivas de aplicação nas indústrias alimentícias, farmacêuticas e cosméticas. Contudo, a eficiência do processo mostrou-se diretamente dependente da escolha da resina, da força iônica do meio e das condições operacionais aplicadas, fatores que precisam ser otimizados para evitar perdas de rendimento ou degradação de compostos sensíveis. Assim, a aplicação de troca iônica em caldos fermentados revela-se uma alternativa tecnicamente consistente, ambientalmente sustentável e economicamente viável, constituindo uma ferramenta estratégica para agregar valor à produtos derivados de fermentações naturais.

Para trabalhos futuros, recomenda-se a otimização dos parâmetros operacionais das colunas, a comparação sistemática de diferentes resinas e eluentes,

além do escalonamento do processo para aplicações industriais, de modo a viabilizar a recuperação em larga escala de frações específicas com potencial funcional e comercial.

REFERÊNCIAS

- ABAYIE, S. O.; LEIVISKÄ, T. **Removal of nitrate from underground mine waters using selective ion exchange resins**. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 10, n. 6, p. 108642, 1 dez. 2022.
- ABRÃO, A. **Operações de Troca Iônica**. São Paulo: INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES - CNEN/SP, 2014.
- ALEXANDRATOS, S. D. **Trends in ion exchange**: Analysis of the literature. *Reactive and Functional Polymers*, v. 169, n. August, p. 105066, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2021.105066>.
- ALTUNTERIM, R.; VERGILI, I. **Clofibric acid removal by ion exchange using a magnetic ion exchange resin: equilibrium, kinetics, reusability and characterisation**. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, v. 102, n. 17, p. 5495–5515, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1799998>.
- ALVES, Í. et al. **The Technological Perspectives of Kombucha and Its Implications for Production**. *Fermentation*, v. 8, n. 185, p. 1–12, 2022.
- ANTOLAK, H.; PIECHOTA, D.; KUCHARSKA, A. **Kombucha tea—A double power of bioactive compounds from tea and symbiotic culture of bacteria and yeasts (SCOBY)**. *Antioxidants*, v. 10, n. 10, 2021.
- BARBOSA, C. D. et al. **Microbial–physicochemical integrated analysis of kombucha fermentation**. *Lwt*, v. 148, n. January, 2021.
- BAUER-PETROVSKA, B.; PETRUSHEVSKA-TOZI, L. **Mineral and water soluble vitamin content in the Kombucha drink**. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 35, n. 2, p. 201–205, 2000.
- BISHOP, P. et al. **Chemical Composition of Kombucha**. *Beverages*, v. 8, n. 3, p. 1–17, 2022.
- CAI, H.-Y. et al. **Adsorption of Low-Molecular-Weight Carboxylic Acids to Anion Exchange Resins with Various Properties and the Mechanisms of Interaction**. *ACS ES&T Water*, p. 60–69, 2022.
- CARDOSO, R. R. et al. **Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile**, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*, v. 128, p. 108782, 1 fev. 2020.
- CHEN, C.; LIU, B. Y. **Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation**. *Journal of Applied Microbiology*, v. 89, n. 5, p. 834–839, 2000.
- CHEN, X. S. et al. **Separation and purification of $\ddot{\mu}$ -poly-l-lysine from fermentation broth**. *Process Biochemistry*, v. 51, n. 1, p. 134–141, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2015.11.010>.

COELHO, R. M. D. et al. **Kombucha**: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, v. 22, n. July, p. 100272, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100272>.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. 5ª Ed. ed. Campinas: Editora Unicamp, 2014.

COSTA, M. A. de C. et al. **Kombuchas from Green and Black Tea Modulate the Gut Microbiota and Improve the Intestinal Health of Wistar Rats Fed a High-Fat High-Fructose Diet**. *Nutrients*, v. 14, n. 24, 2022.

CRUM, H.; LAGORY, A. **The Big Book of Kombucha**: Brewing, Flavoring, and Enjoying the Health Benefits of Fermented Tea. United Kingdom: Hachette, 2016.

