

## OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE KOMBUCHA DE CHÁ PRETO.

Wildon C. R. dos Santos<sup>1</sup>, Cosme D. Barbosa<sup>2</sup>, Inayara A. C. Lacerda<sup>3\*</sup>

1. Graduando em Farmácia, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG
2. Doutorando, Faculdade de Farmácia, UFMG
3. Professora do departamento de Alimentos, Faculdade de Farmácia, UFMG

### Resumo:

A Kombucha é uma bebida asiática proveniente da fermentação do chá de *Camellia sinensis* por ação conjunta de leveduras e bactérias do ácido acético. Na literatura seu consumo está relacionado com o controle e prevenção de doenças. Objetivou-se obter e caracterizar uma kombucha de chá preto. O mosto de fermentação foi composto por água mineral (1,5 L), chá preto (2%) e açúcar (10%), sendo adicionado do inóculo (15%) e submetido a fermentação em temperatura ambiente por 25 dias. Ao final desse período foi filtrada e envasada assepticamente, sendo analisada quanto as características físico-químicas e microbiológicas. Nas análises microbiológicas, a Kombucha apresentou qualidade satisfatória. Nos parâmetros físico-químicos a bebida apresentou: teor de etanol de  $0,43 \pm 0,08$  g. L<sup>-1</sup>, açúcares redutores totais residuais de  $3,17 \pm 0,28$  g. L<sup>-1</sup>, pH  $3,98 \pm 0,03$  e acidez total  $1,067 \pm 0,024$ %. É possível produzir Kombucha em escala laboratorial mantendo sua qualidade físico-química e microbiológica.

**Palavras-chave:** Kombucha; *Acetobacter*; levedura.

### Introdução:

Com o grande interesse social e comercial voltado para a alimentação saudável, bebidas funcionais que apresentam benefícios à saúde tem atenção privilegiada, como a Kombucha, uma bebida de baixo custo produzida a partir da fermentação de *Camelia sinensis*, por ação conjunta de leveduras e bactérias do ácido acético numa matriz celulósica flutuante, resultando em uma bebida levemente adocicada e ácida. Diversos relatos históricos, em diferentes culturas, descrevem suas propriedades medicinais, desintoxicantes, energizantes e seu consumo associado no tratamento e prevenção de doenças. Vários estudos demonstram, em modelos biológicos, evidências científicas em relação as suas propriedades antioxidantes, atividades

antimicrobianas, resultados promissores no tratamento de doenças metabólicas, redução de problemas inflamatórios, propriedades anticarcinogênica, dentre outros. A microbiota da Kombucha é composta por leveduras osmofílicas e bactérias do ácido acético, entretanto há uma grande variação nessa microbiota devido a origem do inóculo. Análises da composição química da Kombucha, demonstram a presença de diversos ácidos orgânicos, tais como os ácidos acético e glucônico, além de açúcares, etanol, fenóis, dentre outros. A produção e concentração desses compostos no produto final pode ser influenciado pela temperatura, composição e estabilidade da microbiota, bem como o tempo de fermentação. Estudos de obtenção, caracterização e ecologia da microbiota da Kombucha podem garantir a inocuidade e qualidade sensorial do produto, além de permitir a produção de substâncias de interesse terapêutico e comercial. No Brasil, não existe uma regulamentação específica para a produção de Kombucha, com isso torna-se necessário estudos que determinem sua composição, garantindo a produção e comercialização de forma segura. Objetivou-se obter e caracterizar quimicamente e microbiologicamente uma Kombucha de chá preto a partir de um inóculo convencional. BARNEJE et al. 2000; JARRELL and BENNETT, 2000; SPINOSA, 2002; CVETKOVIĆ and MARKOV, 2006; MO et al. 2008; CHAN et al. 2011; JAYABALAN et al. 2011; ALOULOU et al. 2012; BHATTACHARYA et al. 2013; JAYABALAN et al. 2014).

