

PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES DO EXTRATO E DE MICRO- ORGANISMOS PRESENTES NO CHÁ KOMBUCHA

AMANDA RADMANN BERGMANN¹; JÚLIA SOMMER CANABARRO²;
FRANCIELE NUNES³; SIMONE PIENIZ⁴

¹Universidade Federal de Pelotas – amandarbergmann@outlook.com

²Universidade Federal de Pelotas – juliasommer@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – fraannv2012@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – nutrisimone@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

O chá fermentado kombucha produzido a partir das folhas de *Camellia sinensis* (chá verde) é consumido há muitos anos, porém somente nos últimos tempos que tem ganho exacerbada importância. A kombucha é uma bebida refrescante e agridoce, seu sabor é obtido pela presença de ácidos orgânicos e de açúcares em sua composição e consiste na preparação de um chá fermentado (Santos, 2016) por uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras (Greenwalt, 2000), que deve ser fermentada entre 7 e 21 dias (Caili Fu, 2014), a qual pode conter pelo menos 40 micro-organismos probióticos em sua composição.

Esta bebida tem ganhado enorme atenção devido as suas propriedades benéficas para a saúde humana, apesar de não ter comprovação científica conclusiva sobre esse aspecto, estudos em organismos e células tem demonstrado benefícios quanto ao uso deste chá fermentado. Dentre estes efeitos benéficos destacam-se a redução do nível de colesterol, promoção do bom funcionamento do fígado, prevenção de problemas digestivos e circulatórios, aumento da resistência ao câncer, retardo do envelhecimento, melhora do metabolismo e da visão, redução da incidência de inflamações, entre outros efeitos (Santos, 2016).

Vázquez (2017) relata que o chá kombucha apresenta diversas atividades antioxidantes devido à presença dos compostos polifenólicos em sua composição (Bellassoued, 2015). Os antioxidantes podem ser definidos como qualquer substância que, presente em baixas concentrações, quando comparada a um substrato oxidável, retarda ou inibe a oxidação desse substrato de maneira eficaz. O sistema de defesa antioxidante é formado por compostos enzimáticos e não-enzimáticos, tais como o α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno, ascorbato (vitamina C) e os compostos fenólicos (flavonoides) (Halliwell, 2001).

Os radicais livres ou espécies redoxi-ativas são átomos ou moléculas que possuem um ou mais elétrons não pareados na sua órbita externa, geralmente formados pela perda ou ganho de elétrons (oxirredução). Em meio biológico, a maioria das moléculas não se encontram na forma de radicais, permanecendo com elétrons pareados. Entretanto, em determinadas situações, as espécies redoxi-ativas são formadas e podem causar efeitos fisiológicos e patológicos (Halliwell & Gutteridge, 2006), contribuindo para o envelhecimento precoce e a instalação de doenças degenerativas como câncer, aterosclerose, artrite reumática, entre outras (Jacob & Burri, 1996), possivelmente por desestabilização das membranas (Mora et al., 1990), dano oxidativo no DNA (Takabe et al., 2001) e oxidação da lipoproteína de baixa intensidade (LDL).

Por ser uma bebida pouco difundida entre a população brasileira este estudo apresenta extrema relevância, pois ainda são desconhecidos os reais

efeitos antioxidantes presentes no chá, bem como o efeito antioxidante apresentado pelos micro-organismos probióticos presentes no chá. Desta forma, o presente estudo teve por objetivo avaliar as propriedades antioxidantes presentes no chá verde e no chá kombucha produzido em diferentes tempos de fermentação (artesanal (KA) e industrial (KI) – 7, 14 e 21 dias), bem como a capacidade antioxidante dos gêneros bacterianos presentes nos diferentes chás analisados.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O chá verde (*Camellia sinensis*) foi obtido no comércio local da cidade de Pelotas, na forma liofilizada (sachês de 10g). Já o scoby, uma colônia flutuante de bactérias e leveduras (produzida de forma artesanal), foi obtido por doação de consumidores assíduos de chá kombucha, oriundos do estado do Paraná-PR.

