



Área: Ciência de Alimentos

IMPACTO DO TEMPO DE FERMENTAÇÃO NO pH E TEOR DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES DE KOMBUCHAS

Samuel Teixeira Lopes^{a*}, Julia Pedó Gutkoski, Kátia Bitencourt Sartor, Elionio Galvão Frota, Bruna Krieger Vargas, Telma Elita Bertolin

a. Laboratório de Bioquímica e Bioprocessos, Curso de Engenharia Química, Universidade de Passo Fundo, RS.

**E-mail: samueltlopes1@gmail.com*

RESUMO – A kombucha é uma bebida feita através da fermentação de chás adoçados realizada por uma cultura de leveduras e bactérias ácido-acéticas. São reivindicadas diversas propriedades benéficas quanto ao seu consumo na promoção da saúde. Essas propriedades estão relacionadas com a presença de substâncias bioativas presentes nos chás utilizados no preparo desta bebida. Embora os chás mais comuns para o preparo de kombucha sejam os chás preto e verde, pode-se também utilizar a erva-mate devido aos seus compostos antioxidantes. Dado o exposto, o objetivo deste trabalho foi analisar o comportamento da fermentação no teor de compostos fenólicos, atividade antioxidante e pH de kombuchas preparadas a partir de diferentes chás. Para isso, a fermentação de chás verde, preto e erva-mate foi acompanhada ao longo de 15 dias. Observou-se que ao final da fermentação a kombucha de chá verde obteve os maiores valores de atividade antioxidante (4,490 $\mu\text{mol Trolox/mL}$), e compostos fenólicos (0,802 mg EAG/mL), com diferença significativa frente às kombuchas de chá preto e erva-mate, que apresentaram, respectivamente, valores de 1,698 e 3,059 $\mu\text{mol Trolox/mL}$ para atividade antioxidante e 0,364 e 0,485 mg EAG/mL para compostos fenólicos. Quanto ao pH, observou-se a diminuição deste com a ocorrência da fermentação, com o menor pH obtido no dia 15.

Palavras-chave: fitocompostos, polifenóis, bioatividade, *Ilex paraguariensis*, *Camellia sinensis*.

1 INTRODUÇÃO

A kombucha é uma bebida tradicional de países orientais, feita através da fermentação realizada por uma cultura simbiótica de leveduras e bactérias acéticas, denominada SCOBY, na qual utiliza-se chás (comumente chá preto ou verde) e açúcar como substrato (PALUDO, 2017). O campo de pesquisa nesta área vem crescendo, com relatos de que o consumo frequente de kombucha auxilia na saúde humana devido às suas propriedades funcionais, como redução da carcinogênese, diminuição da hiperglicemia, inibição de doenças cardiovasculares e estimulação do sistema autoimune (GREENWALT et al., 2000; KAPP & SUMMER, 2018). Essas propriedades estão relacionadas aos compostos bioativos, dentre os quais destacam-se os polifenóis, metabólitos amplamente presentes nos chás verde, preto e na erva-mate, que são estudados principalmente por conta de sua atividade antioxidante.

Segundo Jayabalan et al. (2014), a composição e o teor dos metabólitos presentes na kombucha depende majoritariamente do chá com que a bebida será fermentada e do tempo de fermentação. Além disso, as características sensoriais da kombucha variam de acordo com alguns fatores como a quantidade de açúcar utilizada, a temperatura, o tempo de fermentação e, também, o pH da bebida (PALUDO, 2017). Com base neste contexto, o objetivo deste trabalho foi verificar a influência do tempo de fermentação e o chá com o qual a kombucha é preparada nas alterações de pH, quantificação dos compostos fenólicos e na atividade antioxidante destas bebidas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo das kombuchas

A elaboração das kombuchas foi realizada de acordo com metodologia de Jayabalan et al. (2014) com adaptações. Em 1 L de água filtrada foram acrescentados 50 g de sacarose. Esta mistura foi fervida e então adicionou-se 5 g de chá (verde, preto ou erva-mate). A infusão dos chás ocorreu durante 4 horas. A solução resfriada (25 ± 3 °C) foi inoculada com 20% de cultura fermentada de kombucha (starter), mantendo a kombucha em repouso em frasco de vidro previamente esterilizado, coberto com papel toalha em sua abertura. A fermentação ocorreu até o 15º dia, em temperatura de 25 ± 5 °C.

