

CHÁ VERDE VS KOMBUCHA: COMPOSIÇÃO FENÓLICA E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

JORDAN TEIXEIRA OLIVEIRA¹; FERNANDA MACHADO DA COSTA²; SIMONE PIENIZ³; PAULO SCHENKEL⁴

¹Universidade Federal de Pelotas – jordan_teixeira@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – fernandynhanut@yahoo.com.br

³Universidade Federal de Pelotas – nutrisimone@yahoo.com.br

⁴Universidade Federal de Pelotas – schenkel.paulo@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O chá verde é uma bebida milenar produzida a partir das folhas e brotos da *Camellia sinensis*, planta que também dá origem ao chá branco e chá preto, e possui alta concentração de compostos fenólicos, conferindo a bebida elevado potencial antioxidante e terapêutico, como atividade antiinflamatória, antibacteriana, anticâncer, entre outras (BARBALHO et al., 2019; LIU ET AL., 2020).

Já a kombucha, é uma bebida obtida através da fermentação do chá verde ou do chá preto, utilizando bactérias e leveduras como inóculo, conhecido como SCOBY (Colônia Simbiótica de Bactérias e Leveduras), e açúcar, que serve como substrato para a fermentação microbiana (AL-MOHAMMADI et al., 2021). Sob condições aeróbicas, a combinação de chá, açúcar e SCOBY são transformadas no período de 7 a 10 dias em uma bebida ácida, moderadamente gaseificada e refrescante, apresentando diversos ácidos orgânicos, como ácido acético, ácido gluconico e ácido glicurônico, além de alterações na composição dos compostos fenólicos do chá, devido a atividade enzimática microbiana, alterando o potencial bioativo da bebida (MALBAŠA et al., 2011; JAKUBCZYK et al., 2020).

Estudos comparativos entre a composição fenólica e a capacidade antioxidante do chá verde e da kombucha preparada a partir de chá verde são escassos, além de apresentarem resultados conflitantes. Portanto, o presente estudo teve como objetivo analisar a caracterização fenólica e antioxidante do chá verde e da kombucha.

2. METODOLOGIA

Preparo do chá verde e da kombucha

As folhas de chá verde foram adquiridas comercialmente da marca Yamamotoyama® (China). Todos os recipientes utilizados no preparo foram previamente esterilizados a 121 °C por 15 min. O chá foi preparado utilizando 1 L de água e 10 g L⁻¹ de folhas secas, as quais permaneceram em infusão por 7 min em água a 85 °C, e então, coadas em filtro de náilon. O chá foi preparado no momento de uso, tanto para as análises quanto para o preparo da kombucha. Já a kombucha foi adquirida comercialmente, pronta para consumo, da marca Viva Mais®, acondicionada em embalagens plásticas lacradas, sendo utilizados os métodos descritos a seguir em seu preparo. Todos os recipientes utilizados no preparo foram previamente esterilizados a 121 °C por 15 min. O SCOBY (Colônia Simbiótica de Bactérias e Leveduras), da mesma marca (Viva Mais®), foi inoculado com seu líquido de partida (100 mL) em chá verde previamente preparado, conforme descrito no item anterior, e adicionado sacarose (60 g L⁻¹). O recipiente

foi recoberto com tecido poroso para evitar contaminação e deixado em temperatura ambiente (24 ± 2 °C) durante 7 dias (Kallel et al., 2012; Chakravorty et al., 2016). Após decorrido os 7 dias, a fermentação foi interrompida e a kombucha foi envazada em embalagens estéreis e mantidas sob refrigeração a 5 °C (KALLEL et al., 2012).

Quantificação de compostos fenólicos totais pelo método Folin-Ciocalteu

Foram homogeneizadas 0,5 mL de kombucha e de chá verde e adicionados 20 mL de metanol (Synth®). As amostras foram centrifugadas a 10000 rpm por 15 min. Foram coletados 250 µL do sobrenadante e adicionados às amostras 4 mL de água destilada e 250 µL de Folin-Ciocalteu (Merck®) (1:1). Os tubos foram agitados e após 5 min foram adicionados 0,5 mL de Na₂CO₃ (Sigma®) (7%). Após 2 h, a absorbância foi medida a 725 nm. As quantidades de fenóis totais nas amostras foram quantificadas por meio de uma curva padrão preparada com ácido gálico entre as concentrações de 10 a 100 µg mL⁻¹. A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada em triplicata e os resultados expressos em µg de ácido gálico por mL de amostra (µg mL⁻¹) (SWAIN e HILLIS, 1959).

