

PRODUÇÃO DE BIOFILMES A PARTIR DE CULTURA SIMBIÓTICA DE BACTÉRIAS E LEVEDURAS – SCOPY – EM EUTERPE OLERACEA MART. (AÇAÍ)

PRODUCTION OF BIOFILM FROM SYMBIOTIC CULTURE OF BACTERIA AND YEAST – SCOPY – IN EUTERPE OLERACEA MART. (AÇAÍ)

PRODUCCIÓN DE BIOFILM A PARTIR DE CULTIVO SIMBIÓTICO DE BACTERIAS Y LEVADURAS (SCOPY) EN EUTERPE OLERACEA MART. (AÇAÍ)



10.56238/revgeov16n4-093

Kétlin Clazer Scherer

Aluna do curso Técnico em Química
Instituição: Instituto Federal de Rondônia (IFRO)
E-mail: ketliclazer@gmail.com

Emilly Kauanne Alves Hurtado

Aluna do curso Técnico em Química
Instituição: Instituto Federal de Rondônia (IFRO)
E-mail: emillykauannealveskurtado@gmail.com

Júlia Luges Cristal

Acadêmica do curso de Engenharia Química
Instituição: Instituto Federal de Rondônia (IFRO)
E-mail: juliacristal5060@gmail.com

Marcia Leticia Mathara Pompilio

Acadêmica do curso de Engenharia Química
Instituição: Instituto Federal de Rondônia (IFRO)
E-mail: leticiamatharapompilio@gmail.com

Rafael Alves do Nascimento

Professor Doutor em Engenharia dos Recursos Naturais da Amazônia
Instituição: Universidade Federal do Pará (UFPA)
E-mail: rafael.nascimento@ifro.edu.br

Jeane do Nascimento Moraes

Professora Doutora em Biologia Experimental
Instituição: Centro de Estudos de Biomoléculas Aplicadas à Saúde (CEBio), Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz)
E-mail: jeanemoraes2009@gmail.com



Edslei Rodrigues de Almeida

Professor Doutor em Educação Ciências e Matemática
Instituição: Instituto Federal de Rondônia (IFRO)
E-mail: edslei.rodrigues@ifro.edu.br

Edailson de Alcântara Corrêa

Professor Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia
Instituição: Instituto Federal de Rondônia (IFRO)
E-mail: edailson.correa@ifro.edu.br

RESUMO

Os biofilmes são complexos de agregados microbianos envolvidos por uma matriz autoproduzida de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) normalmente, aderidas à superfície. Esta pesquisa investigou a produção de biofilme a partir de uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras (SCOBY), utilizando extrato de *Euterpe oleracea* Mart. (1824) [açai] como substrato. Os estudos combinados com os ensaios de produção, realizados em temperatura ambiente (16 e 35 °C), foram realizados em etapas no Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia – MicroBioTec, do IFRO, campus Calama em Porto Velho – RO. A fermentação foi conduzida com cultura starter industrial em meio contendo 42 g de sacarose, 4,2 mL de polpa de açai, 2,7 mL de ácido acético e 166 mL de água mineral, incubados à temperatura ambiente por 14 (catorze) dias com posterior renovação do meio até a formação dos biofilmes. Os ensaios, realizados em triplicata e avaliados após 233 (duzentos e trinta e três) dias, proporcionaram a síntese de biofilmes gelatinosos e translúcidos, com massa inicial média de 22,88g e final de 3,32 g após secagem. As avaliações microscópicas revelaram a presença de fibras poliméricas e micro-organismos condizentes com leveduras, filamentos fúngicos imersos em EPS, que se tornaram consistentes e opacos após secagem. As análises sensoriais identificaram substratos com os seguintes perfis: coloração marrom avermelhada, aroma avinagrado e texturas inicialmente gelatinosas e translúcidas que se tornaram opacas, foliáceas e terrosas após secagem. Os dados dos ensaios e dos estudos são relevantes e podem colaborar com estudos relacionados com a produção de biofilmes oriundos de extratos vegetais da Amazônia legal. Entretanto, sugere-se análises complementares associadas aos perfis físico-químicos, estruturais e funcionais que possam aperfeiçoar, avaliar e potencializar as técnicas de produção dos biofilmes a partir do extrato de *E. oleracea*.

Palavras-chave: Biofilme. *Euterpe oleracea*. Bioprodutos. Flora Amazônica.

ABSTRACT

Biofilms are complexes of microbial aggregates surrounded by a self-produced matrix of extracellular polymeric substances (EPS), usually adhered to the surface. This research investigated biofilm production from a symbiotic culture of bacteria and yeast (SCOBY), using *Euterpe oleracea* Mart. (1824) [açai] extract as a substrate. The studies combined with the essays produced in the Microbiology and Biotechnology Laboratory - MicroBioTec, IFRO, Calama campus in Porto Velho, RO in these conditions: room temperature (16 and 35 °C). Fermentation was conducted with an industrial starter culture in a medium containing 42 g of sucrose, 4.2 mL of açai pulp, 2.7 mL of acetic acid, and 166 mL of mineral water, incubated at a room temperature for 14 (fourteen) days with subsequent renewal of the medium until biofilm formation. The tests were triplicated and evaluated after 233 (two hundred and thirty-three) days, the results showed us the synthesis of gelatinous and translucent biofilms, with

an average initial mass of 22.88 g and a final mass of 3.32 g after drying. Microscopic evaluations revealed the presence of polymeric fibers and microorganisms consistent with yeasts, fungal filaments immersed in EPS, which became consistent and opaque after drying. Sensory analyses identified substrates with the following profiles: reddish-brown coloration, vinegary aroma and initially gelatinous and translucent textures that became opaque, leafy, and earthy after drying. The data that results from the tests and the studies are relevant and can contribute to studies related to the production of biofilms from plant extracts in the Brazilian Amazon. However, we suggest additional analyses associated with physicochemical, structural, and functional profiles that could improve, evaluate, and enhance biofilm production techniques using *E. oleracea* extract.