2.2 Caracterização das kombuchas

Alíquotas das kombuchas foram coletadas nos tempos 1, 3, 6, 9, 12 e 15 dias da fermentação, sendo armazenadas a -20 ± 1 °C para posteriores análises. Realizaram-se quantificações das amostras quanto ao teor de compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante e avaliação do pH. Os ensaios foram feitos em triplicata.



2.2.1 Determinação do teor de compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais (CFT) foi realizado conforme a metodologia descrita por Correia (2004), com adaptações propostas por Sousa e Correia (2012). A análise foi realizada em espectrofotômetro UV-VIS, com leitura em comprimento de onda de 765 nm e os resultados foram avaliados com base em curva analítica de ácido gálico previamente construída. Os ensaios foram feitos em triplicata e os resultados expressos em mg de ácido gálico por mL de amostra (mg EAG/mL).

2.2.2 Determinação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante das kombuchas foi determinada conforme o método do potencial antioxidante redutor férrico (FRAP), descrito por Benzie e Strain (1996), com modificações propostas por Arnous et al. (2012). As amostras foram avaliadas em espectrofotômetro em comprimento de onda de 620 nm. Os resultados foram avaliados com base em uma curva analítica previamente construída e expressos em μmol equivalente a trolox por mL de amostra.

2.2.3 Determinação do pH

O pH das amostras de kombucha foi avaliado utilizando um medidor eletrônico de pH. Foram retiradas alíquotas de cada amostra nos dias 1, 3, 6, 9, 12 e 15 de fermentação, a fim de avaliar as variações no pH ao decorrer da fermentação.

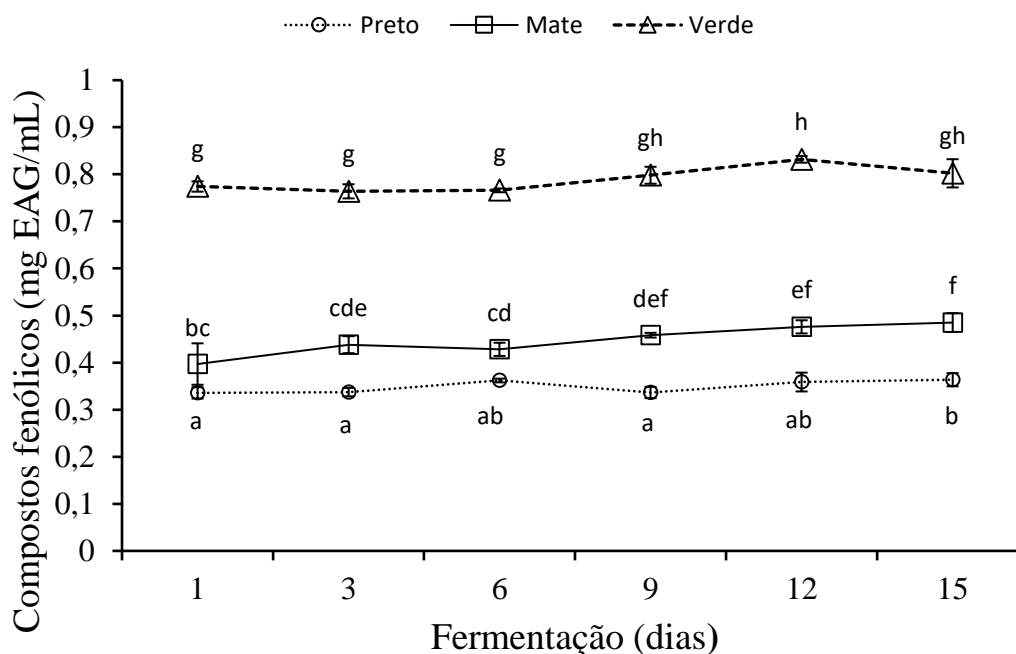
2.3 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e avaliação das médias com teste de Tukey. O grau de significância adotado foi de 95% ($p \leq 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apresenta-se na Figura 1 os resultados referentes ao teor de compostos fenólicos das kombuchas de chá preto, mate e verde durante o período de fermentação.

