



Área: Ciência de Alimentos

QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE KOMBUCHAS DE CHÁS VERDE, PRETO E ERVA-MATE

Júlia Pedó Gutkoski*, Kátia Bitencourt Sartor, Samuel Teixeira Lopes,
Elionio Galvão Frota, Bruna Krieger Vargas, Telma Elita Bertolin

Laboratório de Bioquímica e Bioprocessos, Curso de Engenharia Química, Departamento de Alimentos, Universidade de Passo Fundo, RS
*E-mail: 136213@upf.br

RESUMO – A kombucha é uma bebida obtida a partir da fermentação do chá de *Camellia sinensis* por uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras. No entanto, a erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é uma planta com perfil fitoquímico semelhante ao chá tradicionalmente utilizado na preparação da kombucha. Assim, o objetivo deste estudo foi comparar o teor de compostos fenólicos totais (CFT) em kombuchas preparadas a partir de chás verde, preto e erva-mate, antes e após fermentação. Para elaboração das kombuchas foram feitas infusões com 5 g dos respectivos chás e 50 g de sacarose. Após resfriamento, foram adicionadas às infusões 20% de líquido de cultura fermentada de kombucha (starter). Em seguida da inoculação, a fermentação ocorreu no abrigo de luz direta, em temperatura de 25 ± 5 °C durante 15 dias. A quantificação dos CFT foi realizada no tempo zero e 15 dias de fermentação através do método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteau. A kombucha de chá verde apresentou a maior quantificação de CFT dentre os três chás, sem diferença significativa entre o tempo inicial e final de fermentação, com um valor médio de 0,785 mg EAG/ml. Já as bebidas preparadas com chá preto e erva-mate demonstraram diferença significativa na quantificação dos CFT antes e após fermentação, sendo que a kombucha de chá preto apresentou a maior quantificação no tempo final (0,364 mg EAG/ml), enquanto a de erva-mate obteve valores médios de CFT (0,485 mg EAG/ml) também no tempo final. A kombucha é uma bebida que não só mantém como aumenta os CFT, tornando-a uma alternativa saudável para consumo.

Palavras-chave: alimentos funcionais; compostos bioativos; atividade antioxidante.

1 INTRODUÇÃO

A demanda por alimentos saudáveis e funcionais que além da nutrição ainda podem ocasionar em alguma vantagem à saúde dos consumidores, cresce a cada dia (ITAL, 2020). Já é bem estabelecida a associação entre uma dieta rica em produtos de origem vegetal e a redução do desenvolvimento de algumas doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (JIMENEZ-GARCIA et al., 2013). Neste contexto, a kombucha é um alimento que tem ganhado destaque no Brasil. Trata-se de uma bebida obtida através da infusão ou extrato de *Camellia sinensis*, que inclui os chás branco, verde e preto, adicionada de açúcares e fermentada por cultura simbiótica de bactérias e leveduras (SCOBY) microbiologicamente ativas (ABOULWAFA et al., 2019; BRASIL, 2019).

A kombucha tem sido associada a atividade regulatória do sistema gastrointestinal devido aos microrganismos presentes na bebida e seus benefícios à microbiota intestinal, a qual possui um importante papel ao estimular o sistema imunológico (BRUSCHI et al., 2018). Além disso, estudos demonstraram os efeitos dessa bebida para a saúde como atividade antioxidante (CHU; CHEN, 2006), antimicrobiana (SREERAMULU et al., 2000), anticancerígena (VILLAREAL-SOTO et al., 2019) e antidiabética (ALOULOU et al., 2012). Isso está relacionado à composição da matriz utilizada devido a presença de diversos compostos bioativos, como os fenólicos e catequinas presentes nos chás. Ao mesmo tempo, a fermentação e metabolização desses compostos possibilita a formação de outros compostos benéficos à saúde, como os ácidos acético e glicurônico (CARDOSO et al., 2020).