Keywords: Biofilm. *Euterpe oleracea*. Bioproducts. Amazonian Flora.

RESUMEN

Las biopelículas son complejos de agregados microbianos rodeados por una matriz autoproducida de sustancias poliméricas extracelulares (EPS), generalmente adheridas a la superficie. Esta investigación investigó la producción de biopelículas a partir de un cultivo simbiótico de bacterias y levaduras (SCOBY), utilizando extracto de *Euterpe oleracea* Mart. (1824) [açai] como sustrato. Los estudios combinados con ensayos de producción, realizados a temperatura ambiente (16 y 35 °C), se llevaron a cabo en etapas en el Laboratorio de Microbiología y Biotecnología - MicroBioTec, IFRO, campus Calama en Porto Velho, RO. La fermentación se realizó con un cultivo iniciador industrial en un medio que contenía 42 g de sacarosa, 4,2 mL de pulpa de açai, 2,7 mL de ácido acético y 166 mL de agua mineral, incubado a temperatura ambiente durante 14 (catorce) días con posterior renovación del medio hasta la formación de la biopelícula. Las pruebas, realizadas por triplicado y evaluadas tras 233 (doscientos treinta y tres) días, dieron como resultado la síntesis de biopelículas gelatinosas y translúcidas, con una masa inicial promedio de 22,88 g y una masa final de 3,32 g tras el secado. Las evaluaciones microscópicas revelaron la presencia de fibras poliméricas y microorganismos compatibles con levaduras, filamentos fúngicos inmersos en EPS, que se volvieron consistentes y opacos tras el secado. Los análisis sensoriales identificaron sustratos con los siguientes perfiles: coloración marrón rojiza, aroma avinagrado y texturas inicialmente gelatinosas y translúcidas que se volvieron opacas, frondosas y terrosas tras el secado. Los datos de las pruebas y estudios son relevantes y pueden contribuir a los estudios relacionados con la producción de biopelículas a partir de extractos de plantas en la Amazonia brasileña. Sin embargo, sugerimos análisis adicionales asociados con los perfiles físico-químicos, estructurales y funcionales que podrían mejorar, evaluar y optimizar las técnicas de producción de biopelículas a partir del extracto de *E. oleracea*.

Palabras clave: Biopelícula. *Euterpe oleracea*. Bioproductos. Flora Amazónica.



1 INTRODUÇÃO

Estudos buscam aprimorar e inovar processos de produção de biopolímeros de celulose gerados por meio de atividades metabólicas microbianas. Destes produtos, cita-se os obtidos de matrizes que resultam de processos de fermentação da kombucha, um Scoby – *Symbiotic Culture of Bacterias and Yeasts*, em tradução livre para o português: Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras (Silva *et al.*, 2021; De Souza *et al.*, 2023). Kombucha é um conceito germanizado para o nome com etimológica japonesa, “kobu-cha”. Quanto à origem, citam-se as regiões do nordeste da China, Manchúria, onde se popularizou por suas propriedades desintoxicantes (JAYABALAN *et al.*, 2014).

Considerando a rica biodiversidade amazônica, a microbiota e os vegetais representam uma gama de possibilidades de inovações. Neste contexto, a celulose vem sendo considerada o polímero natural mais abundante da Terra e tem sido muito utilizada como solução sustentável, visto que se trata de um material biodegradável e biocompatível (Nascimento, 2022), dados mostram que a celulose pode ser uma opção na substituição dos polímeros convencionais derivados do petróleo que, por sua vez, têm uma grande aplicação industrial (KARGARZADEH *et al.*, 2017).

No que se refere a microbiota, em especial aos micro-organismos envolvidos nos processos de fermentação, as bactérias acéticas do gênero *Acetobacter*, *Gluconobacter* e *Gluconacetobacter* que estão presentes em bebidas fermentadas como a kombucha, vem sendo reportados como responsáveis pela formação da película celulósica (Santos, 2016). Entretanto, alguns gêneros prevalecem, normalmente, nas culturas iniciais como *Komagataeibacter* e *Acetobacter* - bactérias do ácido acético (AAB), e leveduras dos gêneros *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Brettanomyces* e *Candida* para leveduras (Jayabalan *et al.*, 2014; Becchi *et al.*, 2023). Por outro lado, apesar da importância das bactérias do ácido láctico (LAB) para as propriedades probióticas da kombucha, nem sempre elas aparecem nas bebidas (LAUREYS; BRITTON; CLIPPELEER, 2020; BECCHI *et al.*, 2023).

Das diferentes películas celulósicas, uma das que vem ganhando visibilidade nas mais diversas pesquisas, não somente pelas sua biodegradabilidade e não toxicidade, mas também pelas suas potenciais aplicações biotecnológicas é o Scoby (Chawla *et al.*, 2009; Keshk, 2014a; Davey & O’toole, 2000). No que se refere ao kombucha, caracteriza-se em duas fases: uma é constituída de uma camada de membrana celulósica produzida por bactérias, Scoby, e o próprio chá que possui propriedades probiótica sabor característico de fermentados e é levemente agridoce, tendo como base tradicional folhas de chá preto ou verde (RODRIGUES, 2018; SILVA *et al.*, 2021).

Quanto ao Scoby, representa um produto de potencial biotecnológico. Assim, para a sua produção, buscam-se aplicações de novos substratos. O produto final, por consequência, possuirá propriedades biológicas distintas das produzidas tradicionalmente (Maia *et al.*, 2020). Neste contexto,



propôs-se, para este estudo, a utilização de *Euterpe oleracea* (Açaí), como substância base para o cultivo da kombucha para novos ensaios para a produção de biofilme, a partir do Scoby.