Figura 1 - Teor de compostos fenólicos totais das kombuchas ao longo da fermentação.



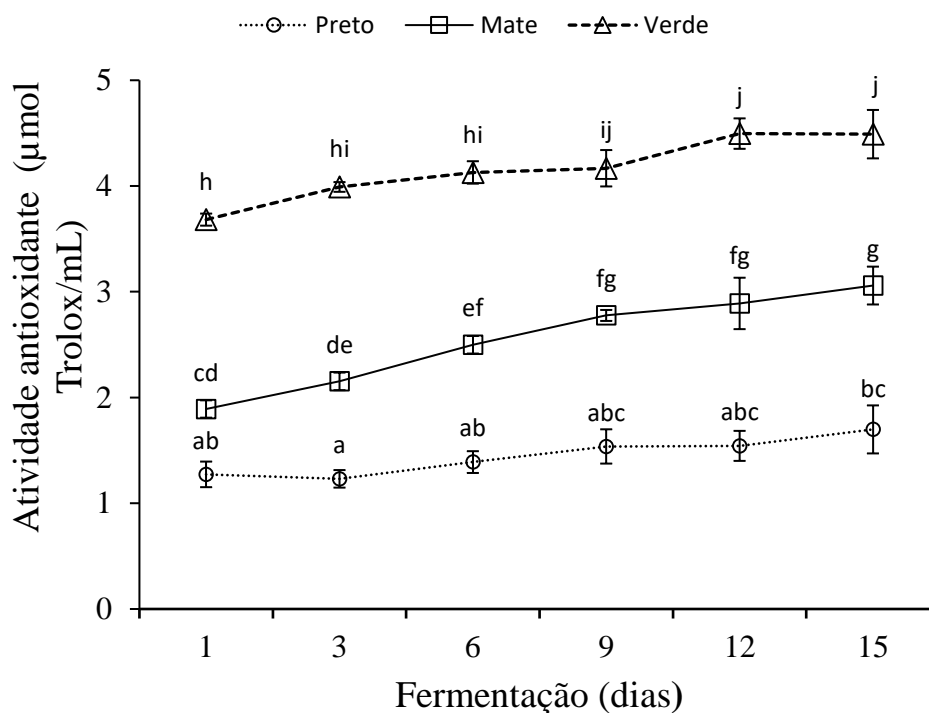
Resultados expressos em miligrama equivalente de ácido gálico por mL de amostra. Letras diferentes denotam diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$).



Pode-se observar que, para todos os tempos avaliados, o chá verde apresentou o maior teor de compostos fenólicos totais (CFT), com um valor de 0,802 mg EAG/mL no dia 15. Entretanto, não foi observada diferença significativa na quantificação de CFT ao longo do tempo de fermentação da kombucha deste chá ($p \leq 0,05$).