Tradicionalmente utiliza-se dos chás preto, verde ou branco, mas o extrato ou chá de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) também pode ser empregado para a produção da kombucha. Esta planta nativa de países da América do Sul, amplamente encontrada e consumida no Rio Grande do Sul, possui um papel cultural e econômico importante na região. Diversas substâncias bioativas, como saponinas, metilxantinas e compostos fenólicos, foram descritos na composição da erva-mate, responsáveis principalmente por sua ação antioxidante (HECK; DE MEJIA, 2007). Um aumento significativo de pesquisas com erva-mate nos últimos anos associam seu consumo a benefícios à saúde como prevenção do estresse oxidativo e promoção da saúde (BRACESCO, 2019). Devido a seu perfil fitoquímico semelhante ao encontrado no chá verde (*Camellia sinensis*), a erva-mate pode ser uma fonte alternativa na elaboração da kombucha.

Deste modo, com o intuito de ampliar o consumo da erva-mate para além do chimarrão, este trabalho teve como objetivo comparar a quantificação de compostos fenólicos de kombuchas feitas a partir de diferentes matrizes, como chá preto e verde (*Camellia sinensis*) e erva-mate (*Ilex paraguariensis*) antes e após a fermentação.



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. Uma solução de sacarose com concentração de 50 g/L foi preparada com água filtrada previamente levada a ebulação. Então, foram adicionados 5 g de chá (verde, preto ou erva-mate) adquiridos no mercado local, que permaneceram em infusão por 4 h, até o completo resfriamento do chá (20 ± 2 °C).

Após o resfriamento, a solução foi inoculada com 20% de cultura fermentada de kombucha, equivalente para cada tipo de chá e acondicionada em recipientes de vidro previamente esterilizados, coberto com papel toalha para permitir a transferência de gases da fermentação. A fermentação foi realizada em local arejado, ao abrigo da luz direta, em temperatura de 25 ± 5 °C, durante de 15 dias.

2.2 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 pelo método de Folin-Ciocalteau, com leitura em comprimento de onda de 765 nm, dos tempos inicial (zero dias) e final (15 dias) de fermentação. Os resultados foram quantificados com base em uma curva analítica previamente preparada utilizando ácido gálico como referência. Os ensaios foram feitos em triplicata e os resultados estão expressos em mg equivalentes a ácido gálico por mL de amostra (mg EAG/mL).

2.3 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey. O grau de significância adotado foi de 95% ($p\leq0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

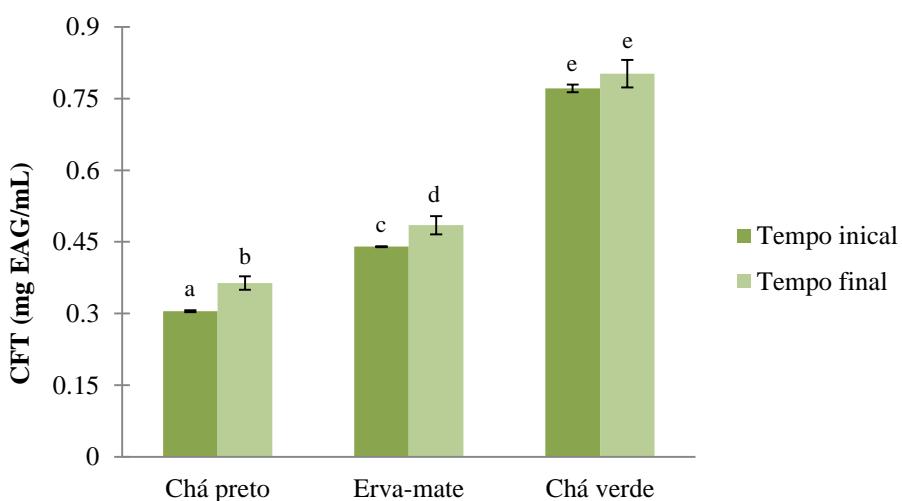
A quantificação dos CFT das três amostras de kombucha no dia 0 e no dia 15 estão apresentados na Figura I. O chá verde foi a matriz que obteve a maior quantificação de fenólicos tanto no tempo final quanto no inicial, sem diferença significativa entre eles, com média de 0,786 mg EAG/ml. A erva-mate e o chá preto obtiveram os maiores valores no tempo final (0,485 e 0,364 mg EAG/ml) e, no tempo inicial, os menores valores (0,440 e 0,305 mg EAG/ml). A kombucha é uma mistura complexa e para avaliar sua composição química juntamente com os extratos oriundos de plantas, é necessário compreender que há a possibilidade de ocorrer reações sinergéticas e antagônicas entre os compostos presentes. Os microrganismos afetaram na quantificação dos CFT, já que houve aumento dos mesmos após 15 dias de fermentação. Os compostos fenólicos são moléculas que podem ser degradadas para moléculas mais simples durante a fermentação devido ao meio ácido da kombucha e/ou pelas enzimas produzidas pelos microrganismos, o que pode levar a uma maior concentração desses compostos (IVANIŠOVÁ et al., 2019; WANG et al., 2019).