O fruto da *E. oleracea* tem um papel importante na região amazônica, pela sua abundância, alta produtividade e importância socioeconômica (Anderson *et al.*, 1985; Bezerra; Nery; Lobato, 2001; Marques *et al.*, 2024). Dentre as propriedades presentes no extrato do fruto do açaí, além do sabor agradável, cita-se o alto valor nutricional e de lipídios, carboidratos, proteínas, compostos bioativos presentes nos polifenóis, da classe dos flavonoides e antocianinas, características exploradas pelas indústrias alimentícia e farmacêutica (Cedrim; Barros; Nascimento, 2018; Vargas *et al.*, 2024), aspectos importantes para novas análises.

Para os processos bioprospectivos, a produção de biopolímeros oriundos de celulose fermentada por bactérias pelas propriedades de biodegradabilidade, pureza e biocompatibilidade, são relevantes (Keshk, 2014b; Silva *et al.*, 2021). Além disso, cita-se a aplicabilidade na indústria têxtil, indústria de papel, indústria de alimentos, mineração e refinaria, tratamento de lixo, purificação de esgotos, comunicações, cosméticos, medicina, laboratórios, eletrônica, energia, engenharia de materiais, nas artes e mais recentemente no *design* de produtos sustentáveis (Costa, 2018). Neste contexto, esta pesquisa objetivou o estudo e a produção de biofilme a partir de cultura simbiótica de bactérias e leveduras - Scoby - em extrato enriquecido de *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí).

2 METODOLOGIA

Os estudos e a produção dos biofilmes foram realizados no Laboratório de Microbiologia e Biotecnologia – MicroBioTec - do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia – IFRO, *Campus* Porto Velho Calama, entre os anos de 2024 e 2025. A cultura *starter* do Scoby foi adquirida comercialmente e mantida em condições técnicas recomendadas pela companhia “Vida bióticos” - Joinville – SC, Brasil.

2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental foi estruturado com base nas metodologias descritas por De Souza *et al.* (2023), com adaptações. Inicialmente, a cultura *starter* foi mantida em solução contendo 100 mL de água mineral e 10 g de sacarose, incubada em béquer vedado com gaze estéril e elástico, à temperatura ambiente (25 °C), por sete dias. Durante esse período, foi observada redução do volume da solução, mantendo o SCOBY hidratado e ativo. Suplementações periódicas foram realizadas para reposição de nutrientes.

Para os ensaios de produção, alíquotas de $\cong 12,5$ g de SCOBY foram transferidas para três recipientes independentes (triplicata). Cada sistema fermentativo foi preparado com 15 mL de extrato de *Euterpe oleracea* Mart. (açaí), 10 g de sacarose ($C_{12}H_{22}O_{11}$) e 100 mL de água mineral. As



características físico-químicas da água foram: pH 4,9; temperatura de 25 °C; condutividade elétrica de 63,8 µS/cm. A composição iônica incluía: sulfato (0,18 mg/L), cloreto (10,23 mg/L), sódio (9,02 mg/L), nitrato (6,12 mg/L), bicarbonato (1,42 mg/L), potássio (0,68 mg/L), cálcio (0,10 mg/L), brometo (0,05 mg/L) e magnésio (0,01 mg/L).

Os cultivos foram mantidos em fermentação estática por 56 dias em temperatura ambiente (16 e 35 °C). Nesse intervalo, após 30 dias, foi realizada a renovação do meio, utilizando solução com a mesma composição inicial. Ao final do processo, os biofilmes produzidos foram removidos cuidadosamente e submetidos às análises físicas (massa e umidade), sensoriais (cor, textura, aroma), microscópicas (microscopia ótica e coloração de Gram) e microbiológicas descritivas.

2.2 ANÁLISES FÍSICAS

Para as análises físicas de massa (g) e do percentual do teor de umidade (Tu %), realizadas com adaptações e base nas orientações de Cunha, Santos e Schneider (2021) e Cruz (2023). As avaliações iniciais foram por meio de uma balança de precisão de 0,0001g, modelo Mark M214A. Para o teor de umidade (Tu %) foi realizado pela seguinte equação:

$$Tu \% = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100 \quad (1)$$

Na equação acima, o teor de umidade (Tu) se dá pela divisão entre a variação das massas, dadas em peso (P) do biofilme, ou seja [peso inicial (Pi) do subtraído pelo peso final (Pf), dividido pelo seu peso inicial (Pi) e multiplicado por 100]. As avaliações foram realizada após a desidratação assistida e com o uso de um dessecador completo 160 mm com tampa e com luva 55/38 acompanha placa de porcelana. Ao término da fase experimental, os dados coletados foram tabulados e analisados quanto a notação de média (\pm) com desvio padrão, utilizando os programas Excel da Microsoft 365 e o *software* GraphPad Prism 8.0®.

2.3 AVALIAÇÕES MICROSCÓPICAS E MICROBIOLÓGICAS

As avaliações microscópicas e microbiológicas descritivas realizadas foram por meio do uso do microscópio óptico comum, biocular e com uso da técnica de coloração de Gram, modificado de Brasil (1997) e Brasil (2013), com aumento para resolução de 1000x e 2500x para observação e identificação microbiana e estrutural descritiva.

2.4 AVALIAÇÕES SENSORIAIS

As avaliações sensoriais foram adaptadas da metodologia Perfil *Flash*, proposta por Dairou e Siefferman (2002), e que são baseada numa combinação do método de Perfil Livre com a técnica de



ordenação, assim como nas orientações de Stone *et al.* (2020); Sartor *et al.* (2021) e ABNT (2017; 2018), considerando a descrição observada pela visão olfato, tato – textura para o biofilme. Na ilustração, abaixo, mostra as etapas do protocolo experimental resumidas no fluxograma (Figura 1).