Em seguida, foi realizada a preparação dos extratos de chá verde e a preparação dos chás kombucha: artesanal e industrial. O extrato de chá verde foi preparado a partir da infusão de 2 sachês – aproximadamente – 10g de chá verde, em 400 ml de água fervente, as amostras permaneceram sob infusão por 20 minutos. O chá kombucha artesanal (KA) foi preparado em triplicata a partir da infusão de 2 sachês – aproximadamente 10g – de chá verde, em 500ml de água fervente e 25g de sacarose, homogeneizado em seguida. As três amostras foram deixadas sob infusão, à temperatura ambiente, até que retornassem a temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 2$). Após o resfriamento, foi adicionado o scoby (~5x5cm) em cada uma das três amostras. Por fim, foi acrescentado 1 colher de sobremesa de vinagre branco de maçã às três amostras. O chá kombucha do tipo industrial (KI) foi preparado em triplicata a partir da infusão de 2 sachês – aproximadamente 10g – de chá verde, obtido comercialmente, em 400ml de água fervente; as amostras permaneceram sob infusão por 20 minutos e, então, adoçadas com 20g de sacarose cada. As infusões foram então filtradas usando papel filtro e, posteriormente, uma alíquota de 200ml de chá açucarado filtrado foram vertidos em um balão Erlenmeyer de 500ml, seguido de esterilização a 115°C em autoclave, durante 15 minutos. Após a obtenção da infusão a temperatura ambiente, foi adicionado as amostras o scoby formado a partir de fermentações anteriores (~5x5cm). O chá KA permaneceu sob fermentação por 21 dias, enquanto que o chá KI permaneceu sob fermentação por 4 dias sob agitação a 20 rpm a uma temperatura de 25°C . Logo após a preparação dos extratos, ocorreu o isolamento dos micro-organismos dos chás KA e KI (bactérias ácido lácticas e leveduras). Também foi realizada a preparação do sobrenadante livre de células proveniente das bactérias e leveduras isoladas de ambos os chás kombucha.

O método DPPH utilizado foi descrito por Brand-Williams et al. (1995), baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 515nm.

A Reação ao Ácido Tiobarbitúrico foi determinada de acordo com a metodologia de Ohkawa et al. (1979).

Os dados foram analisados utilizando a análise de variância (ANOVA) e o teste de comparação de médias (teste Tukey), tomando como base os níveis de significância maiores que 95% ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiramente, a produção do chá KA foi realizada ao longo dos 21 dias (7, 14 e 21 dias), conforme descrito anteriormente. Por meio dos resultados obtidos,

observou-se que todos os extratos apresentaram capacidade do sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) em relação ao controle ($p < 0,0001$). Observou-se ainda, que não houve diferença significativa entre os extratos 7, 14 e 21 dias. De acordo com Jayabalan (2014), a atividade antioxidante do chá kombucha ocorre devido à presença de polifenóis e ácido ascórbico.

Posteriormente, foram realizadas análises com os extratos de chá verde, chá KA e chá KI. Observou-se que todos os extratos apresentaram capacidade antioxidante em relação ao controle e, da mesma forma, observou-se que os extratos de KA e KI diferiram significativamente do extrato de chá verde ($p < 0,0001$), demonstrando maior capacidade de sequestro do radical DPPH.

Quanto a análise da capacidade antioxidante do sobrenadante livre de células das bactérias ácido lácticas e leveduras isoladas do chá KA, observou-se que todos os micro-organismos apresentaram capacidade antioxidante frente ao radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil). Observou-se ainda que, as leveduras apresentaram maior capacidade antioxidante em relação as bactérias ácido lácticas.

Segundo Caili Fu (2014), ao analisar amostras de chá kombucha preparado a partir de chá verde e chá preto, observou que o chá kombucha proveniente de chá verde apresentou maior capacidade de sequestro do radical DPPH (88%) no 18º dia de fermentação (Jayabalan et al., 2008).

Da mesma forma, verificou-se que ambas as bactérias ácido lácticas e leveduras isoladas do chá KI apresentaram capacidade antioxidante frente ao radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil).

Segundo estudo de Poffo (2011), para que a fermentação dos alimentos seja eficaz e livre de contaminações, as bactérias ácido lácticas devem ser utilizadas como culturas iniciadoras, nas quais são inicialmente isoladas, cultivadas e posteriormente introduzidas no alimento que se deseja fermentar, conferindo assim, atividade antioxidante.

No presente estudo, foi avaliada a capacidade de inibição da peroxidação lipídica do chá KA. Por meio dos resultados obtidos, observou-se capacidade antioxidante significativa no período de 7, 14, 21 dias ($p < 0,0001$) quando comparadas ao controle, não havendo diferença significativa entre as amostras analisadas. Pode-se observar que todas as amostras de chá verde, KA e KI apresentaram capacidade antioxidante por meio da Reação ao Ácido Tiobarbitúrico ($p < 0,0001$) em relação ao controle.