Determinação da capacidade antioxidante pelo método 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)

O DPPH (Sigma®) foi utilizado na concentração de 0,06 mM, dissolvido em álcool metílico (Synth®). A solução foi homogeneizada e transferida para um frasco de vidro âmbar. Em ambiente escuro, foi transferida uma alíquota de 0,1 mL de amostra para tubos de ensaio com 3,9 mL do radical DPPH (item solução de DPPH 0,06 mM) e homogeneizada. Após o preparo, as soluções foram armazenadas em ambiente escuro por 45 min. Foi utilizado 0,1 mL de uma solução controle (álcool metílico 50%) (40 mL), acetona 70% (Merck®) (40 mL) e água (20 mL), com 3,9 mL do radical DPPH, para então ser homogeneizado e armazenado no escuro por 45 min. Foi utilizado álcool metílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro. As leituras (515 nm) foram monitoradas a cada minuto, onde foi observada a redução da absorbância até sua estabilização. A curva padrão foi realizada a partir da solução inicial de DPPH (60 µM), variando a concentração de 10 µM a 50 µM. Cada uma destas soluções de DPPH (10 µM, 20 µM, 30 µM, 40 µM, 50 µM e 60 µM) foi armazenada em ambiente escuro por 45 min, sendo então transferidas para cubetas de vidro, onde foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 515 nm. Os resultados foram expressos em EC₅₀ (µg mL⁻¹). O experimento foi realizado em triplicata com três repetições independentes (BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

Determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Neste estudo utilizou-se o chá verde e a kombucha em suas formas naturais e, da mesma forma, neutralizados (pHs 7,0), sendo ajustados com NaOH 1 M ou HCl 1 M (KAEWKOD et al., 2019). Primeiramente, foi incubado em banho maria a 80 °C tubos de ensaio contendo água Mili Q, Azeite de Oliva Extra Virgem submetidos à oxidação por 100 µM de sulfato ferroso, por 10 min. Posteriormente, foi adicionado em cada tubo 400 µL de chá verde, kombucha ou água destilada (controle), Lauril Sulfato de Sódio (SDS) 8,1%, Tampão de Ácido Acético pH 3,44 e Ácido Tiobarbitúrico (TBA) 0,6% e, em seguida, incubado novamente em banho maria a 100 °C por 1 h. Os produtos da reação foram determinados por medida de absorbância em 532 nm, em espectrofotômetro. A concentração de TBARS foi calculada por meio de uma curva padrão, concentrações conhecidas de 1,1,3,3 –

tetrametoxipropano, e os resultados foram expressos em nmol de Malonaldeído (MDA)/mL de amostra. A curva padrão é composta por concentrações de água destilada, MDA 0,03 mM, SDS 8,1%, Tampão de ácido acético pH 3,44 e TBA 0,6% e incubados em banho maria à 100 °C, por 1 h. O experimento foi realizado em triplicata com três repetições independentes (OHKAWA et al., 1979).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Compostos fenólicos totais do chá verde e da kombucha

O chá verde apresentou concentração total de compostos fenólicos de 0,569 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de ácido gálico; já a kombucha apresentou concentração total de 0,535 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de ácido gálico, não havendo diferença significativa entre as amostras ($p > 0,05$), similar aos resultados encontrados por KAEWKOD et al. (2019) ao 7º dia de fermentação.

Capacidade antioxidante do chá verde e da kombucha

O chá verde e a kombucha apresentaram capacidade antioxidante significativa (EC_{50} 0,051 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e EC_{50} 0,178 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente), quando comparados ao controle (EC_{50} 0,808 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Entretanto, o chá verde apresentou maior capacidade inibitória do radical DPPH que a kombucha ($p < 0,05$).

A cultura utilizada para fermentação da kombucha pode apresentar variação na composição microbiológica de acordo com sua origem, localização geográfica, clima e meio empregado para o processo de fermentação, o que pode explicar a variação de compostos bioativos e da capacidade antioxidante do produto final, assim como o tempo de fermentação empregado (MALBAŠA et al., 2011; WATAWANA et al., 2015).