Figura 1 – Fluxograma apresentando as etapas da produção do biofilme / Scoby a partir da *E. oleracea*.



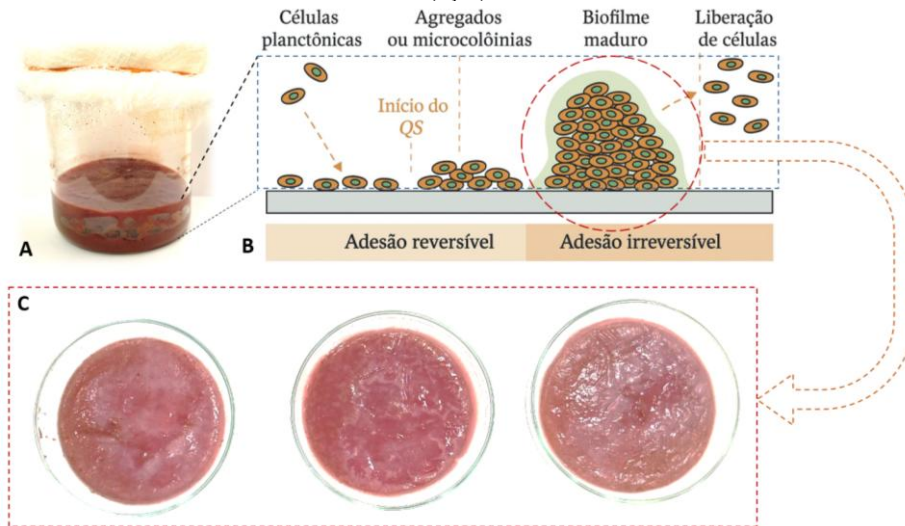
Fonte: Banco de imagens dos autores (2025).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios dos cultivos do Scoby, com adição do extrato de *E. oleracea*, resultaram na produção amostral de películas dos biofilmes com características físicas e sensoriais mensuráveis que divergiram entre os registros das amostras iniciais - hidratadas, e finais - desidratadas (secas) (Figura 2 A - C). O desenvolvimento do biofilme caracteriza-se pela ação metabólica dos microrganismos presentes no substrato aeróbico composto por água mineral, extrato de *E. oleracea* e sacarose, que propiciaram um ambiente favorável à produção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS). Conforme descrito por Caixeta (2008) e Dalla Costa *et al.* (2016), a formação do biofilme decorre de eventos sequenciais onde a adesão inicial de bactérias planctônicas à superfície (processo reversível) é seguida por subsequente proliferação e acúmulo de camadas ou agregados de células e, finalmente, pela formação da comunidade microbiana (processo irreversível), envolvida em matriz de EPS produzida por si mesma (Figura 2 – A-C).



Figura 2. As imagens A,B e C mostram eventos e características associadas com a produção de biofilme neste e em outros estudos. Em A – o bequer com substrato enriquecido para o crescimento do biofilme. Na figura B- Evidencia-se na ilustração as etapas de formação e o desenvolvimento do biofilme a partir das células planctônicas, o início do QS (*Quorum Sensing*) - mecanismos de comunicação celular entre bactérias para a coordenação de atividades em grupo - na fase reversível e, posteriormente, o biofilme maduro com a liberação das células para formação de novas microcolônias - fase irreversível. Na figura C, o biofilme, nas placas de petri, produzido em triplicata. A tom marrom avermelhado, refere-se a presença da molécula de antocianina aderidos ao EPS composta no extrato de *E. oleracea* (açáí).



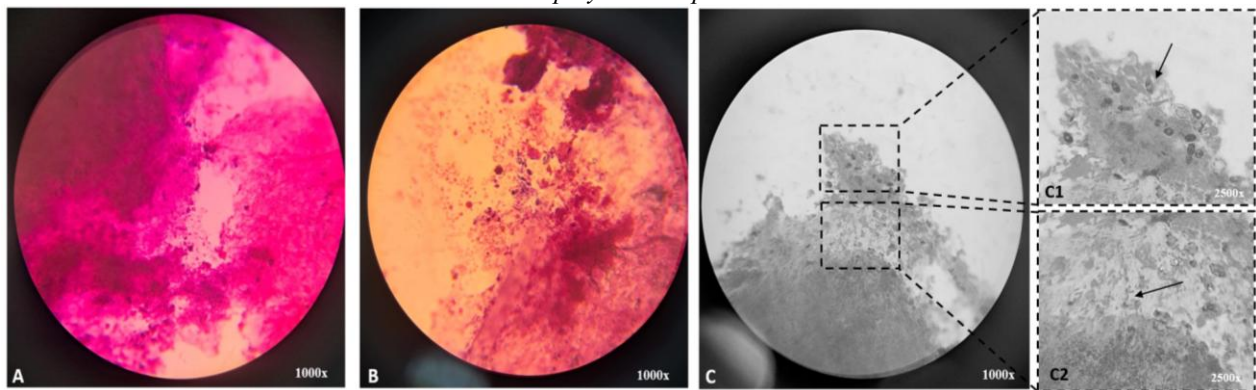
Fontes: Imagens A e C - banco de dados dos autores; D - Criada com o auxílio da ferramenta de Inteligencia Artificial (IA) do ChatGPT-4º em DALL·E 3 (2025).