DA ROCHA, W. R. V. et al. **Screening and optimizing fermentation production of l-asparaginase by *Aspergillus terreus* strain S-18 isolated from the Brazilian Caatinga Biome**. *Journal of Applied Microbiology*, v. 126, n. 5, p. 1426–1437, 2019.

DA SILVA, S. F. et al. **Physicochemical Properties, Antioxidant Activity, and Sensory Profiles of Kombucha and Kombucha-Like Beverages Prepared Using Passion Fruit (*Passiflora edulis*) and Apple (*Malus pumila*)**. *ACS Agricultural Science and Technology*, v. 4, n. 9, p. 938–946, 16 set. 2024.

DATTA, L. P.; MANCHINEELLA, S.; GOVINDARAJU, T. **Biomolecules-derived biomaterials**. *Biomaterials*, v. 230, 2020.

DEMCAK, S.; BALINTOVA, M.; HOLUB, M. **The removal of sulphate ions from model solutions and their influence on ion exchange resins**, 2020.

DIMIDI, E. et al. **Fermented Foods**: Definitions and Characteristics, Gastrointestinal Health and Disease. *Nutrients*, v. 11, n. 1806, p. 1–26, 2019.

DURÃES, G. C. S.; PIRES, B. A. M.; LINS, T. C. L. **Kombucha based synbiotic beverage using yacon (*Smallanthus sonchifolius*) as a fermentation substrate: Development and sensorial analysis**. *Food Research*, v. 5, n. 4, p. 66–71, 1 ago. 2021.

EVANS, D. R. H.; ROMERO, J. K.; WESTOBY, M. Chapter 9 **Concentration of Proteins and Removal of Solutes**. *Methods in Enzymology*, v. 463, n. C, p. 97–120, 1 jan. 2009.

FRITZ, J. S. **Factors affecting selectivity in ion chromatography**. *Journal of Chromatography A*, v. 1085, n. 1, p. 8–17, 26 ago. 2005.

GRUSHKA, E.; GRINBERG, N. **Advances in Chromatography**. 1ª Ed. ed. [s.l.] CRC Press, 2009.

HARLAND, C. E. **Ion Exchange**: Theory and Practice. 2ª ed. [s.l.] Royal Society of Chemistry, 2007.

HARRISON, K.; CURTIN, C. **Microbial composition of scoby starter cultures used by commercial kombucha brewers in North America**. *Microorganisms*, v. 9, n. 5, p. 1–21, 2021.

INAMUDDIN; LUQMAN, M. **Ion Exchange Technology I: Theory and Materials**. p. 320, 2012.

HEFFERICH, Friedrich G. **Ion Exchange**. Mineola: Dover Publications, 1995. Reimpressão da obra originalmente publicada em 1962 pela McGraw-Hill.

JAKUBCZYK, K. et al. **Evaluation of Fluoride and Selected Chemical Parameters in Kombucha Derived from White, Green, Black and Red Tea**. *Biological Trace Element Research*, v. 199, n. 9, p. 3547–3552, 2021.

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*, v. 13, n. 4, p. 538–550, 2014.

JAYABALAN, R.; MARIMUTHU, S.; SWAMINATHAN, K. **Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation**. *Food Chemistry*, v. 102, n. 1, p. 392–398, 1 jan. 2007. . Acesso em: 4 jun. 2023.

JI, C. et al. **A chelating resin with bis[2-(2-benzothiazolythioethyl)sulfoxide]: Synthesis, characterization and properties for the removal of trace heavy metal ion in water samples**. *Talanta*, v. 73, n. 2, p. 195–201, 15 set. 2007.

JÚNIOR, J. C. da S. et al. **Kombucha: Formulation, chemical composition, and therapeutic potentialities**. *Current Research in Food Science*, v. 5, p. 360–365, 1 jan. 2022.

KILIKIAN, B. V.; PESSOA JR., A. **Purificação de produtos biotecnológicos: operações e processos com aplicações industrial**. 2ª ed. São Paulo: Blucher, 2020.

KINRADE, B.; DAVIES, P. L.; VANCE, T. D. R. **Bacterial sugar-binding protein as a one-step affinity purification tag on dextran-containing resins**. *Protein Expression and Purification*, v. 168, p. 105564, 1 abr. 2020.