Quanto aos resultados da análise da reação as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), observou-se que quando as bebidas foram avaliadas em sua forma natural, o chá verde apresentou significativa capacidade de inibição da peroxidação lipídica (2204,25 nmol/ml de MDA), quando comparado ao controle (3197 nmol/ml de MDA), demonstrando capacidade antioxidante ($p < 0,05$), enquanto que a kombucha exibiu capacidade pró-oxidante (3422 nmol/ml de MDA) em relação ao controle ($p < 0,05$). Na análise das amostras de chá verde e de kombucha com seus pHs neutralizados (7,0), ambas as bebidas apresentaram redução significativa ($p < 0,5$) da peroxidação lipídica (2140,3 e 2787,93 nmol/ml de MDA, respectivamente), quando comparadas ao controle (4099,03 nmol/ml de MDA). Entretanto, o chá verde apresentou potencial antioxidante superior a kombucha ($p < 0,05$).

A ausência de atividade inibitória da peroxidação lipídica exercida pela kombucha em sua forma natural, na análise *in vitro* de TBARS observada no presente estudo, pode ser explicada pelo seu baixo pH (2,15). AMORATI et al. (2006) verificaram que os ácidos fenólicos e ésteres, em meio ácido (pH 4,0), apresentaram baixa capacidade de inibição da peroxidação lipídica, enquanto a elevação do pH aumentou de forma expressiva sua capacidade antioxidante.

4. CONCLUSÕES

Pode-se concluir que o chá verde e a kombucha são bebidas ricas em compostos fenólicos e apresentam elevada atividade antioxidante, com efeito superior exercido pelo chá verde. O SCOBY utilizado na produção da kombucha pode apresentar variações em sua composição microbiológica de acordo com sua

origem, clima e meio empregado para o processo fermentativo, o que pode explicar as variações no teor fenólico e na atividade bioativa entre as bebidas encontradas no presente estudo e na literatura.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-MOHAMMADI, AR.; ISMAIEL, AA.; IBRAHIM, RA.; MOUSTAFA, AH.; ABOU, ZEID A.; ENAN, G. Chemical Constitution and Antimicrobial Activity of Kombucha Fermented Beverage. **Molecules**, v. 26, p. 5026-5043, 2021.
- AMORATI, R.; PEDULLI, G. F.; CABRINI, L.; ZAMBONIN, L.; LANDI, L. Solvent and pH effects on the antioxidant activity of caffeic and other phenolic acids. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, p. 2932–2937, 2006.
- BARBALHO, S.; BOSSO, H.; SALZEDAS-PESCININI, L.; GOULART, R. Green tea: A possibility in the therapeutic approach of inflammatory bowel diseases?: Green tea and inflammatory bowel diseases. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 43, p. 148-153, 2019.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm Wiss Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- JAKUBCZYK, K.; KALDUŃSKA, J.; KOCHMAN, J.; JANDA, K. Chemical Profile and Antioxidant Activity of the Kombucha Beverage Derived from White, Green, Black and Red Tea. **Antioxidants**, v. 9, p. 447-461, 2020.
- KALLEL, L. et al. Insights into the fermentation biochemistry of Kombucha teas and potential impacts of Kombucha drinking on starch digestion. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 226-232, 2012.
- LIU, Y.; WANG, X.; CHEN, Q.; LUO, L.; MA, M.; XIAO, B.; ZENG, L. Camellia sinensis and Litsea coreana Ameliorate Intestinal Inflammation and Modulate Gut Microbiota in Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis Mice. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 64, p. 17-27, 2020.
- SHARANGI, A. Medicinal and therapeutic potentialities of tea (Camellia sinensis L.) – A review. **Food Research International**, v. 42, p. 529-535, 2009.
- MALBAŠA, R. V.; LONCAR, E. S.; VITAS, J. S.; CANADANOVIC-BRUNET, J. M. Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. **Food Chemistry**, v. 127, p. 1727-1731, 2011.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, p. 351-358, 1979.
- SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of prunus domestica. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 10, p. 63-68, 1959.
- WATAWANA, M.; JAYAWARDENA, N.; GUNAWARDHANA, C.; WAISUNDARA, V. Health, wellness, and safety aspects of the consumption of kombucha. **Journal of Chemistry**, v. 1, p. 1–11, 2015.