Nos biofilmes (Figura 2C), o tom morrom avermelhado é derivado da cor violácea do açáí e são resultados da presença de um tipo de flavonoide - antocianina ($C_{15}H_{11}O_6+$), presentes em diferentes tipos vegetais, que se solubilizam em água. Rogez (2000) relata que a coloração característica do açáí está relacionada à alta concentração de antocianinas nos frutos. Adicionalmente, Bobbio *et al.* (2000) destacam que as antocianinas são pigmentos responsáveis por várias cores atrativas em frutas, flores e folhas e que variam do vermelho ao azul. Heredia *et al.* (1998) e De Souza *et al.* (2023) evidenciam que, em solução aquosa, as antocianinas apresentam equilíbrio entre diferentes formas estruturais, como cátion flavílio (vermelho), base anidra quinoidal (azul), pseudo-base carbitol (incolor) e base chalcona (amarela), sendo que a hidratação do cátion flavílio favorece as formas carbitol e chalcona, resultando nas colorações vermelha e amarela (Figura 3 A e B).

O processo de polimerização do biofilme, embora não bem elucidado, é descrito nos trabalhos e Chawla *et al.* (2009), Donini *et al.* (2010), Lee *et al.* (2014) e De Souza *et al.* (2023) como um mecanismos de biossíntese que inicia-se pela polimerização dos resíduos de glicose – unidos por ligações glicosídicas do tipo β (1 \rightarrow 4) glucana, seguida da excreção das cadeias lineares e finaliza com a organização e cristalização das cadeias glucanas, resultando em uma estrutura tridimensional resistente denominada de microfibrila (Figura 3C2)



Figura 3. Imagens dos campos de visão utilizadas das avaliações microscópicas. Em A e B são evidenciados esfregaços contendo granulos de EPC nas cores fixadas da coloração de Gram, bem como as tons características da presença de antocianina no EPS. Em C, imagem analisada no contraste – cor cinza e branca - sendo observada (C1 e C2 - indicadas nas setas) a presença de micro-organismos condizentes com leveduras e os agregados de microfibras, respectivamente - parte estrutural do complexo polimérico de monossacarídeos formado (EPC), do inglês: *monosaccharide composition of exopolymer complex*.



Fonte: Autores.

O processo de polimerização ocorreu de maneira uniforme e homogênea. Nas análises, verificou-se que, além da antocianina evidenciada no substrato e no EPS (Figuras 2C; 3A, B e C), a matrix polimérica extracelular que se formou são constituídas por água, diferentes classes de exopolissacarídeos, lipídios, ácidos nucleicos, proteínas, lipopolissacarídeos, minerais e apênicos bacterianos, conforme relatado por Hall-Stoodley, Costerton e Stoodley (2004); Hall-Stoodley e Stoodley (2005) e Shree *et al.* (2023).

Além disso, os polímeros estabelecem propriedades funcionais e estruturais dos biofilmes, determinando suas propriedades físico-químicas (Flemming *et al.*, 2000), oferecendo suporte e proteção aos micro-organismos de ambientes hostis (Fulaz *et al.*, 2019) e resistência que, em caso de biofilmes sintetizados por micro-organismos de interesse médico, são responsáveis pelas infecções bacterianas persistentes (COSTERTON; STEWART; GREENBERG, 1999; LEWIS, 2005; HOUDT; MICHIELS, 2010).

Nas análises físicas, as amostras hidratadas (Figura 2C) e desidratadas apresentaram massa média e desvio padrão de $13.82 \pm 4,39$ g e $1,72 \pm 0,48$ g, respectivamente. O teor de umidade (Tu %) dos biofilmes hidratados foi de aproximadamente 87,85%, valor próximo ao descrito por Mariano Cunha, Pereira dos Santos e Schneider (2021), que relataram cerca de 80%, divergindo em 7,85%. Estudos indicam que o teor de umidade pode variar conforme as condições físico-químicas do meio e a composição microbiana, porém geralmente se encontra próximo a 90% (CZAJA *et al.*, 2006; JAYABALAN *et al.*, 2014; ULLAH; SANTOS; KHAN, 2016).

As análises sensoriais das películas dos biofilmes revelaram as seguintes características: No estado hidratado, perfil hidrocópico, viscoso, translúcidos, brilhante, coloração predominantemente marrom avermelhada e com intensidade de cor reduzindo para o estado desidratado sendo, quando seco, opaco, foliáceos e terroso. Mecanicamente, no estado hidratado, o Soby apresentou,



considerando a avaliação sensorial, apresentou textura gelatinosa, maleabilidade “moderada” e, após a desidratação, resistência moderada a tração.

Quanto ao aroma, apresentou características perceptíveis de ácido acético, dados que podem ser associados com a fermentação por micro-organismos nos substratos componentes do meio e pelo extrato de *E. oleracea* (açai). Para a presença do ácido acético, Villarreal-Soto *et al.* (2018) e Bokulich e Bamforth (2013) corroboram citando que, a depender do produto desejado para o Scoby, existem diferentes espécies de bactérias e leveduras que podem ser usadas, tais como as bactérias produtoras de ácido acético - BAA, aeróbicas, gram-negativas, como as pertencentes aos gêneros *Acetobacter*; *Gluconobacter* e *Komagataeibacter*, as bactérias produtoras de ácido láctico - BAL - aeróbicas, gram-positivas, como as pertencentes ao gênero *Lactobacillus*, bem como diferentes leveduras dos gêneros *Sccharomyces* e *Zygosaccharomyces*, entre outro também identificados nos estudos das culturas Starter de Scoby usados no comércio de Kombucha, que são as leveduras do gênero *Brettanomyces* e as bactérias do gênero *Starmerella*, identificadas nos trabalhos de Harrison e Curtin (2021).

A relevância das avaliações sensoriais consiste de seu uso frequente na determinação das diferenças entre as amostras, bem como auxilia nas aplicações nas análises de estabilidade, na qualidade, formulações e correlações de medidas sensoriais e instrumentais, dados já descrito por Civille e Oftedal, (2012); Silvia *et al.* (2012) e Scolforo (2014). Entretanto, os dados deste estudo caracteriza de forma preliminar o biofilme como um potencial produto para aplicações nas indústrias.

