

**LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
VETERINARIJOS AKADEMIJA**

Veterinarijos fakultetas

Marija Vaišvilaitė

**Fermentuoto arbatos gėrimo cheminių ir fizikinių
parametrų dinamika gamybos laikotarpiu**

**Dynamics of chemical and physical parameters of a fermented tea
beverage during the production period**

Maisto mokslo nuolatinių studijų

BAKALAURO BAIGIAMASIS DARBAS

Darbo vadovas: Doc. dr. Simona Sutkuvienė

Kaunas, 2023

**DARBAS ATLIKTAS BIOCHEMIJOS KATEDROJE
PATVIRTINIMAS APIE ATLIKTO DARBO SAVARANKIŠKUMĄ**

Patvirtinu, kad įteikiamas bakalauro baigiamasis darbas „Fermentuoto arbatos gėrimo cheminių ir fizikinių parametrų dinamika gamybos laikotarpiu“.

1. Yra atliktas mano paties (pačios).
2. Nebuvo naudotas kitame universitete Lietuvoje ir užsienyje.
3. Nenaudojau šaltinių, kurie nėra nurodyti darbe, ir pateikiu visą naudotos literatūros sąrašą.

2023.12.13

(data)

Marija Vaišvilaitė

(autorius vardas, pavardė)



(parašas)

**PATVIRTINIMAS APIE ATSAKOMYBĘ UŽ LIETUVIŲ KALBOS
TAISYKLINGUMĄ ATLIKTAME DARBE**

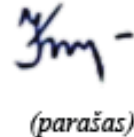
Patvirtinu lietuvių kalbos taisyklingumą atliktame darbe.

2023.12.05

(data)

Inga Čingienė

(redaktoriaus vardas, pavardė)



(parašas)

BAKALAURO BAIGIAMOJO DARBO VADOVO IŠVADA DĖL DARBO GYNIMO

2023.12.13

(data)

Doc. dr. Simona Sutkuvienė

*(darbo vadovo pedagoginis vardas,
mokslo laipsnis, vardas, pavardė)*



(parašas)

BAKALAURO BAIGIAMASIS DARBAS APROBUOTAS KATEDROJE

(aprobacijos data)

*(katedros (instituto) vedėjo (-os)
vardas, pavardė)*

(parašas)

Bakalauro baigiamojo darbo recenzentas (-ė)

1)

(vardas, pavardė)

(parašai)

Bakalauro baigiamųjų darbų gynimo komisijos įvertinimas:

(data)

(gynimo komisijos sekretorės (-iaus) vardas, pavardė)

(parašas)

TURINYS

SANTRAUKA.....	6
SUMMARY.....	7
SANTRUMPOS.....	8
ĮVADAS.....	9
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	11
1.1. Fermentuotos arbatos gėrimo kilmė.....	11
1.2. Kombučos gamyba.....	12
1.2.1. Kombučoje naudojami substratai.....	12
1.2.2. Simbiotinė bakterijų ir mielių kultūra.....	13
1.2.3. Fermentacija.....	13
1.3. Kombučos cheminės ir fizikinės savybės.....	15
1.4. Kombučos nauda sveikatai.....	17
1.4.1. Antimikrobinės savybės.....	18
1.4.2. Antioksidacinis poveikis.....	19
1.4.3. Priešvėžinės savybės.....	19
1.5. Kombučoje naudojamų komponentų nauda sveikatai.....	19
2. TYRIMŲ MEDŽIAGOS IR METODAI.....	21
2.1. Tyrimų atlikimo vieta.....	21
2.2. Tyrimų schema.....	21
2.3. Tyrimų objektai ir sąlygos.....	21
2.4. Aparatūra ir priemonės.....	22
2.5. Medžiagos ir reagentai.....	23
2.6. Duomenų statistinė analizė.....	23
2.7. Metodika.....	23

3. TYRIMO REZULTATAI.....	26
3.1. Aktyviojo rūgštingumo pokyčiai tyrimo laikotarpiu.....	26
3.2. Titruojamo rūgštingumo rezultatai.....	27
3.3. Bendrojo fenolinių junginių kiekio rezultatai.....	28
3.4. Antioksidacinio aktyvumo rezultatai.....	29
3.5. Tirpių sausųjų medžiagų kiekio rezultatai.....	30
3.6. Kombučos juslinė analizė.....	31
4. REZULTATŲ APTARIMAS.....	33
4.1. pH ir acto rūgšties rezultatų palyginimas.....	33
4.2. Bendro fenolinių junginių kiekio rezultatų palyginimas.....	33
4.3. Antioksidacinio aktyvumo rezultatų palyginimas.....	34
4.4. Tirpių sausųjų medžiagų rezultatų aptarimas.....	34
4.5. Juslinės analizės rezultatų aptarimas.....	35
IŠVADOS.....	36
REKOMENDACIJOS.....	37
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	38

SANTRAUKA

„Fermentuoto arbatos gėrimo cheminių ir fizikinių parametrų dinamika gamybos laikotarpiu“

Marija Vaišvilaitė

Bakalauro baigiamasis darbas

Darbo objektas: kombučos arbatos gėrimas

Darbo tikslas - Atlikti fermentuoto arbatos gėrimo fizikinių ir cheminių rodiklių analizę gamybos laikotarpiu skirtinguose bandiniuose.

2022 – 2023 m. laikotarpiu Lietuvos sveikatos mokslų universitete, Veterinarijos akademijoje, Biochemijos katedroje buvo atlikti kombučos arbatų, naudojant skirtingus substratus, tyrimai. Buvo pagamintas kombučos gėrimas, naudojant juodąją, žaliąją, Ulongo, žaliąją su kaktusų žiedais ir mėlynąją „Galaxy“ arbatas. Kombuča fermentuota 9 paras, tyrimai atlikti 1-ą, 3-ą, 6-ą ir 9-ą dienomis. Buvo tiriama ir analizuojama kombučos pH, titruojamasis rūgštingumas, bendras fenolinių junginių kiekis, antioksidacinis aktyvumas, tirpios sausosios medžiagos ir devintą fermentacijos dieną buvo atlikta juslinė analizė.

Rezultatai ir išvados:

Tyrimų rezultatai parodė, kad kombučos cheminiams ir fizikiniams parametrams turėjo įtakos pasirinkti komponentai ir fermentacijos laikas. Fermentacijos laikotarpiu gėrimo pH reikšmingai sumažėjo, o acto rūgšties kiekis padidėjo, dėl susidariusių organinių rūgščių proceso metu. Analizuojant bendrą fenolinių junginių kiekį pastebėta, kad juodojoje, žaliojoje, Ulongo ir žaliojoje su kaktusų žiedais arbatose per fermentacijos dienas šių junginių kiekis didėjo. Ulongo arbatoje tyrimo laikotarpiu nustatytas didžiausias fenolinių junginių kiekis. Mėlynoji „Galaxy“ arbata visą fermentacijos laiką turėjo mažiausią šių junginių kiekį, dėl savo sudedamųjų dalių. Kombučos antioksidacinis aktyvumas pakito skirtingai, tam įtakos turėjo skirtingi substratai ir fermentacijos laikas. Pirmą dieną nustatytas didžiausias, kombučos iš žaliosios arbatos su kaktusų žiedais, antioksidacinis aktyvumas, tačiau kombuča su Ulongo arbata pasižymėjo kaip labiausiai tinkama vartoti, dėl savo rezultatų 9-tą parą. Tirpių sausųjų medžiagų kiekis sumažėjo visose tirtose arbatose. Geriausiomis juslinėmis savybėmis pasižymėjo mėlynoji „Galaxy“ arbata, surinkusi daugiausia balų.

Raktažodžiai: kombuča, fermentacija, arbata, *Camellia sinensis*, mėlynoji „Galaxy“ arbata, cheminės savybės, fizikinės savybės, juslinė analizė.

SUMMARY

„Dynamics of chemical and physical parameters of a fermented tea beverage during the production period”

Marija Vaišvilaitė

Bachelor's Thesis

Object of the work: kombucha fermented tea drink

The aim of this work is to analyse the physicochemical parameters of a fermented tea beverage during the production period in different samples.

From 2022 to 2023, the Department of Biochemistry at the Lithuanian University of Health Sciences, Academy of Veterinary Sciences, conducted studies on kombucha teas using different substrates. Black, green, oolong, cactus blossom green and blue „Galaxy” teas were used to make kombucha. The kombucha was fermented for 9 days and tests are carried out on days 1, 3, 6 and 9. The pH, titratable acidity, total phenolic compounds, antioxidant activity, soluble solids and soluble solids of the kombucha were analysed and subjected to sensory analysis on the ninth day of fermentation.

Results and conclusions:

The results showed that the chemical and physical parameters of the kombucha were influenced by the choice of components and fermentation time. During the fermentation period, the pH of the beverage decreased significantly and the acetic acid content increased due to the production of organic acids. When analysing the total phenolic compounds, it was observed that the black, green and green with cactus flowers showed an increase in the content of these compounds during the fermentation days. Oolong tea was found to contain the highest levels of phenolic compounds during the study period. „Galaxy” blue tea had the lowest content of these compounds throughout the fermentation process due to its constituents. The antioxidant activity of kombucha varied in different ways, influenced by different substrates and fermentation times. Kombucha from green tea with cactus flowers had the highest antioxidant activity on the first day, but kombucha with oolong tea was the most suitable on the 9th day because of its results. The soluble solids content decreased in all the teas studied. The „Galaxy” blue tea had the best sensory qualities, scoring the highest.

Keywords: kombucha, fermentation, tea, *Camellia sinensis*, blue „Galaxy” tea, chemical properties, physical properties, sensory analysis.

SANTRUMPOS

UV - ultravioletinis

AAB – acto rūgšties bakterijos

LAB – pieno rūgšties bakterijos

pH – vandenilio potencialas

SCOBY – simbiotinė bakterijų ir mielių kultūra

EB - epikatechinas

EGC - epigallokatechinas

EKG - epikatechino galatas

EGCG - epigallokatechino galatas

NaOH – natrio šarmas

Na₂CO₃ – natrio karbonatas

GRE – galo rūgšties ekvivalentas

DPPH – 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo laisvasis radikalas

AA – antioksidacinis aktyvumas

BFJ – bendras fenoliniai junginių kiekis

AA_{DPPH} – 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo laisvojo radikalo antioksidacinis aktyvumas

pr. Kr – prieš Kristų

po Kr. – po Kristaus

JAV – Jungtinės Amerikos Valstijos

DSL - D-sacharido rūgštis-1,4-laktonas

ĮVADAS

Kombučos arbata yra fermentuotas gėrimas, pradėtas vartoti prieš tūkstančius metų Rytų Azijoje [1, 2]. Šiuo metu sparčiai populiarėjantis gaivusis gėrimas, primena obuolių sidrą. Šis gazuotas gėrimas pasižymi specifiniu rūgščiai saldžiu skoniu ir sveikatai naudingomis savybėmis, detoksikacinėmis, antioksidacinėmis ir antikancerogeninėmis, kurios gali atsirasti iš naudojamos arbatos rūšies arba iš fermentacijos proceso metu, mikroorganizmų gaminamų metabolitų [1, 28]. Nepriklausomai nuo rinkodaros kampanijų teikiamų teiginių, mokslinėje literatūroje dar vis trūksta pakankamai tyrimų, kad būtų visapusiškai įvertinti tokie teiginiai apie sveikatingumą [1].

Kombuča gaunama į saldžią arbatos terpę, įdėjus bakterijų ir mielių simbiotinės kultūros [3]. Mielės fermentuoja cukrų ir paverčia jį etanoliu, o bakterijos oksiduoja alkoholį ir gamina organines rūgštis. Acto ir kitos organinės rūgštys pasižymi antibakteriniu aktyvumu ir neleidžia patogeninėms bakterijoms paveikti kombučos [4, 6]. Fermentacijos laikotarpiu keičiasi kombučos gėrimo skonis: pirma jis būna malonus, juntama vaisių rūgštelė, po kelių dienų atsiranda švelnus acto skonis [2].

Kombučos gamybai pasirenkami įvairūs substratai, yra žinomos pagrindinės arbatos, kurios gaunamos iš *Camellia sinensis* arbatžolių, tai žalioji, Ulongo, juodoji, tačiau galima rinktis ir kitas arbatas. Juodoji arbata yra populiariausias arbatos substratas, o sacharozė labiausiai paplitęs anglies šaltinis fermentacijos metu [5]. Naudodamiesi arbatos lapeliuose esančiais fenoliniais junginiais, mikroorganizmai pagamina laisvuosius fenolius ir naudingus produktus, kurie gaunami vykstant fermentacijai. Įvairios organinės rūgštys, vitaminai, mineralai, taip pat prisideda ir prie gėrimo jausinių savybių. Šie biologiškai aktyvūs komponentai, daugiausia randami skystoje kombučos augimo terpėje [8].

Šiame tyrime buvo pasirinktos trys pagrindinės ir dvi arbatos su priedais: tai juodoji, žalioji, Ulongo, žalioji arbata su kaktusų žiedais, paruoštos iš *C. sinensis* arbatos lapelių ir mėlynoji „Galaxy“, kurioje naudojami mėlynieji *Clitoria ternatea* žirnių žiedai, moringa lapai ir įvairūs prieskoniai.

Darbo tikslas: Atlikti fermentuoto arbatos gėrimo fizikinių ir cheminių rodiklių analizę gamybos laikotarpiu skirtinguose bandiniuose.

Darbo uždaviniai:

1. Išanalizuoti mokslinėje literatūroje pateiktą informaciją, susijusią su fermentuotais arbatos produktais bei jų cheminėmis ir fizikinėmis savybėmis.