O chá preto, por sua vez, foi a matriz que apresentou a menor quantificação de compostos fenólicos e a erva-mate obteve valores intermediários. No 15º dia, quantificou-se 0,364 mg EAG/mL para a kombucha de chá preto e 0,485 mg EAG/mL para a kombucha de erva-mate, valores os quais aumentaram significativamente em comparação com os resultados do início da fermentação, quando quantificou-se 0,336 mg EAG/mL para a kombucha de chá preto e 0,397 mg EAG/mL para a kombucha de erva-mate. O principal motivo para a diferença significativa de CFT entre as três matrizes é que o conteúdo fenólico destas não é o mesmo (MALBAŠA et al., 2011). Nas folhas do chá verde, os compostos fenólicos de maior ocorrência são os derivados das catequinas, como o galato de epigalocatequina e o galato de epicatequina, enquanto no chá preto são as teaflavinas e tearubiginas, formadas durante a oxidação destas folhas (Pereira et al., 2014). Já na erva-mate, o principal fenólico presente é o ácido clorogênico (Colpo, 2012). Ademais, Pereira et al. (2014) quantificaram um maior teor de compostos fenólicos totais em amostras de chá verde em comparação ao chá preto, resultado que vai ao encontro dos obtidos neste trabalho.

Figura 2 - Atividade antioxidante das kombuchas pelo método do potencial antioxidante redutor férrico.



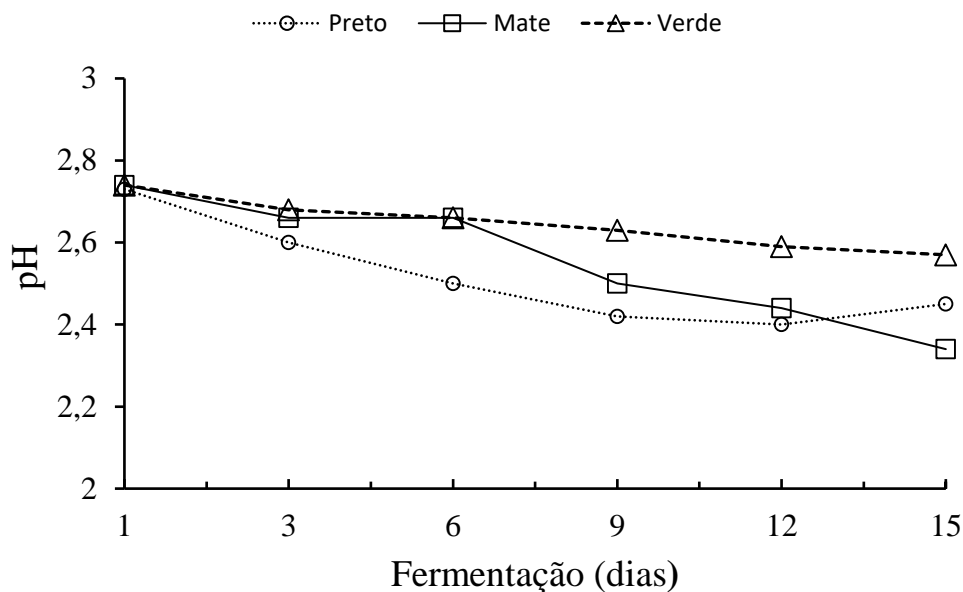
Resultados expressos em micromol de trolox por mL de amostra. Letras diferentes denotam diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$).

A capacidade antioxidante das kombuchas foi avaliada pelo método FRAP. A kombucha fermentada a partir do chá verde foi a amostra que apresentou os maiores valores de atividade antioxidante no dia 15 (4,490 µmol Trolox/mL), com diferença significativa frente às kombuchas de erva-mate e chá preto no último tempo (respectivamente 3,059 e 1,698 µmol Trolox/mL), que também diferiram entre si. Além disso, a atividade antioxidante no 15º dia de fermentação diferiu significativamente dos dias 1, 3 e 6 nas kombuchas de erva-mate e chá verde.

Pode-se perceber um aumento gradativo da capacidade antioxidante ao longo dos dias de fermentação, possivelmente relacionado a efeitos sinérgicos entre as enzimas microbianas e os compostos bioativos presentes nas matrizes estudadas, o que favorece a formação de compostos antioxidantes (VILLARREAL-SOTO et al., 2019). Malbaša et al. (2011) relataram que com a ocorrência da fermentação, novos compostos bioativos são formados, o que pode conferir maior atividade antioxidante às kombuchas, quando comparadas com os chás antes da fermentação.