As avaliações microscópicas de amostras dos biofilmes secos revelaram a presença de EPS com tons predominantemente marrons avermelhados, microfibras e agregados glicosídicos, como descritos nos trabalhos de Heredia *et al.* (1998) e De Souza *et al.* (2023). Adicionalmente, as análises microbiológicas realizadas com a técnica de coloração de Gram, revelaram a presença de estruturas microbianas condizentes com leveduras e outras com características das estruturas de microfibras (Figuras 3C1 e C2). A presença de grupos microbianos já foram descritos por De Souza *et al.* (2023) e Zhao, Sun e Liu (2023). Nestes, relatam que as características dos biofilmes bacterianos são geralmente definidas como comunidades microbianas fixas, encapsuladas em EPS. Entretanto, esses agregados podem ser compostos por um único micro-organismo ou por uma mistura de bactérias, fungos, arqueas, protozoários e leveduras, com uma estrutura de canal que controla a liberação de gases, nutrientes e compostos antimicrobianos (ZHAO; SUN; LIU, 2023).

Quanto aos aspectos microscópicos observados, as amostras apresentaram características de um complexo polimérico (EPC) de textura e opacidade translúcida com tons característicos da presença de antocianinas (Figura 3A, B e C). Os dados são relevantes e condizentes com os observados em estudos com produção de biofilme a partir de outros extratos vegetais, bem como corroboram diferentes pesquisas realizadas sobre a produção de biofilmes.



4 CONCLUSÃO

Os estudos *in vitro* possibilitaram a produção homogênea de três amostras de biofilmes em ensaios de produção biotecnológica a partir da adição de um extrato de *E. oleracea* (Açaí) em uma matriz de cultura simbiótica (*starter*) composta majoritariamente por bactérias e leveduras (Scoby). Os resultados da produção sobreposta das películas de biofilmes apresentaram características similares às presentes na literatura científica, bem como com tons de colorações da presença de antocianinas, a presença de cepas microbianas (leveduras), microfibras e agregados de EPCs com agregado do extrato pesquisado.

Os dados apresentados colaboram as pesquisas e reforçam os resultados promissores, previamente obtidos. Todavia, sugere-se uma ampla caracterização estrutural e funcional dos biofilmes, estudos para novas aplicações, bem como a realização de novas pesquisas que possam aprimorar e direcionar à produção em escala industrial.



REFERÊNCIAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas técnicas. NBR ISO 13299: Análise sensorial — Metodologia — Orientação geral para o estabelecimento de um perfil sensorial. 1 ed. Rio de Janeiro: ABNT NBR ISO 13299, 2017.

ABNT – Associação Brasileira de Normas técnicas . NBR ISO 4121: Análise sensorial – Guia geral para o uso de escalas de respostas quantitativas. 1 ed. Rio de Janeiro: ABNT NBR ISO 4121, 2018.
ANDERSON, A. B.; GELY, A.; STRUDWICK, J.; SOBEL, G.L.; PINTO, M.G.C. Um sistema agroflorestal na várzea do estuário amazônico (Ilha das Onças, Município de Barcarena, Estado do Pará). *Acta Amazônica*, Manaus, v.15, n.1 /2, p.195- 224, mar./jun. 1985. Suplemento. Doi: <https://doi.org/10.1590/1809-43921985155224>.

BECCHI, L. L.; MÜLLER, T.; BERGAMASCHI, L. L.; HEIDRICH, D.; DA SILVA, G. L.; MACIEL, M. J. Desenvolvimento e Caracterização de Kombucha Produzida com Ingredientes Orgânicos e Convencionais. *Revista Contexto & Saúde*, v. 23, n. 47, p. e14018, 2023. Doi: <https://doi.org/10.21527/2176-7114.2023.47.14018>.

BEZERRA, V. S.; NERY, M. V. S.; LOBATO, M. S. A. O açaí como alimento e sua importância socioeconômica no Amapá - Macapá: Embrapa Amapá, 2001. 16p. (Embrapa Amapá. Documentos, 32).

BOBBIO, F. O.; DRUZIAN, J. I.; ABRÃO, P. A. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açaizeiro (*Euterpe oleracea*) Mart. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 20, n. 3, p. 388-390, 2000. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612000000300018>.

BOKULICH, N. A.; BAMFORTH, C. W. The microbiology of malting and brewing. *Microbiol Mol Biol Rev.*; v. 77, n. 2, p.157-72, 2013. Doi: 10.1128/MMBR.00060-12.

BRASIL. Técnica de coloração de Gram. - Brasília: Ministério da Saúde, Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS. 1997. 63p. : il. (Série TELELAB). Disponível em: https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/0107tecnica_gram.pdf. Acesso em: 26.08.2025.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 8: Detecção e identificação de fungos de importância médica /Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: Anvisa, 2013. 46p.: il.9 volumes.

CAIXETA, D. S.; SCARPA, T. H.; BRUGNERA, D.; FREIRE, D. O.; ALVES, E.; DE ABREU, L. R.; PICCOLI, R. H. Chemical sanitizers to control biofilms formed by two *Pseudomonas* species on stainless steel surface. *Food Science and Technology*, v. 32, p. 142-150, 2012. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612012005000008>.

CEDRIM, P. C. A. S.; BARROS, E. M. A.; NASCIMENTO, T. G. do. Propriedades antioxidantes do açaí (*Euterpe oleracea*) na síndrome metabólica. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 21, p. e2017092, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.09217>.

CHAWLA, P. R.; BAJAJ, I. B.; SURVASE, S. A.; SINGHAL, R. S. Microbial Cellulose: Fermentative Production and Applications. *Rev. Food Technology and Biotechnology*, v. 47, n. 2, p. 107-124, 2009. ISSN 1330-9862



CIVILLE, G. V.; OFTEDAL, K. N. Sensory evaluation techniques — Make “good for you” taste “good”. *Physiology & Behavior*, [S.L.], v. 107, n. 4, p. 598-605, 2012. Doi:10.1016/j.physbeh.2012.04.015.