2. Nustatyti fermentuoto arbatos gėrimo aktyvų ir titruojamą rūgštingumus, bendrą fenolinių junginių kiekį ir antioksidacinį aktyvumą skirtinguose ėminiuose.
3. Įvertinti tirpias sausas medžiagas, susidarancias gėrimo gamybos laikotarpiu.
4. Atlikti pagaminto gėrimo juslinių savybių vertinimą.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Fermentuotos arbatos kilmė

Žodis „Kombuča“ yra kilęs iš dviejų japoniškų žodžių, tai „kombu“ – jūros dumblis ir „cha“ – arbata [1]. Šios arbatos detoksikuojančios ir energizuojančios savybės buvo įvertintos dar 220 m. pr. Kr. Vėliau ji išplito ir kituose Tolimųjų Rytų šalyse. 414 m. po Kr. Imperatoriaus Inkijo prašymu gydytojas Kombu atvežė arbatos grybą iš Korėjos į Japoniją, kad būtų gydomi virškinimo sutrikimai [11, 13]. Yra manoma, kad nuo Tsin dinastijos laikų Mandžiūrijoje kombuča prekybos keliais, kurie driekėsi už Tolimųjų Rytų ribų, keliavo į Rusiją ir Rytų Europą [9]. Kombučos arbata išpopuliarėjo ir Rusijoje, nes padėdavo gydant medžiagų apykaitos ligas, hemorojų ir reumatą. Čia ją atvežė Rytų pirkliai ir buvo vadinama „Arbatos rūgpieniu“ [4, 11, 13]. Pirmasis įrašas apie kombučą iš Rusijos atsirado XIX a. pabaigoje. Pirmojo pasaulinio karo metais ši arbata pradėjo plisti ir į kitas šalis per rusų ir vokiečių belaisvius, taip XIX-XX a. ji paplito Europoje [9, 13]. Vokietijoje XX a. trečiajame dešimtmetyje kombuča išpopuliarėjo kaip naminė liaudies medicinos priemonė [9]. Vėliau iš Vokietijos pradėjo plisti ir į Vakarų Europos šalis, pavyzdžiui, Italiją, Prancūziją ir jų kolonijines šalis Šiaurės Afrikoje. Antrojo pasaulinio karo metais arbatos vartojimas sumažėjo, nes nebuvo daug galimybių įsigyti arbatos ir cukraus [9, 11].

Skirtinguose pasaulio regionuose šis gėrimas gaudavo vis kitokį pavadinimą, pavyzdžiui, „Mandžiūrijos grybų arbata“, „Arbatos grybas“, „Indiškas arbatos grybas“, „Mandžiūriškas grybas“, „Arbatos alus“ ir kiti [11]. Arbatos vartojimas imtas sieti su mitybos ir gyvenimo įpročiais, pradėjo didėti susidomėjimas funkciniais maisto produktais [13].

1995 m. Jungtinėse Amerikos Valstijose (JAV) buvo susirūpinta kombučos perdirbimo ir vartojimo saugumu, nes tradiciškai ji buvo platinama dalijantis kultūra su kitais. 2013 m. Numner paskelbė rizikos analizės ir perdirbimo reikalavimus, saugiai kombučos gamybai, pagal Maisto ir vaistų administracijos pavyzdinį maisto kodeksą (angl. Food and Drug Administration Model Food code) [9]. Per pastaruosius dešimtmečius fermentuotas arbatos gėrimas tapo labai populiarus, jo gamyba tapo pasaulinė ir dabar pardavinėjamas kaip komercinis įvairių skonių gėrimas [5]. 2016 m. „PepsiCo“ įsigijo populiarių funkcinį probiotikų ir kombučos gėrimų gamintoją „KeVita“, taip pripažindami augantį gėrimo populiarumą. 2017 m. net 37,4 proc. išaugo kombučos ir kitų fermentuotų gėrimų pardavimai [10]. Šiuo metu kombučos gėrimas yra vienas iš labiausiai populiarėjančių funkcinį gėrimų rinkoje, kuris turi mažą kiekį alkoholio [10, 11].

1.2. Kombučos gamyba

1.2.1. Kombučoje naudojami substratai

Kombuča iš senų laikų yra ruošama iš juodosios arba žaliosios arbatos, cukraus ir celiuliozinės bioplėvelės [2, 15]. Šią fermentuotą arbatą galima gaminti ir iš kitų substratų, pavyzdžiui, vaisių sulčių, arbatų su skonių priedais ir kt.. Kiekvienas substratas suteikia maistinę naudą ir prisideda prie sveikatos gerinimo, tai priklauso nuo komponento savybių [2, 32].

Pagrindinės naudojamos arbatos gaunamos iš *Camellia sinensis* augalo lapų, jas skiria tik apdorojimo procesai (1 pav.) [2]. Juodoji arbata gaunama iš brandintų lapų, kurie susmulkinami, paliekami veikti drėgmės ir toliau fermentuojami. Katechinų oksidacijos proceso metu susidaro teaflavinai ir tearubiginai, tai pagrindiniai polifenoliniai junginiai, esantys juodojoje arbatoje. Gaminant žaliąją arbatą, naudojami švieži augalo lapai, kurie prieš džiovinimą yra veikiami garais, taip karštis inaktyvuoja fermentus, neleidžiančius oksiduotis. Kadangi žaliosios arbatos gamybai naudojami švieži augalo lapai, joje yra išsaugomas didesnis polifenolių kiekis, didesnė katechinų ir funkcinį aktyvumą turinčių junginių koncentracija, palyginti su kitomis iš *C. sinensis* gaminamomis arbatomis (Cardoso ir kt., 2020 m.). Ulongo arbata gaminama džiovinant saulėje ir iš dalies oksiduojant (10-70 proc.) šviežius *C. sinensis* arbatos lapus [2, 15]. Oksidacijos procesas sukelia lapų pokyčius, kurie turi įtakos arbatos spalvai, skoniui ir aromatui [15]. Visose šiose arbatose yra polifenolinių aminorūgščių, kofeino, lakiųjų junginių ir mineralinių medžiagų [2].

Kaip pagrindinis anglies šaltinis yra naudojama 5-20% koncentracijos sacharozė. Ji yra terpė ir maistinės medžiagos, reikalingos mikroorganizmams vystytis. SCOBY arba ankstesnės koncentracijos skystis yra naudojamas kaip fermentacijos pradinė kultūra [7].



1 pav. *Camellia sinensis* augalas.

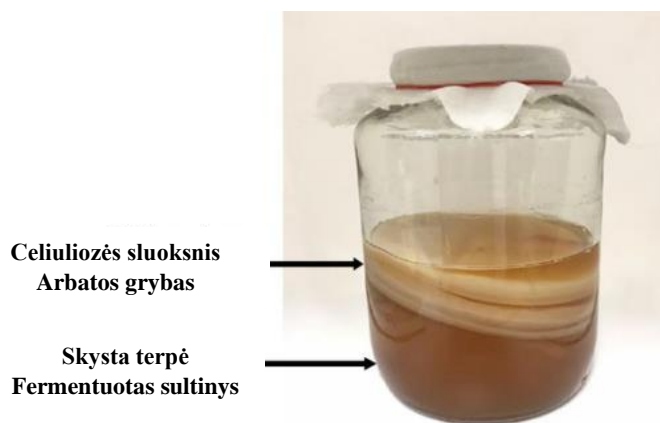
Šaltinis: <https://www.healthline.com/nutrition/camellia-sinensis-leaf-extract>

1.2.2. Simbiotinė bakterijų ir mielių kultūra

Simbiotinė bakterijų ir mielių kultūra, sutrumpintai vadinama SCOBY (2 pav.). Tai bioplėvelė, gauta iš simbiozės tarp mielių ir acto bakterijų, kuri dar gali būti vadinama arbatos grybu. Acto rūgšties bakterijos, daugiausia *Acetobacter xylinum*, panaudodamos sacharozę kaip anglies šaltinį, arbatoje gamina celiuliozės tinklą kaip antrinę fermentacijos metabolitą. Simbiotinė bakterijų ir mielių masė prilimpa prie bioplėvelės, sudarydama storą drebučių pavidalo membraną. Mikroorganizmų bioplėvelė išlieka plūduriuojanti arbatos paviršiuje, išvaizda panaši į grybo kepurėlę (3 pav.) [7, 32, 35]. Šis grybas auga pasaldintoje ir atvėsintoje arbatoje ir sudaro celiuliozinę plėvelę [2]. Arbatos grybas kitaip dar vadinamas „kombučos motina“, nes iš jo susidaro gėrimas bei naujos storesnės membranos, kitaip dar vadinamos „dukterinėmis“ plėvelėmis, jų augimą skatina bakterijų ir mielių konsorciumas. Jos susidarydamos įgauna formą ir sustiprina simbiotinį bakterijų ir mielių poveikį [2, 7]. Plėvelės formuojasi sluoksniais, naujausia yra arčiausiai paviršiaus [2]. Dukterinis arbatos grybas gali užaugti iki 2 cm storio ir uždengti motininio arbatos grybo paviršių, tam, kad geriau pasiektų deguonį [5]. Celiuliozės membrana laiko mikroorganizmus arbatos paviršiuje, taip užtikrindama pakankamą deguonies kiekį, reikalingą jų vystymuisi, apsaugo mikroorganizmus nuo ultravioletinių spindulių (UV), leidžia išlaikyti drėgmę ir neleidžia dehidratuoti [7, 15, 39]. Pagrindinė SCOBY funkcija yra atlikti fermentaciją [2, 37].



2 pav. Arbatos grybas.



3 pav. Kombučos arbata [8].

1.2.3. Fermentacija

Fermentacija, kaip maisto konservavimo būdas yra vienas iš seniausių [3]. Kombuča fermentuojama iš arbatos ir cukraus, naudojant simbiotinę bakterijų ir mielių kultūrą [5]. Kombučos arbata yra gaunama iš simbiotinės acto rūgšties bakterijų (AAB), pieno rūgšties bakterijų (LAB) ir mielių saldžioje terpėje, dažniausiai juodojoje arbatoje [3]. Šioje arbatoje

dominuoja acto rūgšties bakterijų *Komagataeibacter*, *Gluconobacter* ir *Acetobacter* rūšys, pieno rūgšties bakterijos *Lactobacillus*, *Lactococcus*, taip pat ir mielės *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces ludwigii*, *Kloeckera apiculata*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Torulaspora delbrueckii*, *Brettanomyces bruxellensis* [3, 32].

Kombučoje randama įvairių mielių rūšių, iš jų yra gaunamas fermentas invertazė [7]. Šis fermentas katalizuoja sacharozės hidrolizę į fruktozę ir gliukozę, glikolizės keliu gamindamos etanolį. *Gluconobacter* ir *Acetobacter* bakterijos gliukono rūgšties gamybai panaudoja gliukozę, o su alkoholio dehidrogenazės ir aldehido dehidrogenazės fermentais iš etanolio oksidacijos, gamina acto rūgštį [7, 15, 40]. Pasibaigus procesui, kaip galutiniai produktai randami vanduo ir anglies dioksidas, jie taip pat geba gliukozę paversti į gliukono ir gliukurono rūgštis [15, 32, 40].

Literatūroje yra pateikiamos skirtingos sąlygos dėl naudojamos temperatūros ir fermentacijos laiko. Jayabalan ir kt. 2016 m. nurodė, kad naudojant 20-22°C temperatūrą, fermentacija gali vykti 7-10 dienų ar net ilgiau, priklausoma nuo norimo rezultato [13]. Watawana ir kt. 2015 m. teigia, kad fermentacija gali vykti kambario temperatūroje nuo 3 iki 60 dienų, tai priklauso nuo pradinės kultūros [7, 13]. Tačiau, kuo ilgesnis fermentacijos laikas, tuo daugiau susidaro organinių rūgščių ir tai kelia riziką vartotojams. Taigi, fermentacijos laikas turi būti standartizuotas, kad būtų išgautas malonus skonis ir aromatas [13]. Taip pat yra svarbu kontroliuoti ir pH lygį, kai pasiekama 4,2 pH reiktų sustabdyti procesą, nes gali susidaryti per daug acto rūgšties ir gėrimas taps pavojingas vartojimui [7, 30].

Kombučos fermentacijai virintame vandenyje ištirpinama maždaug 50-150 g/l sacharozės, tada į karštą vandenį su cukrumi įdedama 5 g/l arbatžolių arba arbatos maišeliai ir paliekama brinkti maždaug 5-10 min., po to filtruojama, kad pašalinti arbatos lapelius. Arbata atvėsinama iki kambario temperatūros, apie 20°C. Kad būtų išvengta patogeninių ir gedimą sukeliančių mikroorganizmų, gamybos procesas vykdomas higieniškomis sąlygomis, įmaišant nedidelę dalį, apie 10-20 proc., anksčiau fermentuotos kombučos arbatos, kad būtų sumažintas pH. Atvėsinta arbata perpilama į sterilų indą, o arbatos grybas dedamas ant tirpalo paviršiaus. Pagal Santos (2016 m.), indas, kuriame vyksta kombučos fermentacija, turi būti uždengtas steriliu audiniu ir negali būti visiškai uždarytas, kad būtų kontaktas su oru ir būtų išvengta užteršimo vabzdžiais ir kryžminės taršos (4 pav.) [4, 7, 13]. Taip pat, inde reikia palikti vietos deguoniui. Bruschi ir kt. (2018 m.) rekomenduoja gamybai naudoti indus, kurie turi platų „kakliuką“, kad būtų kuo daugiau kontakto su oru ir būtų lengviau išimti arbatos grybą vėlesniam naudojimui. Kombučos gamybai tinkamiausi indai turi būti pagaminti iš stiklo arba nerūdijančio plieno, kad būtų išvengta korozijos.