Resultados parecidos foram encontrados por Villareal-Soto et al. (2019) com kombuchas de chá preto, que tiveram, no fim da fermentação, uma maior quantificação de CFT do que no chá não fermentado. Segundo os autores, esse aumento pode ser resultado da transformação da estrutura química ou polimerização dos fenólicos em compostos com menor peso molecular. Por análise de HPLC, o chá fermentado em compração com o não fermentado obteve um número menor de picos identificados, provavelmente pela transformação dos compostos pelos microrganismos ou pela natureza química dos fenólicos. Entretanto, houve a intensificação de alguns picos nos chás fermentados, podendo ser observada a ação da fermentação ou do processo de biotransformação nesses compostos. Kallel et al. (2012) também obtiveram uma maior quantificação dos fenólicos no tempo final da fermentação do que no inicial.

Em relação às kombuchas de chá preto e verde, Cardoso et al. (2020) encontraram resultados contrários aos obtidos nesse trabalho, com os CFT possuindo a maior quantificação na kombucha de chá preto do que na de chá verde, o que pode ser explicado pela abundância e diversidade de polifenóis identificados na kombucha de chá preto pelos autores. Isso se deve pelo fato do chá preto possuir polifenóis diméricos e polímericos em maior concentração do que o chá verde, os quais podem sofrer biotransformações ou degradações durante a fermentação devido a ação de enzimas e/ou baixo pH do meio, ocorrendo a formação de compostos com menor peso molecular, o que aumenta a diversidade desses compostos na kombucha de chá preto. Ainda, os autores obtiveram resultados que demonstram a mudança no perfil dos compostos fenólicos entre o chá não fermentado e a kombucha, com o chá possuindo a maior abundância e, a kombucha, a maior variedade de compostos.



Figura I. Quantificação de compostos fenólicos totais das amostras de kombucha com diferentes matrizes



Colunas seguidas de letras iguais não apresentam diferença significativa entre si num intervalo de confiança de 95% pelo teste de Tukey.

O principal alcalóide presente na *Camellia sinensis* é a cafeína e os compostos fenólicos predominantes são o galato de epigallocatequina, galato de epicatequina, catequina e epicatequina (YANG et al., 2007; LI et al., 2017). As catequinas podem ser biotrasformadas pelos microrganismos e liberadas pelas células sensíveis ao meio ácido da fermentação, possivelmente influenciando no aumento dos CFT (ESSAWET et al., 2015). De acordo com Chu e Chen (2006), as catequinas são mais estáveis em ambiente ácido e a polimerização pode levar à formação de moléculas com maior peso molecular e diminuição dos CFT. Entretanto, durante a polimerização oxidativa, há formação da theasinensina A, um precursor da thearubigina, composto que também é associado pela presença dos CFT. Assim, o aumento dos CFT na kombucha pode ser relacionado à despolimerização da thearubigina. Já na *Ilex paraguariensis*, os principais polifenóis são o ácido cafeico, ácido clorogênico e rutina, além da expressiva presença de metilxantinas, como cafeína e teobromina (ANESINI et al., 2012). A cafeína é um composto que estimula a síntese de celulose das bactérias, confirmado pela diminuição desse composto após a fermentação (CHAKRAVORTY et al., 2016; IVANIŠOVÁ et al., 2019). Paludo (2017) obteve maiores valores de CFT para a kombucha de chá verde do que para a erva-mate, assim como encontrado nesse estudo. Entretanto, o aumento dos CFT na kombucha com erva-mate após a fermentação aponta essa matriz como um possível substrato para preparo de kombuchas além dos tradicionais chás preto e verde.