COSTA, P. Z. R. da; BIZ, P. *Cultivando Materiais : O uso da Celulose Bacteriana no Design de Produtos*. Rio de Janeiro (RJ) PPDESDI, 2018.

COSTERTON, J. W.; STEWART, P. S.; GREENBERG, E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, v. 284, n. 5418, p. 1318-22, 1999. Doi: 10.1126/science.284.5418.1318.

CRUZ, R.; S. Obtenção de SCOBY de celulose bacteriana a partir de subprodutos de frutas e aplicação em smoothie. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2023, 81 f.: il.

CZAJA, W.; KRYSZYNOWICZ, A.; BIELECKI, S.; BROWN, R. M. Microbial cellulose — the natural power to heal wounds. *Biomaterials*, v. 27 n. 2, p. 145-151, 2006. Doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.07.035.

DAIROU, V.; SIEFFERMANN, J. M. A comparison of 14 jams characterized by conventional profile and a quick original method, the Flash Profile. *Journal of Food Science*, v. 67, n. 2, p. 826-834, 2002. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10685.x>.

DALLA COSTA, K. A.; FERENZ, M.; SILVEIRA, S. M.; MILLEZI, A. F. Formação de biofilmes bacterianos em diferentes superfícies de indústrias de alimentos. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 71, n. 2, p. 75-82, 2016. DOI: 10.14295/2238-6416.v71i2.512.

DAVEY, M. E.; O'TOOLE, G. A. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiology and molecular biology reviews*, v. 64, n. 4, p. 847-867, 2000. DOI: 10.1128/MMBR.64.4.847-867.2000.

DE SOUZA, S. F.; CRISTAL, J. L.; MORAES, J. N.; ALMEIDA, E. R.; CORREA, E. A. Ensaios para produção de biofilme a partir de cultura simbiótica de bactérias e leveduras—Scoby em *Euterpe oleracea* Mart.(AÇAÍ). *OBSERVATÓRIO DE LA ECONOMÍA LATINOAMERICANA*, v. 21, n. 10, p. 16936-16946, 2023. DOI: <https://doi.org/10.55905/oelv21n10-131>.

DONINI, Í. A. N.; DE SALVI, D. T. B.; FUKUMOTO, F. K.; LUSTRI, W. R.; BARUD, H. da S.; MARCHETTO, R.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S. J. L. Biossíntese e recentes avanços na produção de celulose bacteriana. *Eclética Química*, [S. l.], v. 4, n.4, p. 165–178, 2010. DOI: 10.26850/1678-4618eqj.v35.4.2010.p165-178.

FLEMMING, H. C.; WINGENDER, J.; GRIEBE, T.; MAYER, C. "Physico-Chemical Properties of Biofilms". In Evans, L. V. (ed.). *Biofilms: Recent Advances in their Study and Control*. CRC Press. 2000, p. 20. ISBN 978-9058230935.

FULAZ, S.; VITALE, S.; QUINN, L.; CASEY, E. Nanoparticle-Biofilm Interactions: The Role of the EPS Matrix. *Trends Microbiol.* v. 27; n. 11, p. 915-926, 2019. Doi: 10.1016/j.tim.2019.07.004.

HALL-STOODLEY, L.; COSTERTON, J.; STOODLEY, P. Bacterial Biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology*, v. 2, p. 95-108, 2004. Doi: <https://doi.org/10.1038/nrmicro821>.



- HALL-STOODLEY, L.; STOODLEY, P. Biofilm formation and dispersal and the transmission of human pathogens. *Trends in Microbiology*, v.13, 2005. Doi: 10.1016/j.tim.2004.11.004.
- HARRISON, K.; CURTIN, C. Microbial Composition of SCOBY Starter Cultures Used by Commercial Kombucha Brewers in North America. *Microorganisms*, v. 9, n. 5, p. 1060, 2021. Doi: 10.3390/microorganisms9051060.
- HEREDIA, F. J.; FRANCISCA-ARICHA, E. M.; RIVAS-GONZALOS, J. C.; VICARIO, I. M.; SANTOS-BUELGA, C. Chromatic characterization of anthocyanins from red grapes-I. PH effect, *Food Chemistry*, v. 63, n. 4, p. 491-498, 1998. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00051-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00051-X).
- HOUDT, R. V.; MICHIELS, C. W. Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. *Journal of Applied Microbiology*, v. 109, n. 4, 2010. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2010.04756.x
- JAYABALAN, R.; MALBAŠA, R. V.; LONČAR, E. S.; VITAS, J. S.; SATHISHKUMAR, M. 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. 2, p. 538-550, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>.
- KARGARZADEH, H.; MARIANO, M.; HUANG, J.; LIN, N.; AHMAD, I.; DUFRESNE, A.; THOMAS, S. Recent Developments on Nanocellulose Reinforced Polymer Nanocomposites: A Review. *Polymer*, v. 132, p. 368-393, 2017. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2017.09.043>.
- KESHK, S. M. A. S. Bacterial cellulose production and its industrial applications. *J Bioprocess Biotech*, v. 4, n. 2, p. 150, 2014a. Doi:10.4172/2155-9821.1000.150.
- KESHK, S. M. A. S. Vitamin C enhances bacterial cellulose production in *Gluconacetobacter xylinus*. *Carbohydrate Polymers*, v. 99, p. 98-100, 2014b. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.08.060.
- LAUREYS, D.; BRITTON, S. J.; CLIPPELEER, J. Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, v. 78, n. 3, p. 165-174, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1734150>.
- LEE, K. Y.; BULDUM, G.; MANTALARIS, A.; BISMARCK, A. More than meets the eye in bacterial cellulose: Biosynthesis, bioprocessing, and applications in advanced fiber composites. *Macromolecular Bioscience*, v. 14, n. 1, p. 10-32, 2014. Doi: 10.1002/mabi.201300298.
- LEWIS, K. Persister Cells and the Riddle of Biofilm Survival. *Biochemistry*, v. 70, n. 2, p. 267-274, 2005. Doi: 10.1007/s10541-005-0111-6.
- MAIA, Y. L. M.; CORREIA, M. L. S.; NETO, J. V. S.; CASTRO, B. N. Kombucha: características e aspectos biológicos. *Revista Referências em Saúde do Centro Universitário Estácio de Goiás - RRS-FESGO*, v. 3, n. 01, p. 114-123, 2020. Recuperado de <https://estacio.periodicoscientificos.com.br/index.php/rrsfesgo/article/view/208>.
- MARIANO CUNHA, A. M.; PEREIRA DOS SANTOS, V. C. & SCHNEIDER, L. C. Avaliação de Desenvolvimento de Cultura Simbiótica de Bactérias e Leveduras Ativas (Scoby) em Kombucha com Diferentes Fontes de Cafeína. *Revista Brasileira de Agrotecnologia*, v. 11, n. 2, p. 145–151, 2021. Doi: <https://doi.org/10.18378/REBAGRO.V12I2.8969>.