Labai svarbu gaminant gėrimus yra indų ir aplinkos higiena, tam, kad būtų išvengta nepageidaujimų mikroorganizmų. Vienas iš maisto produktų saugos metodų yra pasterizuoti produktą, kad būtų išvengta alkoholio ir anglies dioksido pertekliaus. Tam reikia į gėrimą pridėti, kaip konservantus, 0,1 proc. natrio benzoato ir 0,1 proc. kalio sorbato ir išlaikyti kombučą šaltą [7, 13, 37].



4 pav. Kombučos arbata.

1.3. Kombučos cheminės ir fizikinės savybės

Kombučą sudaro organinės rūgštys, iš kurių daugiausia yra acto, gliukano ir gliukurono rūgštys, vitaminai, polifenoliniai ir fenoliniai junginiai, aminorūgštys, mineralai, anijonai ir kiti elementai (1 lentelė) [7, 32, 34]. Gliukurono rūgštis yra viena svarbiausių, nes ji yra mikrobiologinio gliukozės oksidacijos proceso rezultatas ir yra vienas vertingiausių ir sveikiausių kombučos komponentų. Ji pasižymi detoksikuojančiu poveikiu ir yra gaminama žmogaus organizme. Ši rūgštis geba jungtis su ksenobiotikais, įskaitant ir kepenyse esančius fenolius, todėl šias medžiagas inkstai išskiria veiksmingiau. Gliukurono rūgštis yra pirmtakas vitamino C biosintezėje. Žmogaus organizme ši rūgštis virsta gliukozaminu, kuris yra cheminis junginys, naudojamas osterartrito profilaktikai [6, 7, 32]. Acto rūgštis yra cheminis junginys, kuris atsakingas už rūgšties aromatą ir acto skonį kombučos arbatoje. Bakterijos naudoja cukrų ir etanolį, kaip anglies šaltinį, o kai pasibaigia jų atsargos, jos pradeda naudoti acto rūgštį [13, 34, 41]. Fermentuotos arbatos sudėtyje taip pat randama ir cukrų - sacharozės, gliukozės ir fruktozės, biogeninių aminių, purinų, lipidų, baltymų, hidrolizės fermentų, anglies dioksido, etanolio, anijonų, D-sacharido rūgštis-1,4-laktonas (DSL), mielių ir bakterijų medžiagų apykaitos produktų [7, 39].

Kombučoje dažniausiai polifenoliai yra epikatechinas (EB), epigallokatechinas (EGC), epikatechino galatas (EKG) ir epigallokatechino galatas (EGCG). Antioksidacinės polifenolių savybės duoda kombučai naudingų savybių, tokių kaip vėžio prevencija, mažina uždegimą ir artritą bei padeda stiprinti imunitetą [13, 36].

Fermentuota arbata yra siejama su dideliu antioksidaciniu potencialu, kurį lemia didelis fenolinių junginių kiekis. Šie junginiai dalyvauja neutralizuojant laisvuosius radikalus. Tai medžiagos, kurių perteklius gali sukelti reiškinį vadinamą „oksidaciniu stresu“, dėl kurio pažeidžiamos ląstelių struktūros. Šiame gėrime esantys biologiškai aktyvūs junginiai slopina kai kuriuos fermentus, tokius kaip α -amilazę ir α -gliukozidazę, taip pat, jie dalyvauja angliavandenių virškinime, todėl yra naudingi cukriniu diabetu sergantiems asmenims. Paruošimo būdas ir žaliavų kilmė daro didelę įtaką gėrimuose esančiam fenolinių junginių kiekiui, taip pat jų antioksidaciniam ir biologiškai aktyviam potencialui [12].

Gazuoto gėrimo skonis turi rūgštumo, kartais kartumo ir saldumo [7, 13, 41]. Bendras kombučos saldumas priklauso nuo nefermentuotos arbatos likusių cukrų koncentracijos matricoje. Organinės rūgštys duoda šiam gėrimui rūgštumo, tačiau jos taip pat sukuria nedidelį kartumo skonį. Polifenoliai, randami arbatoje, lemia arbatos kartumą, taip pat nuo jų priklauso ir šio gėrimo spalva. Kombučos arbata gali būti filtruota ir skaidri arba drumsta dėl suspenduotų kietųjų dalelių. Aromatui įtakos turi naudojami komponentai ir mikroorganizmai. Kaip ir minėta anksčiau, etanolio gamyba yra natūralus fermentacijos proceso produktas (Talebi ir kt., 2017 m.). Etanolis gali turėti įtakos bendram produkto aromatui. Jo kiekis įprastai šiame gėrime yra mažesnis nei 1 proc., todėl vartotojai ragaudami neturėtų jausti jokio etanolio skonio [29].

1 lentelė. Kombučos cheminė sudėtis [7].

Organinės rūgštys	Acto rūgštis	Gliukurono rūgštis	Vyno rūgštis
	Pieno rūgštis	Gliukono rūgštis	Malono rūgštis
	Citrinos rūgštis	Obuolių rūgštis	Piruvo rūgštis
	Gintaro rūgštis	Oksalo rūgštis	Usnino rūgštis
Vitaminai	Vitaminas B1	Vitaminas B2	Vitaminas C
	Vitaminas B6	Vitaminas B12	
Aminorūgštys	Izoleucinas	Leucinas	Asparto r
	Lizinas	Metioninas	Glutamino r
	Fenilalaninas	Treoninas	Histidinas
	Valinas	Triptofanas	Serinas
	Alaninas	Argininas	Prolinas
	Cisteinas	Glicinas	Tirozinas
Mineralai	Geležis	Varis	Cinkas
	Manganas	Nikelis	
Anijonai	Fluoras	Chloras	Sulfatas
	Bromas	Jodas	Fosfatas
	Nitratas		
Polifenoliniai ir fenoliniai junginiai	Katecinas	Kalokatechinas	Epikatechinas
	Katechino galatas	Epigalokatechinas	Epigalokatechino galatas
	Galo rūgštis	Rutinas	Kofeinas
	P kumaro rūgštis		
Kiti elementai	Anglies dioksidas	Etanolis	

1.4. Kombučos nauda sveikatai

Kombuča yra gėrimas, kuriame gausu biologiškai aktyvių medžiagų, ypač fenolinių junginių. Jie sudaro pagrindinę kombučoje esančių antioksidantų grupę ir manoma, kad yra atsakingi už gėrimo naudą sveikatai [15, 36]. Gėrimo cheminės sudedamosios dalys dažniausiai nurodomos tyrimuose, kuriuose atliekami *in vitro* arba *in vivo* bandymai [16].

Visame pasaulyje yra teigiama, kad kombučos arbata turi didelį teigiamą poveikį žmogaus sveikatai, bet didžioji dalis naudingų savybių buvo iširtos tik eksperimentiniuose modeliuose, todėl trūksta mokslinių įrodymų, pagrįstų eksperimentais atliktais su žmonėmis. Ne su žmonėmis

atlikti tyrimai parodė antimikrobines, antioksidacines, hepatoprotekcines ir priešvėžines kombučos savybes [14].

Dufresne ir Farnworh (2000 m.) pateikė kombučos naudingąsias savybes, kurias detoksikuoja kraują, dėl ląstelių sienelių vykstančios regeneracijos mažina aterosklerozę. Padeda mažinti kraujospūdį, uždegimus ir cholesterolio kiekį. Palengvina astmą, bronchitą, bei artrito ir reumato simptomus, gerina žarnyno veiklą. Reguliuoja apetitą ir mažina nutukimą. Užkerta kelią šlapimo pūslės infekcijoms bei vėžinėms ląstelėms. Taip pat, fermentuotos arbatos savybės pasižymi ir antibiotiniu poveikiu bakterijoms, virusams, imuninės sistemos gerinimu. Sumažina menstruacijų ciklo sutrikimus bei karščiavimą menopauzės metu. Be to, gali padėti sumažinti stresą, kovoti su nemiga ir malšinti galvos skausmą [13]. Teigiama, kad kombuča yra naudinga sveikatai, dėl joje esančių mikroorganizmų ir probiotinio poveikio. Tai reiškia antidiabetinis, antikancerogeninis poveikis, skrandžio opos gydymas ir padidėjusio cholesterolio kiekio mažinimas, priešuždegiminis ir antioksidacinis aktyvumas, kepenų, imuninės sistemos ir virškinamojo trakto funkcijų gerinimas [4].

Aloulou ir kiti (2012 m.) vertino α -amilazės fermento, kuris išskiriamas žarnyno epitelio ir yra būtinas angliavandeniams virškinti, slopinamąjį poveikį žiurkėms, kurios sirgo cukriniu diabetu. 30 dienų kasdien buvo duodama po 5 ml/kg kombučos ir juodosios arbatos. Rezultatai parodė, kad žiurkių, kurios gėrė kombučą fermentas α -amilazė, kasoje ir plazmoje bei gliukozė, po valgio didėjo, palyginti su žiurkėmis, kurios gėrė juodąją arbatą. Buvo vertinami ne tik gliukozės apykaitos sutrikimai, bet ir kasos, plazmos fermentiniai pokyčiai [7].

1.4.1. Antimikrobinės savybės

Remiantis Battikh ir kt. (2012 m.) yra atlikta keletas tyrimų, kurie įrodo kombučos antimikrobinį aktyvumą prieš *Helicobacter pylori*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Bacillus cereus*, *Shigella sonnei*, *Salmonella enteritidis*, and *Escherichia coli*. Tyrimai parodė fermentuotos arbatos antimikrobinį veiksmingumą prieš gramteigiamas ir gramneigiamas patogenines bakterijas. Arbatos antimikrobinis aktyvumas labiausiai susijęs su organinėmis rūgštimis, ypač acto rūgštimi [13, 37].

Sreeramulu ir kt. (2000 m.) teigimu, kombučos antimikrobinės savybės susijusios ne tik su acto rūgštimi, kadangi esant neutraliam pH, gėrimas taip pat slopino *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Shigella sonnei*, *Campylobacter jejuni*, ir *Candida albicans* augimą. Autoriai pamini, kad baltymai nėra susiję su mikrobu aktyvumu, nes ir termiškai apdorotos arbatos, kai yra sukeliama baltymų denatūracija, pasižymi

antimikrobinu aktyvumu. Taip pat, autoriai nurodo, kad fenoliniai junginiai - katechinai, kurių gausiai randama arbatoje, neturi įtakos mikroorganizmų slopinimui, išskyrus *Campylobacter jejuni* [13].

1.4.2. Antioksidacinis poveikis

Daugelis teigiamų poveikių, kurie yra priskiriami kombučai, tokie kaip vėžio prevencija, imuniteto stiprinimas, uždegimo ir artrito mažinimas yra susiję su gėrimo antioksidaciniu poveikiu. Antioksidacinės savybės labiausiai siejamos su fermentacijos proceso metu susidariusiais polifenoliais ir įvairių junginių, kurie randami arbatoje, sinergetiniu poveikiu [13].

Remiantis Jayabalan ir kt. (2014 m.), kombuča savo antioksidaciniu aktyvumu yra pranašesnė už nefermentuotą arbatą, tai gali būti susiję su mažos molekulinės masės komponentų gamyba ir arbatoje esančių polifenolių struktūrinėmis modifikacijomis, kurias fermentacijos metu atlieka bakterijų ir mielių fermentai.

1.4.3. Priešvėžinės savybės

Kombučos arbatos priešvėžinės savybės yra susijusios su polifenoliais ir jų skilimo produktais, kurie susidaro fermentacijos metu (Jayabalan ir kt., 2014 m.).

Jayabalan ir kt. (2011 m.) ištyrė citotoksines ir antiinvazines kombučos frakcijų savybes, ekstrahuojant skirtingais tirpikliais, prieš trijų tipų žmogaus vėžines ląsteles, tai yra prieš plaučių karcinomą, osteosarkomą ir inkstų karcinomą. Buvo įrodyta, kad dimetilmilono 2- (2-hidroksi-2-metoksipropilidenas) ir viteksinas galimai yra junginiai, kurie atsakingi už kombučos priešvėžines savybes. Srihari ir kt. (2013 m.) įrodė liofilizuotos kombučos ekstrakto poveikį prostatos vėžio ląstelėms, nes pastebėta, kad jis sumažina molekulių veiklą, kurios skatina angiogenezę, kadangi reikia reguliuoti angiogenezę, nes per daug intensyvi, ji gali sukelti navikų augimą [13].

1.5. Kombučoje naudojamų komponentų nauda sveikatai

Kombučos arbatos buvo gamintos iš *Camellia sinensis* augalo arbatų. Šių arbatų vartojimas yra siejamas su teigiamu poveikiu dėl antioksidantų ir fenolinių junginių, kurie mažina ligų riziką [38]. *C. sinensis* arbatoje yra daug įvairių polifenolių, flavonolių, katechinų, katechino galatų, adenino, kofeino, teobromino, teofilino, galo rūgščių, taninų ir galotanino. Dėl tokių junginių šis gėrimas pasižymi didelėmis antioksidacinėmis savybėmis (Aboulwafa ir kt., 2019 m.) [15, 38]. Santos ir kt. 2018 m. teigė, kad katechinai ir taninai yra labiausiai paplitę polifenoliai. Šie junginiai

lemia arbatos gėrimų kartumą, aitrumą ir saldų skonį. Pasak Dutta ir Paul (2019 m.), kiti smulkūs *C. sinensis* arbatoje esantys junginiai, tokie kaip aminorūgštys, chloridai, oksidai, karotinoidai, lipidai ir lakieji junginiai, gali atlikti svarbų vaidmenį kuriant aromatą. Be antioksidacinio aktyvumo ir bioaktyvių junginių įvairovės, *C. sinensis* pasižymi ir kita nepaprasta nauda sveikatai, pavyzdžiui, antimikrobiniu, antineoplastiniu, kardioprotekciniu, antidiabetiniu ir antiobeziniu poveikiu (Aboulwafa ir kt., 2019 m.; Santos ir kt., 2018 m.).