Ao comparar o teor de CFT dos chás no tempo inicial, o chá verde obteve a maior quantificação (0,771 mg EAG/ml), seguido pela erva-mate (0,440 mg EAG/ml) e o chá preto (0,305 mg EAG/ml). A menor quantificação no chá preto pode estar associada ao processo fermentativo que esse chá possui, diferentemente do chá verde e erva-mate. A fermentação no chá preto é um processo fundamental para melhorar a qualidade do produto final, porém, a temperatura em que a fermentação ocorre pode influenciar na quantificação dos polifenóis (QU et al., 2020). Samadi e Fard (2020) compararam o chá verde e o chá preto quanto aos CFT, flavonóides e antocianinas. Em seu estudo, o chá verde possuiu maior quantificação dos bioativos do que o chá preto, resultado que corrobora com os encontrados nesse trabalho.

Um maior esclarecimento da biotrasformação que ocorre com os compostos fenólicos durante a fermentação é necessária para melhor entendimento e maximização do potencial das propriedades bioativas da kombucha. Ainda assim, a kombucha apresentou-se como uma bebida funcional que acentua as propriedades benéficas dos chás.

4 CONCLUSÃO

As kombuchas preparadas no presente trabalho apresentaram um aumento nos CFT depois de 15 dias de fermentação, com os maiores resultados obtidos para o chá verde. Isso pode ter ocorrido devido às interações sinergéticas entre os compostos presentes nos extratos dos chás e os microrganismos, gerando metabólitos de interesse funcional. Desse modo, a fermentação potencializou as propriedades bioativas dos chás, conferindo a kombucha como uma opção saudável para consumo.

5 REFERÊNCIAS



ABOULWAFA, M. M.; YOUSSEF, F. S.; GAD, H. A.; ALTYAR, A. E.; AL-AZIZI, M. M.; ASHOUR, M. L. A comprehensive insight on the health benefits and phytoconstituents of camellia sinensis and recent approaches for its quality control. **Antioxidants**, v. 8, p. 1–32, 2019.

ALOULOU, A.; HAMDEN, K.; ELLOUMI, D.; ALI, M. B.; HARGAFI, K.; JAOUADI, B.; AYADI, F.; ELFEKI, A.; AMMAR, E. Hypoglycemic and antilipidemic properties of Kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 12, p. 63–71, 2012.

ANESINI, C.; TURNER, S.; COGOI, L.; FILIP, R. Study of the participation of caffeine and polyphenols on the overall antioxidant activity of mate (*Ilex paraguariensis*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 45, p. 299–304, 2012.

BRACESCO, N. *Ilex Paraguariensis* as a Healthy Food Supplement for the Future World. **Biomedical Journal of Scientific & Technical Research**, v. 16, p. 11821–11823, 2019.

BRASIL. Instrução Normativa nº 41, de 17 de setembro de 2019. Estabelece o Padrão de Identidade e Qualidade da Kombucha em todo o território nacional. Diário Oficial da União MAPA, 2019.

BRUSCHI, J. S.; DOS SANTOS SOUSA, R. C.; MODESTO, K. R. O ressurgimento do chá de kombucha. **Revista de Iniciação Científica e Extensão**, v. 1, p. 162–168, 2018.

CARDOSO, R. R.; NETO, R. O.; D'ALMEIDA, C. T. S.; DO NASCIMENTO, T. P.; PRESSETE, C. G.; AZEVEDO, L.; MARTINO, H. S. D.; CAMERON, L. C.; FERREIRA, M. S. L.; DE BARROS, F. A. R. Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. **Food Research International**, v. 128, 2020.

CHAKRAVORTY, S.; BHATTACHARYA, S.; CHATZINOTAS, A.; CHAKRABORTY, W.; BHATTACHARYA, D.; GACHHUI, R. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 220, p. 63–72, 2016.