KITWETCHAROEN, H. et al. **Kombucha Healthy Drink—Recent Advances in Production**, Chemical Composition and Health Benefits. *Fermentation*, v. 9, n. 1, 2023.

KLAWPIYAPAMORNKUN, T. et al. **Enhancing the Chemical Composition of Kombucha Fermentation by Adding Indian Gooseberry as a Substrate**. *Fermentation*, v. 9, n. 3, 1 mar. 2023.

LEAL, J. M. et al. **A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites**. *CYTA - Journal of Food*, v. 16, n. 1, p. 390–399, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>.

LEMMA, S. M.; BOI, C.; CARBONELL, R. G. **Nonwoven ion-exchange membranes with high protein binding capacity for bioseparations**. *Membranes*, v. 11, n. 3, 2021.

LENHOFF, A. M. **Protein adsorption and transport in polymer-functionalized ion-exchangers**. *Journal of Chromatography A*, v. 1218, n. 49, p. 8748–8759, 9 dez. 2011.

LEUNG, W. W.-F. **Commercial Applications of Centrifugation in Biotechnology**. Centrifugal Separations in Biotechnology, p. 135–160, 1 jan. 2020.

LI, C. et al. **Recent advances in the separation and purification of lactic acid from fermentation broth**. Process Biochemistry, v. 104, n. February, p. 142–151, 2021.

LIBERTI, L.; HELFFERICH, F. G. **Mass Transfer and Kinetics of Ion Exchange**. [s.l: s.n.]

LIU, X. et al. **A review of the design of packing materials for ion chromatography**. Journal of Chromatography A, v. 1653, p. 462313, 13 set. 2021. . Acesso em: 7 jun. 2023.

MARSH, A. J. et al. **Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples**. Food Microbiology, v. 38, p. 171–178, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2013.09.003>.

MARSON, G. V. et al. **Membrane fractionation of protein hydrolysates from by-products: Recovery of valuable compounds from spent yeasts**. Membranes, v. 11, n. 1, p. 1–19, 2021.

MEREMÄE, K. et al. **Polyphenolic profiles, antioxidant capacity, and antibacterial activity of green tea, matcha tea, black tea, and yerba mate extracts**. Applied Food Research, p. 101080, 13 jun. 2025. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2772502225003889>. Acesso em: 16 jun. 2025.

MOHD ARIFF, R. et al. **Recent trends in Kombucha: Conventional and alternative fermentation in development of novel beverage**. Food Bioscience, v. 53, p. 102, 1 jun. 2023.

MUHIALDIN, B. J. et al. **Effects of sugar sources and fermentation time on the properties of tea fungus (kombucha) beverage** Article in International Food Research Journal. [s.l: s.n.]. Disponível em: <http://www.ifrj.upm.edu.my>.

NACHOD, F. C.; SCHUBERT, J. **Ion Exchange Technology**. New york: Academic Press, 1956.

NADERI, M. et al. **Solvation of exchangeable cations in sulfonated polystyrene ion-exchange resins: an ESR study**. Reactive and Functional Polymers, v. 51, n. 1, p. 25–31, 1 abr. 2002.

NGUYEN, N. K. et al. **Screening the optimal ratio of symbiosis between isolated yeast and acetic acid bacteria strain from traditional kombucha for high-level production of glucuronic acid**. LWT - Food Science and Technology, v. 64, n. 2, p. 1149–1155, 1 dez. 2015. . Acesso em: 4 jun. 2023.

OZER, O. et al. **Crosslinked PS-DVB microspheres with sulfonated polystyrene brushes as new generation of ion exchange resins**. Desalination, v. 309, p. 141–147, 15 jan. 2013.

PESSOA JR., A.; KILIKIAN, B. **Purificação de Produtos Biotecnológicos**. [s.l: s.n.] 2020.

RANGEL, A. E. T.; GÓMEZ RAMÍREZ, J. M.; GONZÁLEZ BARRIOS, A. F. **From industrial by-products to value-added compounds: the design of efficient microbial cell factories by coupling systems metabolic engineering and bioprocesses**. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, v. 14, n. 6, p. 1228–1238, 2020.