Mėlynosios „Galaxy“ arbatos sudėtis skyrėsi, joje buvo *Clitoria ternatea* žirnių žiedai, moringa lapai ir kiti prieskoniniai suteikiantys skonį ir kvapą. *Clitoria ternatea* augalas neseniai sulaukė didelio susidomėjimo dėl savo naudingų savybių žmonių sveikatai. Šis augalas gali padėti sustiprinti atmintį, sumažinti stresą ir nerimo simptomus, veikia ir kaip antidepresantas, turi antispazminių ir atpalaiduojančių savybių [23].

C. ternatea žirnių žiedai yra naudojami daugelyje vaistažolių arbatų. Juose yra gausu antioksidantų, tai vitamino C ir fenolinių junginių (Rachel Ajmera 2021 m.). Antioksidantai suteikia mėlyną spalvą ir padeda užkirsti kelią ligoms, palaiko sveikas akis, smegenų funkcijas ir prisideda prie psichinės sveikatos gerinimo. Taip pat, *C. ternatea* žirnių žiedai yra siejami su kitomis sveikatai naudingomis savybėmis, pavyzdžiui padeda mesti svorį, kontroliuoja cukraus kiekį kraujyje, prisideda prie plaukų ir odos būklės gerinimo [23].

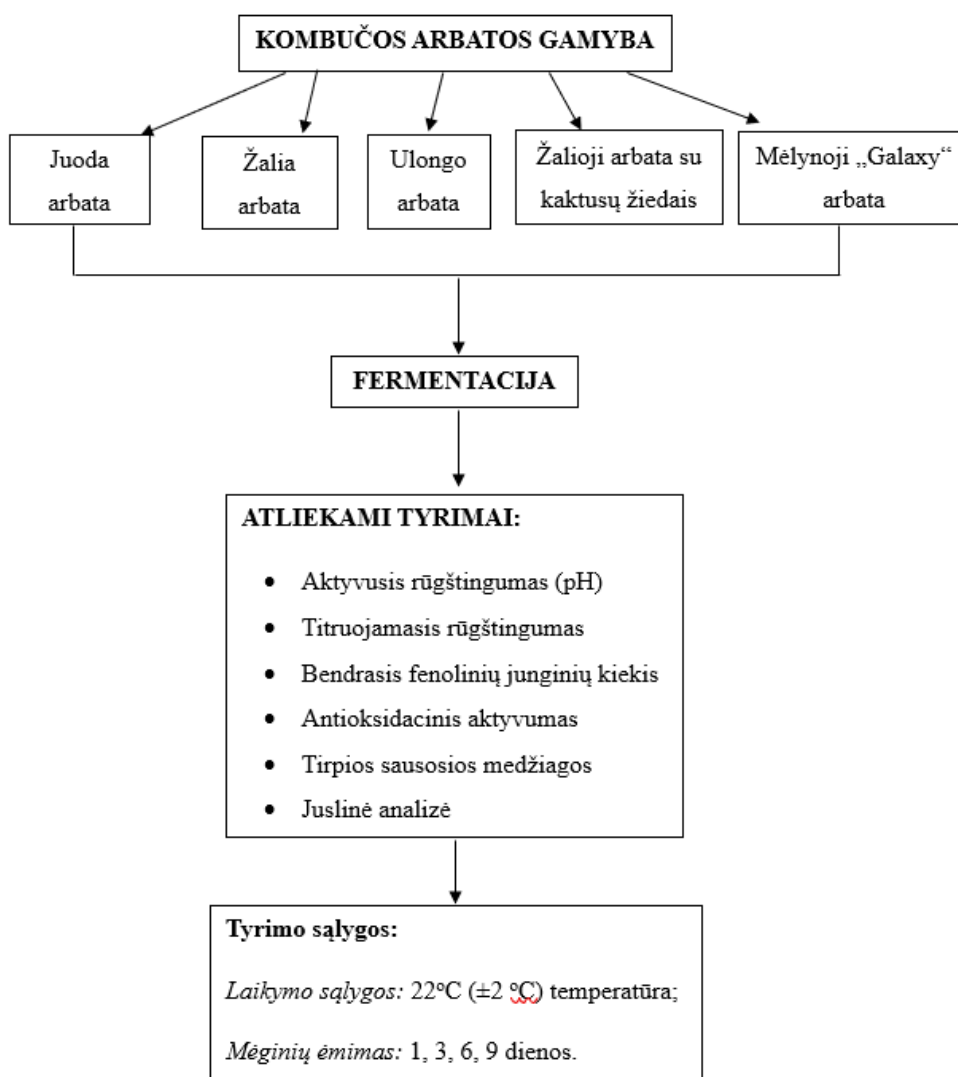
Dar vienas naudojamas arbatos komponentas buvo moringa lapai. Jie turi daug gydomųjų savybių, todėl gali būti naudojami kaip papildomi vaistai arba maisto papildai. Lapuose yra gausu vitamino C ir E, beta karotino, fenolinių junginių, kurie turi priešuždegiminį poveikį, gali padidinti antioksidacinių fermentų kiekį, sumažinti oksidacinį stresą, šalinti laisvuosius radikalus. Gali padėti gydant lėtines ligas ir kai kurias odos problemas. Moringa lapai gali padėti sumažinti viršsvorį, hipertenziją, širdies ir kraujagyslių ligų komplikacijų riziką. *In vitro* ir *in vivo* tyrimai patvirtino šių lapų antioksidacinį, priešuždegiminį, antidiabetinį ir priešvėžinį poveikį. Šie lapai, taip pat, padeda gydant neurologines disfunkcines ligas [22].

2. TYRIMŲ MEDŽIAGOS IR METODAI

2.1. Tyrimų atlikimo vieta

Tyrimai buvo atlikti Lietuvos sveikatos mokslų universiteto, Veterinarijos akademijos, Biochemijos katedros laboratorijoje. Bakalauro baigiamojo darbo tyrimai buvo atlikti 2022-2023 metais.

2.2. Tyrimų schema



5 pav. Tyrimo schema.

2.3. Tyrimų objektai ir sąlygos

Buvo tiriama fermentuota kombučos arbata, pagaminta iš juodosios, žaliosios, Ulongo, mėlynosios „Galaxy“ arbatų ir žaliosios arbatos su kaktusų žiedais, cukraus, vandens, simbiotinės mielių ir bakterijų kultūros.

Kombučos gėrimai gaminti iš skirtingų rūšių *Camelia sinensis* augalo lapų: juodoji arbata „Earl Grey“, paprasta žalioji arbata „Sencha“, Ulongo arbata „Rojaus vaisiai“, žalioji arbata „Kaktusų žiedai“, kurios sudėtyje yra kaktusų žiedų, mėlynoji prieskoninė „Galaxy chai“ arbata gaminama iš *Clitoria ternatea* žiedų, moringa lapų ir kitų prieskonių. Arbatai gaminti buvo naudojamas baltasis cukrus, pagamintas iš cukrinių runkelių.

Kombučai pagaminti arbatos substratai buvo paruošti naudojant vienodas sąlygas ir priemones: užvirinama 1l vandentiekio vandens iki 100 °C, pridedama 5 g arbatžolių, 70 g sacharozės ir ekstrahuojama apie 5 min. Po ekstrakcijos filtruojant pašalinami arbatos lapai. Iki kambario temperatūros atvėsinta arbata supilstyta po 800 ml į 1l talpos sterilizuotus, švarius indus. Į paruoštą arbatą buvo įpilta 160 ml senos kombučos ir įdėta apie 95 g arbatos grybo. Indai buvo uždengti steriliu audiniu.

Fermentacija buvo atlikta kambario temperatūroje, mėginius laikant tamsioje patalpoje (spintoje). Norėdami išsiaiškinti kaip kinta fermentuotos arbatos cheminių ir fizikinių parametrų dinamika fermentacijos metu, gėrimas buvo tiriamas pirmą, trečią, šestą ir devintą dienomis. Tyrimo metu buvo tirta aktyvusis rūgštingumas (pH), titruojamasis rūgštingumas, bendras fenolinių junginių kiekis, antioksidacinis aktyvumas, tirpios sausosios medžiagos ir atlikta juslinė analizė. Kombučos juslines savybes vertino 10 asmenų. Tyrimams iš kiekvieno mėginio buvo paimta po tris laboratorinius mėginius.

2.4. Aparatūra ir priemonės

pH metras – Thermo Fisher Scientific HANNA HI 2210 pH meter

Džiovinimo spinta (sausoms medžiagoms) – BINDER 2.0

Svarstyklės – KERN PLJ 600-3NM Ser. WL111640

Spektrofotometras - Agilent UV–Vis

Stiklinė pipetė;

Kūginė kolba;

Matavimo kolba;

Filtro popierius;

Puodas;

Viryklė;

Termometras;

Kvarco kiuvetė.

2.5. Medžiagos ir reagentai

- Fenolftaleino indikatorius;
- 0,1 N natrio šarmas (NaOH);
- 75 proc. vandeninis etanolio tirpalas;
- Folin – Ciocalteu reagentas;
- 99 proc. natrio karbonatas (Na_2CO_3);
- 97 proc. etanolis;
- 99 proc. metanolis;
- DPPH reagentas;
- Stiklinė pipetė;
- Kūginė kolba;
- Matavimo kolba;
- Filtro popierius;
- Puodas;
- Viryklė;
- Svarstyklės;
- Termometras;
- Kvarco kiuvetė.

2.6. Duomenų statistinė analizė

Tyrimų rezultatų duomenų apdorojimui buvo naudojami statistinės analizės kompiuterinė programa IBM SPSS ir Microsoft Excel 2010. Buvo atlikta visų tyrimų po tris kiekvieno mėginio pakartojimus. Apskaičiuoti gautų rezultatų aritmetiniai vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai. Statistinis patikimumas tarp kiekvienos arbatos duomenų vertintas Friedman's 2way ANOVA testu. Skirtumai statistiškai patikimi ir reikšmingi, kai $p \leq 0,05$, skirtumai statistiškai nereikšmingi, kai $p \geq 0,05$.

2.7. Metodika

Aktyvusis rūgštingumas priklauso nuo įvairių veiksnių, kurie lemia gautus rezultatus, pavyzdžiui, rezultatai gali skirtis dėl fermentacijos laiko, naudojamų substratų savybių ir mikroorganizmų veiklos [14]. Aktyvusis rūgštingumas buvo nustatomas potenciometrinio metodu

su elektroniniu „HANNA HI 2210“ pH matuokliu, remiantis gamintojo instrukcija, prietaisas sukalibruotas esant pH 4,0; 7,0 ir 10,0. Mėginiai buvo matuojami po tris kartus.

Titruojamasis rūgštingumas buvo tiriamas įpilant 10 ml kombučos į švarią, sterilizuotą kolbą. Į tirpalą įlašinama 3 lašai fenolftaleino indikatoriaus. Tirpalas išmaišomas ir titruojamas 0,1 N natrio šarmo (NaOH) tirpalu, kol atsiras rausva spalva ir nepakis 1 min. Titruojamasis rūgštingumas perskaičiuotas į acto rūgštį.

Apskaičiuota pagal formulę:

$$((250/V) * V_1 * c * (100/V_0)) * 0,060$$

V – mėginio tūris mililitrais;

V₀ – tiriamojo mėginio tūris mililitrais;

V₁ – tyrimui sunaudoto natrio hidroksido tirpalo tūris mililitrais;

c – tikslus natrio hidroksido koncentracija moliai litre;

0,060 – koeficientas atitinkantis acto rūgštį.

Siekiant ištirti bendrąjį fenolinių junginių kiekį buvo pasirinktas Folin-Ciocalteu metodas. Eiga: paruošiama po 3 mėginius kiekvienos arbatos rūšies. Ekstraktui paruošti sveriamas 1 g kombučos mėginio, naudojamos „KERN PLJ 600-3NM“ svarstyklės. Pasvertas mėginys atskiedžiamas su 10 ml 75 proc. vandeniniu etanolio tirpalu ir ekstrahuojama 1 val. Po to mėginys nufiltruojamas. 0,2 ml tiriamojo ekstrakto praskiedžiamas su 5 ml distiliuoto vandens ir sumaišomas su 0,2 pasigaminto Folin-Ciocalteu reagentu (1 : 9). Po 6 min. įpilamas 1 ml 20 proc. natrio karbonato (Na₂CO₃). Gautas tirpalų mišinys laikomas 30 min. kambario temperatūroje. Absorbicija išmatuota spektrofotometru Agilent UV–Vis esant 765 nm bangos ilgiui. Tuščiam mėginiui naudojamas etanolis. Matuota pagal jau paruoštą galo rūgšties kalibracinę kreivę. Mėginiai tiriami tris kartus, iš gautų rezultatų išvedamas vidurkis.

Bendrasis fenolinių junginių kiekis išreikštas galo rūgšties ekvivalentais (GRE) naudojant formulę:

$$GRE = [c(V/m)] / 1000 (\mu\text{g ml}^{-1})$$

c – galo r. konc. ($\mu\text{g ml}^{-1}$) nustatyti iš kalibracinės kreivės

V – ekstrakto tūris (ml)

m – tikslus pasvertas žaliosios arbatos kiekis (g)

Kombučos antioksidacinis aktyvumas (AA) nustatomas taikant elektronų perdavimo reakcijomis pagrįstą DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo hidrato) radikalų surišimo metodą. Taip matuojama kiek procentų DPPH radikalo neutralizuos fenoliniai junginiai.