CHU, S.; CHEN, C. Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. **Food Chemistry**, v. 98, p. 502–507, 2006.

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 flourusing Rhizopus oligosporus. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 2167–2172, 2004.

ESSAWET, N. A.; CVETKOVIC, D.; VELICANSKI, A.; ČANADANOVIĆ-BRUNET, J.; VULIC, J.; MAKSIMOVIC, V.; MARKOV, S. Polyphenols and antioxidant activities of kombucha beverage enriched with CoffeeBerry® extract. **Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly**, v. 21, p. 399–409, 2015.

HECK, C. I.; DE MEJIA, E. G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, v. 72, 2007.

ITAL - INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS - ITAL; Brasil Food Trends 2020.

IVANIŠOVÁ, E., MEŇHARTOVÁ, K., TERENTJEVA, M., GODOČÍKOVÁ, L., ÁRVAY, J., & KAČÁNIOVÁ, M. Kombucha tea beverage: Microbiological characteristic, antioxidant activity, and phytochemical composition. **Acta Alimentaria**, v. 3, p. 324–331, 2019.

JAYABALAN, R.; MALBAŠA, R. V.; LONČAR, E. S.; VITAS, J. S.; SATHISHKUMAR, M. A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, p. 538–550, 2014.

JIMENEZ-GARCIA, S. N.; VAZQUEZ-CRUZ, M. A.; GUEVARA-GONZALEZ, R. G.; TORRES-PACHECO, I.; CRUZ-HERNANDEZ, A.; FEREGRINO-PEREZ, A. A. Current approaches for enhanced expression of secondary metabolites as bioactive compounds in plants for agronomic and human health purposes - A review. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 63, p. 67–78, 2013.

KALLEL, L.; DESSEAUX, V.; HAMDI, M.; STOCKER, P.; AJANDOUZ, E. H. Insights into the fermentation biochemistry of Kombucha teas and potential impacts of Kombucha drinking on starch digestion. **Food Research International**, v. 49, p. 226–232, 2012.

LI, Y.; OUYANG, S.; CHANG, Y.; WANG, T.; LI, W.; TIAN, H.; CAO, H.; KURIHARA, H.; HE, R. A comparative analysis of chemical compositions in *Camellia sinensis* var. puanensis Kurihara, a novel Chinese tea, by HPLC and UFLC-Q-TOF-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 216, p. 282–288, 2017.

obtained from bioprocessed pineapple and guava wastes. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 29, p. 25–30, 2012.

PALUDO, N. **Desenvolvimento e caracterização de kombucha obtida a partir de chá verde e extrato de erva-mate: processo artesanal e escala laboratorial**. 2017. 46 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Engenharia de Alimentos). Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.

QU, F.; ZENG, W.; TONG, X.; FENG, W.; CHEN, Y.; NI, D. The new insight into the influence of fermentation temperature on quality and bioactivities of black tea. **LWT**, v. 117, p. 108646, 2020.

SAMADI, S.; FARD, F. R. Phytochemical properties, antioxidant activity and mineral content (Fe, Zn and Cu) in Iranian produced black tea, green tea and roselle calyces. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 23, 2020.

SOUSA, B. A.; CORREIA, R. T. P. Phenolic content, antioxidant activity and antimicrobial activity of extracts



SREERAMULU, G.; ZHU, Y.; KNOL, W. Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 2589–2594, 2000.

VILLAREAL-SOTO, S. A.; BEAUFORT, S.; BOUAJILA, 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.

WANG, Y.; KAN, Z.; THOMPSON, H. J.; LING, T.; HO, C.; LI, D.; WAN, X. Impact of six typical processing methods on the chemical composition of tea leaves using a single *Camellia sinensis* cultivar, Longjing 43. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 19, p. 5423-5436, 2019.

YANG, X. R.; YE, C. X.; XU, J. K.; JIANG, Y. M. Simultaneous analysis of purine alkaloids and catechins in *Camellia sinensis*, *Camellia ptilophylla* and *Camellia assamica* var. kucha by HPLC. **Food Chemistry**, v. 100, p. 1132–1136, 2007.