RUKOWICZ, B.; MIESIC, I.; ALEJSKI, K. **Separation of 1,3-propanediol from aqueous solutions by ion exchange chromatography**. *Polish Journal of Chemical Technology*, v. 16, n. 2, p. 82–86, 2014.

SAHA, N.; SARKAR, B.; SEN, K. **Aqueous biphasic systems: A robust platform for green extraction of biomolecules**. *Journal of Molecular Liquids*, v. 363, p. 119882, 1 out. 2022.

SALIK, FLM; POVH, NP **Método eletrofotométrico para determinação de teores alcoólicos em misturas hidroalcoólicas**. In: Congresso Nacional da Facada, 5, Águas de São Pedro, 1993. Anais, p.262-263.

SETYANINGSIH, W. et al. **Bioprocess strategies for maximizing SCOBY growth and evaluating fermentation dynamics on phenolic content and antioxidant activity in Roselle-based Kombucha**. *Phytomedicine Plus*, v. 5, n. 2, p. 100791, 1 maio 2025. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2667031325000648>. Acesso em: 17 jun. 2025.

SHEEN, H. **Quantitation of yeast total proteins in sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis sample buffer for uniform loading**. *Analytical Biochemistry*, v. 498, p. 95–97, 1 abr. 2016.

SIMON, G. P. **Ion Exchange Training Manual**. [s.l: s.n.] 1991.

SONG, Y. et al. **Emerging Nanoporous Materials for Biomolecule Separation. Advanced Functional Materials**, v. 32, n. 20, p. 1–19, 2022.

SRINIVAS, K. S. et al. **A novel protocol for the subcellular fractionation of C3A hepatoma cells using sucrose density gradient centrifugation**. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, v. 60, n. 1, p. 23–27, 30 jul. 2004.

TAGHAVIJELOUDAR, M. et al. **A rapid, efficient and eco-friendly approach for simultaneous biomass harvesting and bioproducts extraction from microalgae: Dual flocculation between cationic surfactants and bio-polymer**. *Science of the Total Environment*, v. 854, n. June 2022, p. 158717, 2023.

TAYLOR; FRANCIS. V. **chemical composition of tea**. *Food Reviews International*, v. 11, n. 3, p. 435–456, 1995.

VILLARREAL-SOTO, S. A. et al. **Metabolome-microbiome signatures in the fermented beverage, Kombucha**. *International Journal of Food Microbiology*, v. 333, n. December 2019, p. 108778, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108778>.

VOET, D.; VOET, J. G. **Biochemistry**. [s.l.] Copyright, 2011.

VUONG, Q. V. et al. **Effects of aqueous brewing solution pH on the extraction of the major green tea constituents**. *Food Research International*, v. 53, n. 2, p. 713–719, 1 out. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996912003766>. Acesso em: 16 jun. 2025.

WANG, B. et al. **Effect of fermentation conditions on bioactive compounds, physicochemical properties, antimicrobial activities, and cellulosic pellicle formation in black tea Kombucha**. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 65, p. 103547, 1 abr. 2025. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S187881812500060X>. Acesso em: 17 jun. 2025.

WATAWANA, M. I. et al. **Evaluation of the Effect of Different Sweetening Agents on the Polyphenol Contents and Antioxidant and Starch Hydrolase Inhibitory Properties of Kombucha**. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 41, n. 1, 2017.

WILLIAMS, P. A.; HUDSON, M. J. **RECENT DEVELOPMENTS IN ION EXCHANGE**. [s.l: s.n.] 1990.

YULIANA, N. et al. **Total microbe, physicochemical property, and antioxidative activity during fermentation of cocoa honey into kombucha functional drink**. *Applied Food Research*, v. 3, n. 1, p. 100297, 1 jun. 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772502223000367>. Acesso em: 17 jun. 2025.

ZHENG, Y. et al. **Key enzymatic activities and metabolic pathway dynamics in acidogenic fermentation of food waste: Impact of pH and organic loading rate**. *Journal of Environmental Management*, v. 373, p. 123983, 1 jan. 2025. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0301479724039707>. Acesso em: 17 jun. 2025.