Eiga: paruošiamas mėginys iš tiriamosios kombučos, į 1 cm kvarco kiuvetę įpilama 50 µl kombučos, sumaišoma su 2 ml DPPH tirpalu. DPPH tirpalas gaminamas 7,95 ml metanolio sumaišytas su 1,20 ml DPPH reagentu. Tuščias mėginys paruoštas su metanolio ir 2 ml DPPH tirpalu. Tada tiriamieji mėginiai buvo inkubuojami 30 min., kambario temperatūroje. Spektrofotometru Agilent UV–Vis išmatuojama mėginių absorbcija esant 517 nm bangos ilgiui.

Kombučos antioksidacinis aktyvumas apskaičiuotas kaip DPPH radikalų šalinimo aktyvumas procentais pagal formulę:

$$\text{DPPH} = [(A_0 - A_m) / A_0] * 100\%$$

A_0 – tuščio mėginio absorbcijos dydis;

A_m – tiriamojo mėginio absorbcijos dydis.

Kombučos arbatos gėrimo lūžio rodiklis nustatomas refraktometru 20 (± 5) °C temperatūroje. Tirpių sausųjų medžiagų kiekis, kuris išreikštas sacharozės koncentracija, nustatomas, naudojant šių medžiagų kiekio priklausomybės nuo lūžio rodiklio lentelę.

Refraktometras, kurio skalė graduota lūžio rodiklio vienetais, yra sureguliuotas taip, kad 20 (± 5) °C temperatūroje regulatoriaus rodomas distiliuoto vandens lūžio rodiklis lygus 1,333. Kombučos arbatos tirpalas paimamas nurodytoje temperatūroje, užlašinamas nedidelis tiriamojo tirpalo kiekis (2-3 lašai) ant nepaslankios refraktometro prizmės ir iš karto uždaroma paslankioji prizmė. Su staline lempa gerai apšviečiamas matymo laukas. Linija, kuri skiria tamsų ir šviesų lauką okuliare, vedama tiksliai iki susikirtimo okuliario langelyje. Atskaitomas lūžio rodiklio dydis. Pagal lūžio rodiklio reikšmę lentelėje (A3) (ISO 2173:2003) surandama atitinkami tirpių sausųjų medžiagų masės dalis, procentais.

Kombučos arbatos juslinei analizei atlikti buvo pasirinkta 10 vertintojų, Vertintojai buvo šeimos nariai ir draugai, jų amžius nuo 20 iki 78 metų, 5 moterys ir 5 vyrai. Jie vertino devynių parų kombučos arbatos mėginius – juodosios, žaliosios, Ulongo, žaliosios su kaktusų žiedais ir mėlynosios prieskoninės „Galaxy“. Kombučos juslinėms savybėms, skoniui, kvapui ir spalvai, vertinti buvo naudojama 5 balų hedoninė skalė: 1 – visiškai nepriimtina, 2 – nepriimtina, 3 – vidutiniškai priimtina, 4 – priimtina, 5 – labai priimtina.

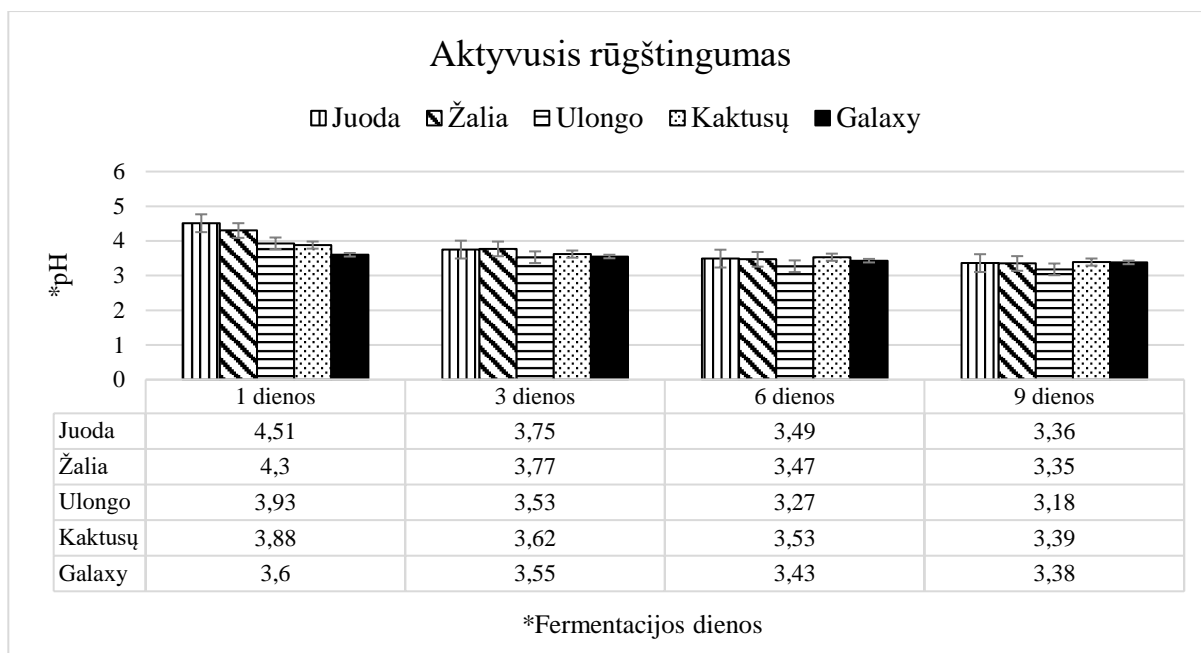
3. TYRIMO REZULTATAI

3.1. Aktyviojo rūgštingumo pokyčiai tyrimo laikotarpiu

Kombučos arbata fermentuota 9 dienas, aktyvusis rūgštingumas buvo tiriamas arbatos užpylimo dieną ir 3, 6, 9 dienomis. Pagal gautus tyrimo rezultatus, matyti, kad nuo fermentacijos pradžios per visas tiriamąsias dienas, kiekvienos tirtos arbatos pH vertės reikšmingai mažėjo, tai reiškia, kad arbatos rūgštėjo (6 pav.). Duomenys rodo, kad pH reikšmės mažėjo, didėjant fermentacijos laikui.

Fermentacijos pradžioje, lyginant visas tiriamąsias arbatas, buvo nustatytas didžiausias juodosios arbatos aktyvusis rūgštingumas, per visas tyrimų dienas pH vertė šioje arbatoje sumažėjo daugiausia – 1,15 vieneto. Mažiausią rūgštingumą, užpylimo dieną turėjo mėlynoji „Galaxy“ arbata, joje pH vertės pokytis fermentacijos laikotarpiu buvo mažiausias – 0,22 vieneto. Užpylimo dieną Ulongo arbatoje ir žaliojoje arbatoje su kaktusų žiedais rezultatai buvo labai panašūs. Žaliojoje arbatoje su kaktusų žiedais aktyvusis rūgštingumas sumažėjo 0,49 vieneto. Ulongo arbata nuo trečios iki devintos fermentacijos dienos, turėjo mažiausią pH, tai reiškia, kad ši arbata, pagal gautus aktyvaus rūgštingumo rezultatus, turėjo didžiausią rūgštingumą. Šioje arbatoje pH vertė per visas fermentacijos dienas sumažėjo 0,75 vieneto.

Paprasta žalioji arbata pirmąją dieną turėjo mažesnę aktyvųjį rūgštingumą nei juodoji, trečią dieną žalioji arbata pralenkė juodąją, tačiau galutiniame rezultate arbatų pH žymiai nesiskyrė, šių arbatų skirtumai nebuvo statistiškai reikšmingi. Žaliosios arbatos aktyvusis rūgštingumas fermentacijos laikotarpiu sumažėjo 0,95 vieneto, tai nedidelis skirtumas lyginant su juodąja arbata.



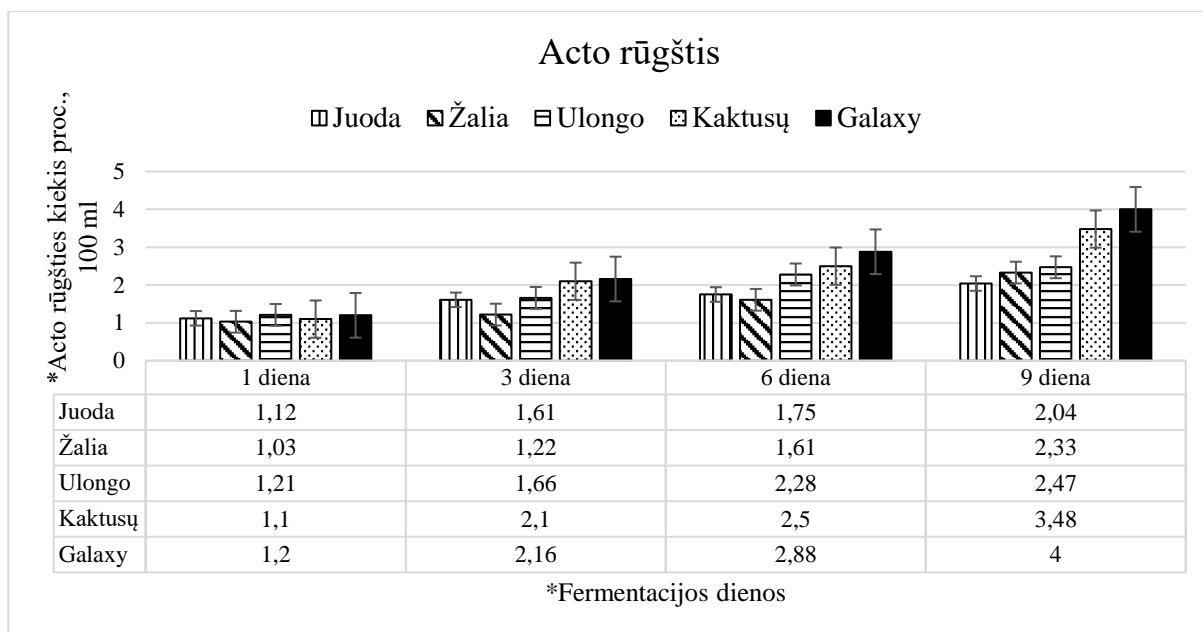
6 pav. Kombučos arbatos aktyvusis rūgštingumas (pH).

*Pastaba: Skirtumai laikomi statistiškai reikšmingi, kai $p \leq 0,05$.

3.2. Titruojamo rūgštingumo rezultatai

Nustaćius titruojamąjį rūgštingumą, rezultatai buvo perskaičiuoti į acto rūgštį (LST ISO 750:2000), nes kombučos arbatoje, lyginant su kitomis rūgštimis, daugiausia yra acto rūgštis. Visose tiriamuose arbatose ilgėjant fermentacijos laikui, acto rūgštis didėjo, šie pokyčiai buvo statistiškai reikšmingi (7 pav.). Pirmąją dieną daugiausia acto rūgštis turėjo Ulongo arbata, mėlynoji „Galaxy“ arbata turėjo nežymiai mažiau. Likusiomis fermentacijos dienomis „Galaxy“ arbata pralenkė visas kitas tiriamas arbatas ir turėjo didžiausią acto rūgštis kiekį, nuo pirmos iki devintos dienos padidėjo 2,8 proc. Per visas dienas, juodojoje arbatoje acto rūgštis padidėjo mažiausiai, tik 0,92 proc. Ulongo ir žalioji arbatose lyginant pirmą ir devintą dieną, vidutiniškai paaugo 1,28 proc.

Juodoji ir žalioji su kaktusų žiedais pirmą fermentacijos dieną turėjo mažą rezultatų skirtumą, taip pat ir Ulongo su mėlynoji „Galaxy“ arbata. Trečią dieną Ulongo ir juodosios arbatų rezultatai buvo beveik lygūs. Kitomis tyrimų dienomis visų arbatų rezultatai stipriai skyrėsi.