O pH foi avaliado durante toda a etapa de fermentação e os resultados obtidos estão apresentados na Figura 3.

Figura 3 - Comportamento do pH das amostras de kombuchas ao longo da fermentação.



Como a kombucha é uma bebida obtida através da fermentação da sacarose e outros compostos presentes nos chás utilizados, sua composição apresenta um alto teor de ácidos orgânicos fracos, sendo o ácido acético e ácido glucônico aqueles de maior ocorrência (Paludo, 2017). Para o tempo 1, foram obtidos valores de 2,73, 2,74 e 2,74 para as kombuchas com chá preto, erva-mate e chá verde, respectivamente. Conforme a fermentação ocorreu, observou-se a diminuição do pH, demonstrando que a sacarose adicionada aos chás foi metabolizada pelos microrganismos presentes nas kombuchas, dessa forma aumentando o teor de ácidos orgânicos nas matrizes. Os pH's finais das amostras diferiram entre si, com valores de 2,45; 2,34 e 2,57 para os chás preto, mate e verde, respectivamente.

4 CONCLUSÃO

Observou-se que dentre as três preparações de kombuchas avaliadas neste estudo, a de chá verde apresentou os valores mais elevados de substâncias fenólicas e atividade antioxidante, demonstrando que a matriz utilizada na preparação desta bebida é um importante fator a ser levado em conta. Entretanto, a kombucha de chá verde não demonstrou modificações significativas no teor de CFT durante o período de fermentação, diferentemente das kombuchas de chá preto e erva-mate, nas quais ocorreu um aumento significativo destes compostos ao longo da fermentação. Além disso, constatou-se uma diminuição nos valores de pH nas três matrizes conforme a ocorrência da fermentação, relacionada à produção de ácidos orgânicos pelas bactérias acéticas presentes na bebida.

5 REFERÊNCIAS

- ARNOUS, A.; MAKRIS, D.; KEFALAS, P. Correlation of pigment and flavonol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 15, p. 655-665, 2002.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as measure of antioxidant power: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.
- COLPO, A. Z. C. Perfil fitoquímico e capacidade antioxidante de extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hill.), **Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Bioquímica - UNIPAMPA)**, 2012.
- CORREIA, R. T. P.; MCCUE, P.; MAGALHÃES, M. M.; MACÊDO, G.; SHETTY, K. Production of phenolic antioxidants by the solid-state bioconversion of pineapple was temixed with soy flour using *Rhizopus oligosporus*. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 2167-2172, 2004.
- 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, p. 976-981, 2000.
- JAYABALAN, R., MALBASA, R. V., LONCAR, E. S., VITAS, J. S., SATHISHKUMAR, M. A review on kombucha tea—microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, p. 538-550, 2014.
- KAPP, J. M.; SUMNER, W. Kombucha: A systematic review of the empirical evidence of human health benefit. **Annals of Epidemiology**, v. 30, p. 66-70, 2018.
- MALBAŠA, R. V. LONCAR, E. S., CANADANOVIC-BRUNET, J. M. Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. **Food Chemistry**, v. 127, p. 1727-1731, 2011.



PALUDO, N. Desenvolvimento e caracterização de kombucha obtida a partir de chá verde e extrato de erva-mate: processo artesanal e escala laboratorial, **Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos - UFRGS)**, 2017.

SOUSA, B. A.; CORREIA, R. T. P. Phenolic content, antioxidant activity and anti-amylolytic activity of extracts obtained from bioprocessed pineapple and guava wastes. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 29, p. 25-30, 2012.

VILLAREAL-SOTO, S. A.; BEAUFORT, S.; BOUJILA, J.; SOUCHARD, J.; RENARD, T.; ROLLAN, S.; TAILLANDIER, P. Impact of fermentation conditions on the production of bioactive compounds with anticancer, anti-inflammatory and antioxidant properties in kombucha tea extracts. **Process Biochemistry**, v. 83, p. 44-54, 2019.