O chá kombucha segundo estudos, contém quantidade significativa de antioxidantes, principalmente devido a ação de oxido-redução, que os permite a atuarem como agentes redutores ou doadores de hidrogênio (Williams et al., 2004; Arçari, 2009; Coton, 2016). Avaliando sob esse contexto, ambos os chás kombucha no presente estudo, demonstraram capacidade de inibir a peroxidação lipídica.

Observou-se ainda que, nesta análise, o chá verde apresentou maior capacidade antioxidante em relação as amostras de KA e KI ($p < 0,0001$). Quanto a análise da inibição da peroxidação lipídica verificou-se que todas as amostras de KA e KI de bactérias ácido lácticas e leveduras apresentaram capacidade antioxidante significativa em relação ao controle ($p = 0,0002$ e $p = 0,0011$, respectivamente).

4. CONCLUSÃO

Os resultados encontrados no presente estudo demonstram que o chá kombucha produzido a partir da infusão de chá verde tanto na forma artesanal (KA) quanto industrial (KI), possui potencial antioxidante significativo em todas as

amostras analisadas pelos diferentes métodos. Assim, conclui-se que as propriedades antioxidantes encontradas em ambos os chás kombucha, demonstram que o consumo deste poderá, possivelmente, proporcionar efeitos benéficos a saúde humana.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARÇARI, D.P.; BARTCHEWSKY, W. S.; OLIVEIRA, K.A.; PEDDRAZZOLI, J. S.; SAAD, M. F.; BASTOS, D. H.; GAMBERO, A.; CARVALHO, P. O.; RIBEIRO, M. L. Antiobesity effects of Yerba maté extract (*Ilex paraguariensis*) in high-fat diet-induced obese mice. **Obesity**, v.12, p. 2127-2133, 2009.
- BELLASSOUED, K.; GHARAB, F.; MAKNI - AYADI, F.; PELT, J.V.; ELFEKI, A.; AMMAR, E. Protective effect of kombucha on rats fed a hypercholesterolemic diet is mediated by its antioxidant activity. **Pharmaceutical Biology- Informa healthcare**, p. 1-11, 2015.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm Wiss Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- COTON, M.; PAWTOWSKI, A.; TAMINIAU, B.; BURGAUD, G.; DENIEL, F.; COULLOUME-LABARTHE, L.; FALL, P.A.; DAUBE, G.; COTON, E. Unravelling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture based methods. **Technopôle de Brest Iroise**, v.1, n.1, p. 1- 41, 2016.
- FU, C.; YAN, F.; CAO, Z.; XIE, F.; LIN, J. Antioxidant activities of kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotics during storage. **Food Science and Technology**, v. 34, n. 1, p. 123-126, 2014.
- GREENWALT, C. J.; STEINKRAUS, K. H.; LEDFORD, R. A. Kombucha, the Fermented Tea: Microbiology, Composition, and Claimed Health Effects. **Journal of Food Protection**, v. 63, n. 7, p. 976–981, 2000.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radical in Biology and Medicine**. 3 ed. Oxford: Oxford University, 2006.
- JACOB, R.A.; BURRI, B. Oxidative damage of defense. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 63, p. 985-990, 1996.
- MORA, A. et al. Structure -activity relationship of polymetroxyflavones and other flavonoids as inhibitors of non-enzymic lipid peroxidation. **Biochemistry Pharmacology**, v. 40, p. 793-797, 1990.
- OHKAWA, H.; OHISHI, H.; YAGI, K. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, p. 351-358, 1979.
- SANTOS, M. **Kombucha: caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração**. 2016. 119 f. Dissertação (mestrado em Ciências Gastronômicas) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa. 2016.
- TAKABE, W. et al. Oxidative stress promotes the development of transformation: involvement of a potent mutagenic lipid per oxidation product acrolein. **Carcinogenesis**, v. 22, p. 935-941, 2001.
- VÁZQUEZ, B.D.; LARROSA, M.P.; GALLEGOS, J.A.; MORENO, M.R.; GONZÁLEZ, R.F.; RUTIAGA, J.G.; GAMBOA, C.I.; ROCHA, N.E. Oak kombucha protects against oxidative stress and inflammatory processes. **Chemico-Biological Interactions**, v. 272, p. 1-9, 2017.
- WILLIAMS, A.M.; HODGES, N.J.; NORTH, J.S.; BARTON, G. Perceiving patterns of play in dynamic sport tasks: investigating the essential information underlying skilled performance. **Perception**, v. 35, n. 3, p. 317-32, 2004.