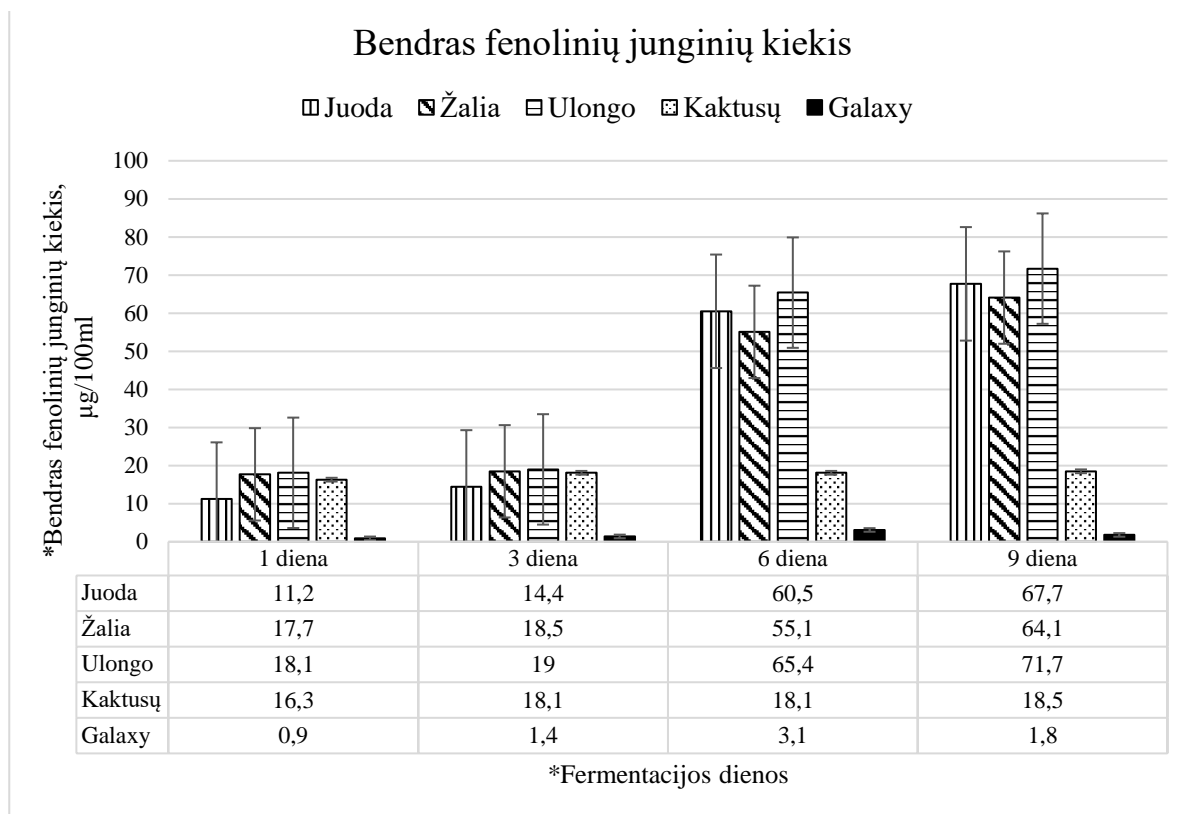
7 pav. Kombučos arbatos acto rūgšties kiekis procentais.

*Pastaba: Skirtumai laikomi statistiškai reikšmingi, kai $p \leq 0,05$.

3.3. Bendrojo fenolinių junginių kiekio rezultatai

Bendras fenolinių junginių kiekis buvo išreikštas galo rūgšties ekvivalentais. Analizuojant rezultatus, galime matyti, kad juodojoje, žaliojoje, Ulongo ir žaliojoje su kaktusų žiedais arbatose šie rodikliai augo visą tyrimų laikotarpį, tačiau labai skirtingai (8 pav.). Juodojoje arbatoje BFJ kiekis nuo pirmos iki devintos dienos padidėjo daugiausia – 56,5 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$. Žaliojoje arbatoje, per visas tiriamąsias dienas, matomas, taip pat reikšmingas padidėjimas – 46,4 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$. Tarpusavyje lyginant žaliąją ir juodąją arbatas, pirmąją ir trečiąją dienomis didesnę fenolinių junginių kiekį turėjo žalią arbata, nuo šeštos ir iki devintos fermentacijos dienos BFJ kiekis išaugo ir buvo didesnis juodojoje arbatoje, šie arbatų skirtumai yra statistiškai reikšmingi. Arbatoje su kaktusų žiedais rezultatai visomis dienomis neturėjo reikšmingo augimo. Ulongo arbata per visą fermentacijos laikotarpį turėjo didžiausią fenolinių junginių kiekį, lyginant su kitomis arbatomis (8 pav.).

Mėlynoji „Galaxy“ arbata visas fermentacijos dienas turėjo mažiausiai BFJ kiekio. Šioje arbatoje tiriamų rodiklių kiekis reikšmingai didėjo šešias fermentacijos dienas, šeštą fermentacijos dieną, lyginant su kitomis dienomis, arbata turėjo daugiausia BFJ kiekio, o paskutinę fermentacijos dieną - šis kiekis nereikšmingai sumažėja.



8 pav. Kombučos bendrasis fenolinių junginių kiekis, µg/100 ml.

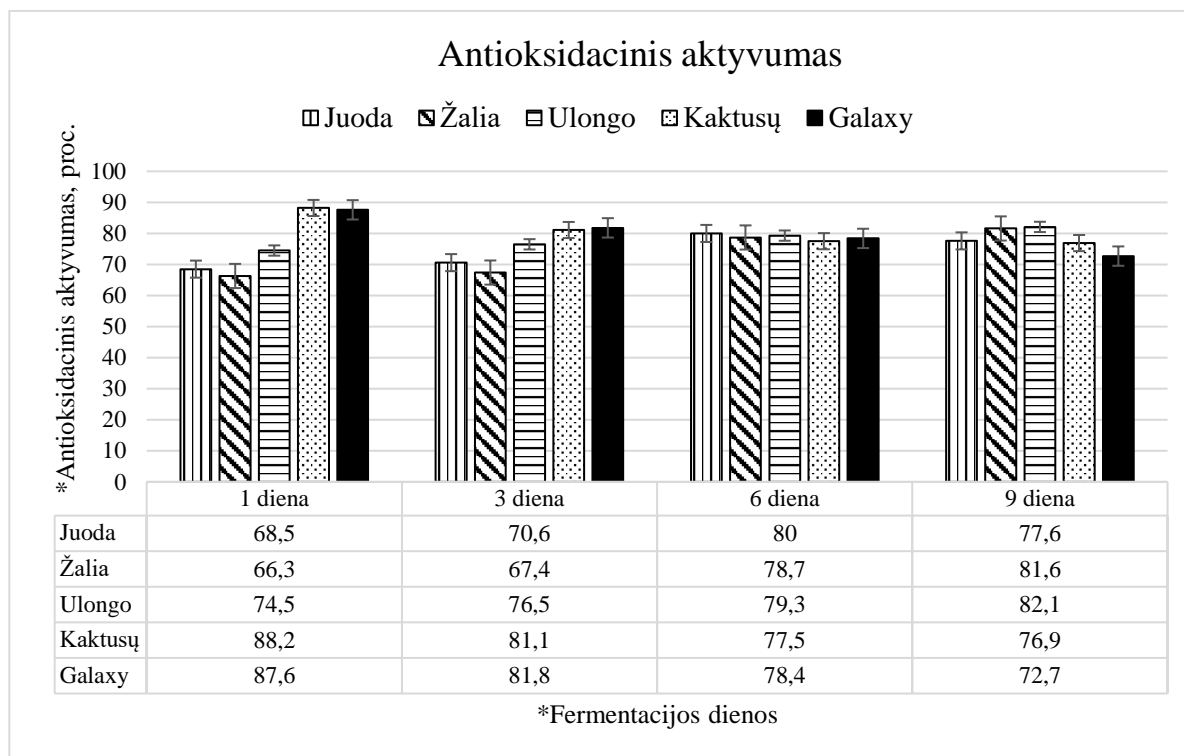
*Pastaba: Skirtumai laikomi statistiškai reikšmingi, kai $p \leq 0,05$.

3.4. Antioksidacinio aktyvumo rezultatai

Atlikus kombučos mėginių tyrimus ir gavus antioksidacinio aktyvumo rezultatus paaiškėjo, kad kombučos arbatose antioksidacinis aktyvumas svyravo nuo 66,30 proc. iki 88,20 proc. (9 pav.). Pagal atliktą statistinę analizę, matyti, kad arbatos rūšis ir fermentacijos laikas turėjo įtakos kombučos antiradikalinėms savybėms.

Gautuose rezultatuose, pagal arbatos rūšį, didžiausias antioksidacinis aktyvumas buvo nustatytas užpylimo dieną, žaliojoje arbatoje su kaktusų žiedais, o mažiausias – žaliojoje arbatoje. Juodojoje arbatoje AA_{DPPH} reikšmingai didėjo (11,5 proc.) iki šeštos fermentacijos dienos, tačiau nuo devintos dienos pastebėtas 2,4 proc. sumažėjimas. Žaliojoje ir Ulongo arbatose AA_{DPPH} matomas reikšmingas padidėjimas po devynių fermentacijos dienų. Ulongo arbatoje nuo užpylimo iki devintos dienos, rezultatai padidėjo 7,6 proc., žaliojoje arbatoje – 15,3 proc.. Žaliojoje su kaktusų žiedais ir mėlynojoje „Galaxy“ arbatoje vyksta nuolatinis AA_{DPPH} mažėjimas. Arbatoje su kaktusų žiedais AA_{DPPH} reikšmingas sumažėjimas įvyko po trijų dienų, o mėlynojoje - po devynių dienų. Mažiausia radikalų surišimo geba pasižymėjo devynias dienas fermentuota mėlynosios „Galaxy“ arbatos kombuča.

Pagal šiame darbe gautus antioksidacinio aktyvumo rezultatus, geriausia vartojimui tinkama arbata – Ulongo.

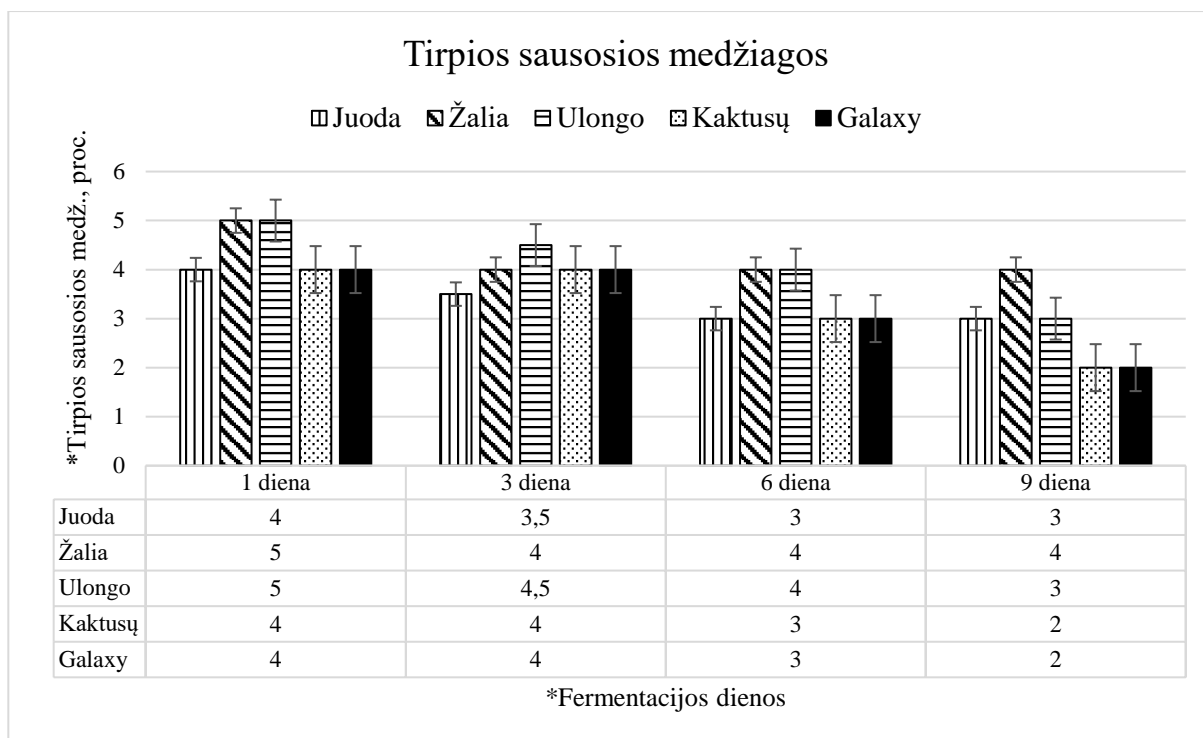


9 pav. Kombučos antioksidacinis aktyvumas.

*Pastaba: Skirtumai laikomi statistiškai reikšmingi, kai $p \leq 0,05$.

3.5. Tirpių sausųjų medžiagų kiekio rezultatai

Analizuojant tirpių sausųjų medžiagų kiekį, visose tiriamose kombučos arbatose matomas šių medžiagų mažėjimas (10 pav.). Juodojoje arbatoje pastebimas reikšmingas mažėjimas, po šešių parų, sumažėja 1 proc., o po devynių parų rezultatai išlieka nepakitę. Žaliojoje arbatoje galime matyti tiriamų medžiagų nereikšmingą sumažėjimą po trečios fermentacijos proceso dienos – 1 proc., likusiomis dienomis, iki fermentacijos pabaigos tyrimo rodikliai išliko nepakitę. Ulongo arbatoje visas devynias fermentacijos dienas matomas reikšmingas tirpių sausųjų medžiagų mažėjimas, nuo pirmos iki devintos dienos sumažėjo 2 proc. Žaliojoje arbatoje su kaktusų žiedais ir mėlynojoje „Galaxy“ arbatoje nuo užpylimo iki trečios fermentacijos dienos, medžiagų rodikliai išliko nepakitę, nuo šeštos iki devintos tyrimų dienos pastebimas reikšmingas medžiagų mažėjimas.



10 pav. Kombučos arbatos tirpių sausųjų medžiagų kiekis procentais.