MARQUES, M. J.; BEZERRA, C.; TOMAZ, J.; LOPES, R.; WREGGE, M. S.; AGUIAR, A.V. de; RAMOS, S.; MENESES, C. H.; FRAXE, T. de J.; LOPES, M. T. Predição da distribuição geográfica das palmeiras *Euterpe precatoria* e *Euterpe oleracea* (Arecaceae), 2024.

In: SIMPÓSIO DE MUDANÇA CLIMÁTICA E CONSERVAÇÃO DE RECURSOS GENÉTICOS NA AMAZÔNIA, 2024, Manaus. Anais... Manaus: UFAM, 2024. Disponível em:

<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1164209/1/805559.pdf>. Acesso em 05/02/2025.

NASCIMENTO, H. A. Produção de biopolímero de celulose bacteriana aditivado com antioxidante natural (2022) - Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, 2022. Disponível em:

<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/46531>. Acesso em: 18.07.2025.

RODRIGUES, R. S.; MACHADO, M. R. G.; BARBOZA, G. G. R.; SOARES, L. S.; T. HEBERLE, T.; LEIVAS, Y. M. Características Físicas e Químicas de Kombucha á Base de Chá De Hibisco (*Hibiscus sabdariffa*, L.). 6º Simpósio de Segurança Alimentar, Rio Grande do Sul, 2018. Disponível em: https://www.schenautomacao.com.br/ssa/envio/files/83_arqnovo.pdf. Acesso em: 18.07.25.

ROGEZ, H. Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação. Belém: EDUFPA, 2000. 313 p. ISBN: 85-24702-02-08.

SANTOS, M. J. dos. Kombucha: Caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração. 2016. 119f. Dissertação (Mestrado em Ciências Gastronômicas) - Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2016.

SARTOR, S.; LIMA, C.M.G.; BENEDITO, L.Z.; CAETANO, D.; NORA, F.M.D.; et al. Testes Descritivos. Análise Sensorial Clássica: Fundamentos e Métodos, Canoas: Mérida Publishers. p. 87-117, 2021. Doi:10.4322/mp.978-65-994457-0- 5.c4

SILVA, D. P.; STAMFORD, T.; SOUZA, F.; MACHADO, E.; STAMFORD, T. Kombuchá: do “chá da imortalidade” a produção de celulose bacteriana. In: Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos – v. 4. Editora Científica Digital, 2021. p. 74-87. Doi: 10.37885/210303499.

SCOLFORO, C. Z. Caracterização físico-química, perfil sensorial e aceitação de morangos submetidos à irradiação. 2014. 137 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES, 2014.

SHREE, P.; SINGH, C. K.; SODHI, K. K.; SURYA, J. N.; SINGH, D. K. Biofilms: Understanding the structure and contribution towards bacterial resistance in antibiotics, *Medicine in Microecology*, v. 16, 2023. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.medmic.2023.100084>.

SILVIA, R. C. S. N.; MININ, V. P. R.; SIMIQUELI, A.; MORAES, L. E. S.; GOMIDE, A. I.; MINI, A. Optimized Descriptive Profile: A rapid methodology for sensory description. *Food Quality and Preference*, v. 24, n. 1, p. 190-200, 2012. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2011.10.014>.

STONE, H.; BLEIBAUM, R.N.; THOMAS, H.A.; Sensory evaluation practices. Academic press, 2020. 5. ed. p. 480.



ULLAH, H.; SANTOS, H. A.; KHAN, T. Applications of bacterial cellulose in food, cosmetics and drug delivery. *Cellulose*, v. 23, n. 4, p. 2291-2314, 2016. Doi: 10.1007/s10570-016-0986-y.

VARGAS, V.; SALDARRIAGA, S.; SÁNCHEZ, F. S.; CUELLAR, L. N.; PALADINES, G. M. Effects of the spray-drying process using maltodextrin on bioactive compounds and antioxidant activity of the pulp of the tropical fruit açai (*Euterpe oleracea* Mart.). *Heliyon*, v. 10, n. 13, e33544, 2024. Doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e33544.

VILLARREAL-SOTO, S. A.; BEAUFORT, S.; BOUAJILA, J.; SOUCHARD, J. P.; TAILLANDIER, P. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. *J Food Sci.*, v. 83, n. 3, p.580-588, 2018. Doi: 10.1111/1750-3841.14068.

ZHAO, A.; SUN, J.; LIU, Y. Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, v. 13, p. 1137947, 2023. Doi: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1137947>.