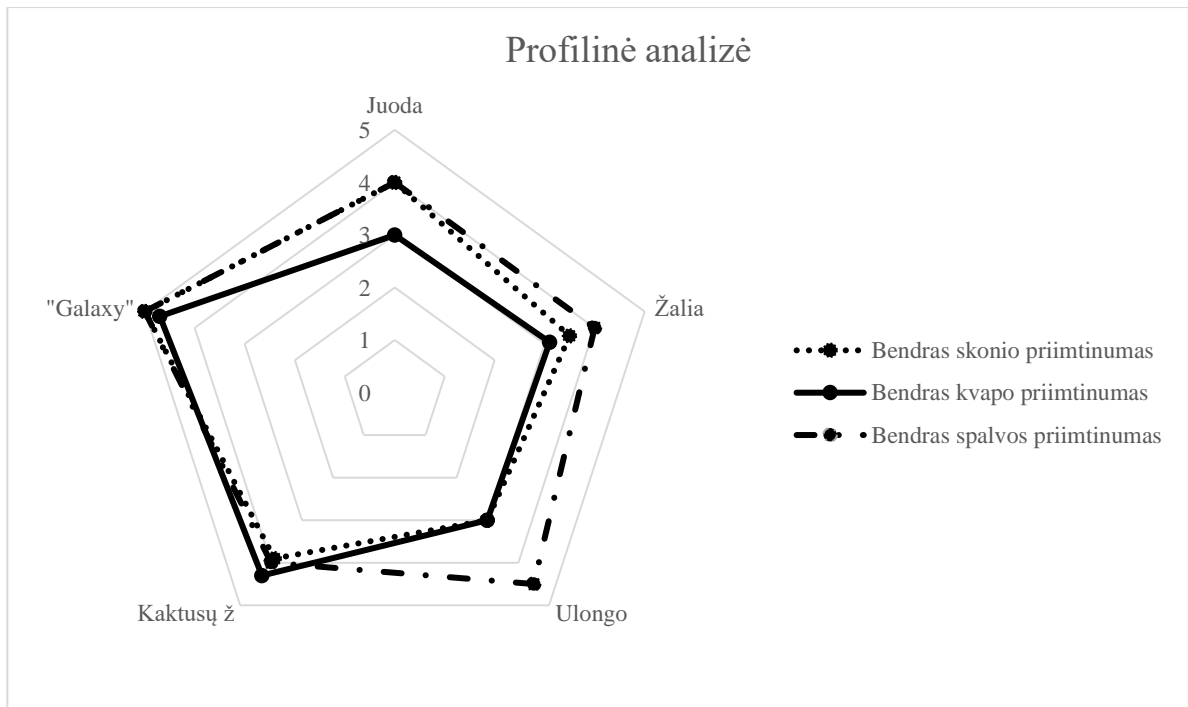
*Pastaba: Skirtumai laikomi statistiškai reikšmingi, kai $p \leq 0,05$.

3.6. Kombučos arbatos juslinė analizė

Juslinė analizė buvo atliekama arbatos fermentuotos 9 dienas. Tyrimą atliko 10 vertintojų.

Pagal skonį labiausiai priimtina buvo kombuča iš mėlynosios „Galaxy“ arbatos, ji įvertinta aukščiausiu balu. Kombučos iš mėlynosios „Galaxy“ arbatos ir žaliosios su kaktusų žiedais, pirmavo dėl savo gero aromato. Pagal spalvą visos kombučos buvo įvertintos panašiai, bet patraukliausia spalva pasižymėjo kombučos su Ulongo ir mėlynąja „Galaxy“ arbata.

Kombučos arbatos su juodąja, žaliąja ir Ulongo arbatomis nepasižymėjo patraukliu skoniu, juodoji ir žaliąja labiau buvo įvertintos dėl skonio ir spalvos. Kombuča iš Ulongo arbatos labiausiai buvo priimtina dėl savo spalvos, tačiau nepasižymėjo geru skoniu ir kvapu. Kombučą iš žaliosios arbatos su kaktusų žiedais vertintojai įvertino dėl gero kvapo ir bendros spalvos, tačiau skoniu ši arbata neišsiskyrė. Sudėjus visus rodiklius bendrai, pagal juslinę analizę geriausiai įvertinta buvo kombuča su mėlynąja „Galaxy“ arbata, ji gavo beveik visus aukščiausius balus (11 pav.).



11 pav. Kombučos arbatos juslinės analizės vertinimo rezultatai.

4. REZULTATŲ APTARIMAS

4.1. pH ir acto rūgšties rezultatų palyginimas

Ištyrus kombučos arbatą pagal gautus rezultatus galime matyti, kad visose tiriamose arbatose pH vertė mažėjo, o acto rūgšties kiekis didėjo. Tai reiškia, jog ilgėjant fermentacijos laikui pH vertė mažėja, nes vyksta organinių rūgščių gamyba, todėl acto rūgšties kiekis didėja (Dufresne ir Farnworth 2000 m.). Kombučoje esančios acto rūgšties bakterijos, naudamos sacharozę kaip anglies šaltinį gamina acto rūgštį, kaip vieną iš pagrindinių metabolitų. Šis oksidacinis procesas rūgština kombučos arbatą, taip mažindamas pH, tai lemia gėrimo rūgštų skonį ir kvapą [13]. R. Jayabalan ir kt. (2007 m.) nustatė, kad žalioji ir juodoji arbatos yra geriausias substratas acto rūgšties ir gliukurono rūgšties gamybai kombučoje [17].

Fermentacijos paskutinę dieną pH reikšmės buvo nuo 3,18 iki 3,39. Gautos vertės yra tinkamos ribose, jeigu jos yra nuo 2,5 iki 4,2, tada yra laikomos tinkamos ir saugios vartoti žmonėms (Nummer, 2013 m.). Vertės, kurios yra mažesnės nei nurodyta, pasižymi didele acto rūgšties koncentracija ir tai kelia pavojų vartotojų sveikatai. O pH, kurio vertė didesnė nei 4,2, kelia pavojų gėrimo mikrobiologinei saugai [16].

4.2. Bendro fenolinių junginių kiekio rezultatų palyginimas

Fenoliniai junginiai yra viena iš svarbiausių dalių žmogaus mityboje. Jais domimasi dėl sveikatą stiprinančių savybių, įskaitant ir jų antioksidacinę poveikį [19]. Fenoliniai junginiai pasižymi antioksidaciniu pajėgumu ir geba šalinti laisvuosius radikalus ir reaktyviasias deguonies formas, pvz. deguonį, superoksido laisvuosius radikalus ir hidroksilo radikalus (Jayabalan ir kt., 2008 m.) [18]. Bendras fenolinių junginių kiekis padidėja tada, kai bakterijos ir mielės išskiria fermentus ir paveikia fenolinius junginius [20].

Pagal gautus tyrimo rezultatus, galime matyti, kad juodosios arbatos BFJ kiekis buvo didesnis, lyginant su žaliaja arbata. Kallel ir kt. (2012 m.) taip pat, atlikto tyrimą, naudojant panašias sąlygas, kuriame pranešė, kad pagal gautus rezultatus po 9 dienų fermentacijos, 24 °C temperatūroje, juodojoje arbatoje BFJ kiekis buvo didesnis lyginant su žaliaja arbata [18, 21]. Žalioji arbata yra gaunama iš šviežių *C. sinensis* lapų, pagrindiniai polifenoliai yra katechinai (Senanayake, 2013 m.). Gaminant juodą arbatą *C. sinensis* lapai yra perdirbami, jie skatina polifenolio oksidazių aktyvumą ir dėl to katechinų oksidaciją, todėl susidaro teaflavinai ir tearubiginai, kurie yra pagrindiniai juodosios arbatos polifenolių junginiai [18].

Mėlynoji „Galaxy“ arbata, lyginant su kitomis, turėjo mažiausiai fenolinių junginių, tai galėjo lemti šios arbatos sudėtis. Joje nėra *C. sinensis* arbatžolių, kaip kitose arbatose, sudėtyje randama pankolio, imbiero gabaliukų, kalendros ir kitų kvapą suteikiančių prieskonių. Tačiau ši arbata savo sudėtyje turi moringa lapus, kurie pasižymi dideliu fenolinių junginių kiekiu, daugiausia flavanoidų, fenolinių rūgščių ir jų glikozidų (Rocchetti ir kt., 2020 m.) [22]. Kadangi šių lapų arbatoje nėra daug, jie sudarė nedidelį kiekį fenolinių junginių kombučoje su minėta arbata. Taip pat, mėlynosios „Galaxy“ arbatos sudėtyje galime rasti *Clitoria ternatea* žiedų, kurie taip pat, galėjo turėti įtakos BFJ kiekiui, tačiau šiuo klausimu nėra atlikta pakankamai tyrimų. Rabeta, M.S. ir An Nabil, Z. (2013 m.) atliktame tyrime buvo nustatyta, kad *C. ternatea* lapuose buvo didesnis BFJ kiekis už žiedus [23].

4.3. Antioksidacinio aktyvumo rezultatų palyginimas

Kombučos arbatoje antioksidacinis aktyvumas žinomas dėl teigiamų savybių, tokių kaip vėžio prevencija, imuniteto stiprinimas, artrito ir uždegimo palengvinimas [13]. Antioksidacinis aktyvumas daugiausia susijęs su fenoliniais junginiais, kurie turi įvairias funkcines grupes ir molekulinės struktūras. (Shahidi ir Yeo 2016 m.) [24].

Kombučoje, kaip ir juodojoje arbatoje randama polifenolinių ir kitų antioksidacinių junginių, tačiau dėl fermentacijos fermentuota arbata turi daugiau teigiamo poveikio nei įprasta arbata dėl biologiškai aktyvių junginių [20, 25]. Mokslininkai yra nustatė, kad kombuča pasižymi didesniu antioksidaciniu aktyvumu už vitaminus C ir E [20].

Malbaša ir kt. (2011 m.) pastebėjo, kad ir juodoji ir žalioji arbata gali turėti didesnę antioksidacinę aktyvumą, tai priklauso nuo pradinės kultūros. Taip pat, antioksidacinis aktyvumas gali kisti ne tik dėl fenolinių junginių koncentracijos, bet ir dėl kitų fermentacijos metu susidariusių metabolitų, tokių kaip askorbo rūgštis ir kitos organinės rūgštys (Malbaša ir kt., 2011 m.). Temperatūra ir fermentacijos laikas irgi turi įtakos antioksidaciniam aktyvumui (Jayabalan ir kt., 2008 m. ir Chu ir Chen, 2006 m.) [18].

Kombučoje susidaranti gliukurono rūgštis yra dar vienas komponentas, kuris susidaro arbatos fermentacijos metu ir gali padidinti jos antioksidacinę aktyvumą (Martínez Leal ir kt. 2018 m.) [7].

4.4. Tirpių sausųjų medžiagų rezultatų aptarimas

Fermentacijos proceso metu tirpių sausųjų medžiagų kiekis mažėjo, o rūgštingumas didėjo. Taip vyksta todėl, kad arbatoje esantis cukrus naudojamas kaip anglies šaltinis, kuris padeda

mikroorganizmų ląstelėms augti. Bendrasis tirpių sausųjų medžiagų kiekis parodo visų maiste ištirpusių medžiagų, organinių ir neorganinių, kiekio matą. Tirpios sausosios medžiagos gali sumažėti ne tik dėl sumažėjusio bendro cukraus kiekio, bet ir dėl baltymų, pektinų ir kitų mineralinių medžiagų nusėdimo [26, 31].

Tirpių sausųjų medžiagų sumažėjimą gali lemti arbatoje esančio cukraus mikrobiologinis metabolizmas į įvairius metabolitus [14, 27].

4.5. Juslinės analizės rezultatų aptarimas

Kombuča pasižymi savo išskirtiniu skoniu, kadangi jaučiamas saldus, bet tuo pačiu rūgštus, kartais ir kartus skonis. Pagal skonį priimtinausia buvo kombuča su mėlynąja „Galaxy“ arbata. Tai galėjo lemti arbatoje esantys priedai, kurie turėjo įtakos skoniui.

Beveik visos arbatos savo spalva nesiskyrė, pagal spalvą išsiskyrė ir pirmavo kombuča su mėlynąja „Galaxy“ arbata, kurios pavadinimas jau parodo, kad ši arbata yra kitokia, nes jos sudėtyje yra mėlynieji *Clitoria ternatea* žirnių žiedai, kurie suteikia arbatai mėlyną spalvą. Taip pat, vertintojams pagal spalvą patiko ir kombuča su Ulongo arbata, nes ši arbata, lyginant su kitomis, buvo gana skaidri.

Vertinant bendrą kvapo priimtinumą, labiausiai vertintojams patiko kombuča su žaliaja ir kaktusų žiedais ir mėlynąja „Galaxy“ arbatomis. Kadangi šios arbatos savo sudėtyje turi priedų, kurie turi įtakos šių arbatų aromatai, tai ir galėjo lemti tokius rezultatus.

IŠVADOS

1. Kombučos gėrimo fizikinius ir cheminius rodiklius lemia pasirinktas substratas ir fermentacijos laikas.
2. Per devynias fermentacijos dienas visose tirtuose kombučos arbatose aktyvusis rūgštingumas reikšmingai sumažėjo, o acto rūgšties kiekis padidėjo. Didžiausias pH ir acto rūgšties pokytis visuose mėginiuose buvo pastebėtas devintą parą. Šie rezultatai rodė, kad fermentacijos laikas buvo reikšmingas pH vertės ir acto rūgšties kiekio pokyčiams, dėl susidariusių organinių rūgščių.
3. Bendras fenolinių junginių kiekis kiekviename mėginyje buvo skirtingas: juodojoje, žaliojoje, Ulongo ir žaliojoje su kaktusų žiedais arbatose, didžiausias pokytis buvo matomas devintą fermentacijos parą, mėlynoje „Galaxy“ arbatoje didžiausias kiekis buvo šeštą dieną, o nuo devintos dienos sumažėjo. Ulongo arbata visas dienas turėjo didžiausią fenolinių junginių kiekį, o mėlynoji „Galaxy“ arbata turėjo mažiausią, nes jos sudėtį sudaro Clitoria ternatea žiedai, moringa lapai ir įvairūs kvapą teikiantys prieskoniai.
4. Antioksidaciniam aktyvumui turėjo įtakos pasirinkta arbata ir fermentacijos laikas. Žaliojoje arbatoje su kaktusų žiedais, užpylimo dieną buvo nustatytas didžiausias antioksidacinis aktyvumas. Tačiau paskutinę fermentacijos dieną Ulongo arbata iš visų arbatų turėjo didžiausią antioksidacinį aktyvumą, todėl ją gerti būtų naudingiausia.
5. Tirpios sausosios medžiagos, ilgėjant fermentacijos laikui mažėjo, nes arbatoje buvęs cukrus buvo panaudotas kaip anglies šaltinis ir padėjo mikroorganizmų ląstelėms augti.
6. Kombuča iš mėlynosios „Galaxy“ arbatos buvo įvertinta geriausiai, atlikus kombučos juslinių savybių vertinimą, po devynių fermentacijos dienų.

REKOMENDACIJOS

1. Atlikti daugiau ir platesnius tyrimus, su daugiau dalyvių, apie kombučos ilgalaikį poveikį sveikatai su žmonėmis, įvertinti teigiamus ir neigiamus poveikius su tam tikromis žmonių sveikatos būklėmis.
2. Kombučos arbata gali praturtinti dienos racioną, nes joje yra vitaminų, mineralų ir probiotikų, kurie skatina gerą žarnyno mikroflorą ir gerina virškinimo sistemą. Šis gėrimas suteikia energijos ir gerina nuotaiką, dėl fermentacijos metu susidarančio B grupės vitamino ir mažo kiekio kofeino.
3. Ši fermentuota arbata turi mažai kalorijų, todėl tiks žmonėms, kurie meta svorį, nori sumažinti kalorijų kiekį, nes tai gali būti alternatyva gaiviesiems gėrimams, kuriuose yra didelis kiekis cukraus.
4. Atlikti daugiau tyrimų dėl kombučos antioksidacinio poveikio, nes šiuo metu nėra pakankamai tyrimų, kurie patvirtintų, kad kombučoje esantys antioksidantai padeda organizmui kovoti su laisvaisiais radikalais ir apsaugo ląsteles nuo pažeidimų.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Coton M, Pawtowski A, Taminiou B, Burgaud G, Deniel F, Coulloume-Labarthe L, et al. Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. *FEMS Microbiol Ecol* [Internet]. 2017 [cited 2023 Apr 11]; 93(5):fix048. Available from: <https://academic.oup.com/femsec/article/93/5/fix048/3738478>
2. Coelho RMD, Almeida AL de, Amaral RQG do, Mota RN da, Sousa PHM de. Kombucha: Review. *Int J Gastron Food Sci* [Internet]. 2020 [cited 2023 Sep 5]; 22(100272):100272. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878450X20301499>
3. Villarreal-Soto SA, Beaufort S, Bouajila J, Souchard J-P, Taillandier P. Understanding kombucha tea fermentation: A review. *J Food Sci* [Internet]. 2018 [cited 2023 Apr 11]; 83(3):580–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29508944/>
4. Laavanya D, Shirkole S, Balasubramanian P. Current challenges, applications and future perspectives of SCOBY cellulose of Kombucha fermentation. *J Clean Prod* [Internet]. 2021 [cited 2023 Jun 17] ;295(126454):126454. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652621006740>
5. Harrison K, Curtin C. Microbial composition of SCOBY starter cultures used by commercial Kombucha brewers in North America. *Microorganisms* [Internet]. 2021 [cited 2023 Jun 17];9(5):1060. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34068887/>
6. Neffe-Skocińska K, Sionek B, Ścibisz I, Kołożyn-Krajewska D. Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. *CyTA - J Food* [Internet]. 2017; [cited 2023 Apr 23] 15(4):601–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2017.1321588>
7. Martínez Leal J, Valenzuela Suárez L, Jayabalan R, Huerta Oros J, Escalante-Aburto A. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA - J Food* [Internet]. 2018 [cited 2023 Apr 23]; 16(1):390–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>
8. Anantachoke N, Duangrat R, Sutthiphatkul T, Ochaikul D, Mangmool S. Kombucha beverages produced from fruits, vegetables, and plants: A review on their pharmacological activities and health benefits. *Foods* [Internet]. 2023 [cited 2023 Jun 17]; 12(9):1818. Available from: <https://www.mdpi.com/2304-8158/12/9/1818>

9. Kim J, Adhikari K. Current trends in kombucha: Marketing perspectives and the need for improved sensory research. *Beverages* [Internet]. 2020 [cited 2023 Jun 17];6(1):15. Available from: <https://www.mdpi.com/2306-5710/6/1/15>
10. Kapp JM, Sumner W. Kombucha: a systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Ann Epidemiol* [Internet]. 2019 [cited 2023 Jun 21]; 30:66–70. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1047279718307385>
11. 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 (Basel)* [Internet]. 2021 [cited 2023 Jun 11]; 10(10):1541. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3921/10/10/1541>
12. Teixeira Oliveira J, Machado da Costa F, Gonçalves da Silva T, Dotto Simões G, dos Santos Pereira E, Quevedo da Costa P, et al. Green tea and kombucha characterization: Phenolic composition, antioxidant capacity and enzymatic inhibition potential. *Food Chem* [Internet]. 2023 [cited 2023 Apr 23]; 408(135206):135206. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814622031685>
13. Dufresne C, Farnworth E. Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Res Int* [Internet]. 2000 [cited 2023 Apr 11]; 33(6):409–21. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996900000673>
14. Jayabalan R, Malbaša RV, Lončar ES, Vitas JS, Sathishkumar M. A review on kombucha tea—microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Compr Rev Food Sci Food Saf* [Internet]. 2014 [cited 2023 Sep 5]; 13(4):538–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33412713/>
15. de Miranda JF, Ruiz LF, Silva CB, Uekane TM, Silva KA, Gonzalez AGM, et al. Kombucha: A review of substrates, regulations, composition, and biological properties. *J Food Sci* [Internet]. 2022 [cited 2023 Sep 5]; 87(2):503–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.16029>
16. Júnior JC da S, Meireles Mafaldo Í, de Lima Brito I, Tribuzy de Magalhães Cordeiro AM. Kombucha: Formulation, chemical composition, and therapeutic potentialities. *Curr Res Food Sci* [Internet]. 2022 [cited Sep 15]; 5:360–5. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2665927122000235>
17. Jayabalan R, Marimuthu S, Swaminathan K. Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chem* [Internet]. 2007 [cited 2023 Sep 15]; 102(1):392–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814606004250>

18. Cardoso RR, Neto RO, dos Santos D’Almeida CT, do Nascimento TP, Pressete CG, Azevedo L, et al. Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Res Int* [Internet]. 2020 [cited 2023 Sep 17]; 128(108782):108782. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996919306684>
19. Jakubczyk K, Kałduńska J, Kochman J, Janda K. Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. *Antioxidants* (Basel) [Internet]. 2020 [cited 2023 Sep 19];9(5):447. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/antiox9050447Researchgate.net>
20. Massoud R, Jafari-Dastjerdeh R, Naghavi N, Khosravi- Darani K. All aspects of antioxidant properties of kombucha drink. *Biointerface Res Appl Chem* [Internet]. 2021 [cited Oct 2]; 12(3):4018–27. Available from: <https://biointerfaceresearch.com/wp-content/uploads/2021/08/20695837123.40184027.pdf>
21. Kallel L, Desseaux V, Hamdi M, Stocker P, Ajandouz EH. Insights into the fermentation biochemistry of Kombucha teas and potential impacts of Kombucha drinking on starch digestion. *Food Res Int* [Internet]. 2012 [cited Oct 3]; 49(1):226–32. Available from: <https://research.kombuchabrewers.org/wp-content/uploads/kk-research-files/insights-into-the-fermentation-biochemistry-of-kombucha-teas-and-potential-impacts-of-kombucha-drink.pdf>
22. Hassan MA, Xu T, Tian Y, Zhong Y, Ali FAZ, Yang X, et al. Health benefits and phenolic compounds of *Moringa oleifera* leaves: A comprehensive review. *Phytomedicine* [Internet]. 2021 [cited Oct 3]; 93(153771):153771. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944711321003147>
23. An Nabil Z. Total phenolic compounds and scavenging activity in *Clitoria ternatea* and *Vitex negundo* linn. *International Food Research Journal* [Internet]. 2013 [cited 2023 Oct 5]; Available from: https://www.academia.edu/80995023/Total_phenolic_compounds_and_scavenging_activity_in_Clitoria_ternatea_and_Vitex_negundo_linn
24. Shahidi F, Yeo J. Insoluble-bound phenolics in food. *Molecules* [Internet]. 2016 [cited 2023 Oct 5];21(9):1216. Available from: <https://www.mdpi.com/1420-3049/21/9/1216>
25. Muhialdin Mula Hasan B, Osman F, Muhamad R, Che Wan Nur Safraa Che Wan Sapawi, Anzian A, Voon WWY, et al. Effects of sugar sources and fermentation time on the properties of tea fungus (kombucha) beverage. 2019 [cited 2023 Oct 5]; Available from: <https://www.semanticscholar.org/paper/6406e72f91706183ccfaecd1b45ae0c7dcedd0e0>

26. Zubaidah E, Ifadah RA, Afgani CA. Changes in chemical characteristics of kombucha from various cultivars of snake fruit during fermentation. IOP Conf Ser Earth Environ Sci [Internet]. 2019 [cited 2023 Oct 7]; 230:012098. Available from: <http://dx.doi.org/10.1088/1755-1315/230/1/012098>
27. Wang B, Rutherford-Markwick K, Naren N, Zhang X-X, Mutukumira AN. Microbiological and physico-chemical characteristics of black tea kombucha fermented with a New Zealand starter culture. Foods [Internet]. 2023 [cited 2023 Oct 8]; 12(12):2314. Available from: <https://www.mdpi.com/2304-8158/12/12/2314>
28. Kayisoglu S, Coskun F. Determination of physical and chemical properties of kombucha teas prepared with different herbal teas. Food Sci Technol [Internet]. 2021 [cited 2023 Oct 9]; 41(suppl 1):393–7. Available from: <https://www.scielo.br/j/cta/a/cyBffgtmqR6nRDMhkKKDjBD/>
29. Bishop P, Pitts ER, Budner D, Thompson-Witrick KA. Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the chemical and flavor profile. Food Chemistry Advances [Internet]. 2022 [cited 2023 Oct 9]; 1(100025):100025. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772753X22000144>
30. Kovacevic Z, Davidovic G, Vučković-Filipović J, Janićijević-Petrović M, Janicijevic K, Popovic A. A toxic hepatitis caused the kombucha tea – case report. Maced J Med Sci [Internet]. 2014 [cited 2023 Oct 9]; 7(1). Available from: <https://scidar.kg.ac.rs/handle/123456789/9393>
31. Chakravorty S, Bhattacharya S, Chatzinotas A, Chakraborty W, Bhattacharya D, Gachhui R. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. Int J Food Microbiol [Internet]. 2016 [cited 2023 Oct 11]; 220:63–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26796581/>
32. Wang B, Rutherford-Markwick K, Zhang X-X, Mutukumira AN. Isolation and characterisation of dominant acetic acid bacteria and yeast isolated from Kombucha samples at point of sale in New Zealand. Curr Res Food Sci [Internet]. 2022 [cited 2023 Oct 12]; 5:835–44. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2665927122000715>
33. Aung T, Eun J-B. Impact of time and temperature on the physicochemical, microbiological, and nutraceutical properties of laver kombucha (*Porphyra dentata*) during fermentation.

- Lebenson Wiss Technol [Internet]. 2022 [cited 2023 Oct 15]; 154(112643):112643.
Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643821017965>
34. Emiljanowicz KE, Malinowska-Pańczyk E. Kombucha from alternative raw materials – The review. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. 2020 [cited 2023 Oct 15];60(19):3185–94.
Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2019.1679714>
35. Dutta H, Paul SK. Kombucha Drink: Production, Quality, and Safety Aspects. In: Grumezescu AM, Holban AM, editors. *Production and Management of Beverages*. Elsevier; 2019 [cited 2023 Oct 17] p. 259–88. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128152607000080>
36. Yang J, Lagishetty V, Kurnia P, Henning SM, Ahdoot AI, Jacobs JP. Microbial and chemical profiles of commercial kombucha products. *Nutrients* [Internet]. 2022 [cited 2023 Oct 17];14(3):670. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/14/3/670>
37. Chong AQ, Lau SW, Chin NL, Talib RA, Basha RK. Fermented beverage benefits: A comprehensive review and comparison of kombucha and Kefir microbiome. *Microorganisms* [Internet]. 2023 [cited 2023 Oct 19];11(5):1344. Available from:
<https://www.mdpi.com/2076-2607/11/5/1344>
38. Aboulwafa, Youssef, Gad, Altyar, Al-Azizi, Ashour. A comprehensive insight on the health benefits and phytoconstituents of *Camellia sinensis* and recent approaches for its quality control. *Antioxidants (Basel)* [Internet]. 2019 [cited 2023 Oct 19];8(10):455.
Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3921/8/10/455>
39. Battikh H, Chaieb K, Bakhrouf A, Ammar E. Antibacterial and antifungal activities of black and green kombucha teas: Antimicrobial activities of fermented teas. *J Food Biochem* [Internet]. 2013 [cited 2023 Nov 3];37(2):231–6. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4514.2011.00629.x>
40. Marsh AJ, O’Sullivan O, Hill C, Ross RP, Cotter PD. Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiol* [Internet]. 2014 [cited 2023 Nov 3];38:171–8. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24290641/>
41. Tran T, Grandvalet C, Verdier F, Martin A, Alexandre H, Tourdot-Maréchal R. Microbiological and technological parameters impacting the chemical composition and

sensory quality of kombucha. *Compr Rev Food Sci Food Saf* [Internet]. 2020 [cited 2023 Nov 3];19(4):2050–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12574>