### Metodologia:

A fermentação foi realizada em triplicata em frascos de vidro previamente higienizados com capacidade para 2000 mL, sendo o volume total de fermentação, em cada frasco, de aproximadamente 1700mL. O mosto de fermentação foi composto de 1500 mL de água mineral fervida e adicionada de 1,5% de chá preto e 10% de açúcar cristal. A mistura foi

deixada em infusão por 10 min e em seguida coada. Após o resfriamento do mosto, cerca de 38°C, foi adicionado 15% de inóculo, sendo 10 % de volume líquido e 5% de fragmentos da matriz celulósica de uma fermentação anterior. Os frascos foram cobertos com uma manta de algodão para impedir a contaminação do meio e também proporcionar o fornecimento de oxigênio atmosférico para as bactérias ácido-acéticas. A fermentação foi conduzida em temperatura ambiente por 25 dias. Logo após esse período o fermentado foi filtrado e envasado. A Kombucha foi avaliada quanto a qualidade microbiológica e os parâmetros físico-químicos.

A análise microbiológica foi constituída pela investigação dos coliformes 30°C e 45°C pela técnica de Número Mais Provável (NMP), detecção de *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* coagulase positivo e *Staphylococcus aureus* total por plaqueamento em ágar Baird Parker, bactérias ácido-láticas totais pelo plaqueamento em ágar MRS de acordo com a metodologia descrita por SILVA et al., 2007 e ICMSF (1984). A enumeração total de bactérias do ácido acético e leveduras foi realizada com a utilização dos meios: MYP (Manitol Yeast Peptone), Sabouraud com clorafenicol, Suomaleinem e Carr de acordo com a metodologia de SPINOSA (2002). Para contagem em placas foram utilizadas as diluições de 10<sup>0</sup> a 10<sup>-8</sup> com alíquotas de 0,1

mL. Na análise físico-química da Kombucha foram determinados o pH por leitura em potenciômetro digital (AOAC, 2007), a acidez total titulável – ATT por titulação com NaOH 0,1 N, (IAL, 2008), teor de Açúcares Redutores Totais – ART por espectrofotometria com o ácido 3,5 dinitrosalicílico (Miller, 1959) e dosagem de etanol por espectrofotometria com ácido sulfocrômico (Salik e Povoh, 1993).

### Resultados e Discussão:

Os valores médios para os parâmetros microbiológicos e físico-químicos da Kombucha podem ser visualizados na Tabela 1. A Kombucha apresentou qualidade microbiológica satisfatória. Não foi detectada a presença de coliformes (30°C e 45°C) e *Salmonella* spp. As contagens estimadas para *S. aureus* coagulase positivo e *S. aureus* totais foram de >1,0x10<sup>0</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. A contagem de bactérias ácido-láticas total foi de 9,0x10<sup>2</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. A baixa contagem para os microrganismos patogênicos pode ser explicada pelo uso de boas práticas de fabricação, além as características físico-químicas e microbiológicas do meio de fermentação, como por exemplo o pH e as altas contagens de bactérias ácido-acéticas e leveduras inibindo assim o crescimento de microrganismos indesejáveis.

Tabela 1. Valores médios dos parâmetros microbiológicos e físico-químicos da Kombucha.

Análises	Valores médios
<b>Microbiológicas</b>	
Coliformes 35°C (NMP.mL <sup>-1</sup> )	Não detectado
Coliformes 45 °C (NMP.mL <sup>-1</sup> )	Não detectado
<i>S. aureus</i> coagulase positivo (UFC.mL <sup>-1</sup> )	>1,0x10 <sup>0</sup> estimado
<i>S. aureus</i> totais (UFC.mL <sup>-1</sup> )	>1, 0x10 <sup>0</sup> estimado
<i>Salmonella</i>	Ausência em 25 mL
Bactérias ácido-láticas total (UFC.mL <sup>-1</sup> )	9,0 x 10 <sup>2</sup>
Bactérias do ácido acético total (UFC.mL <sup>-1</sup> )	8,0 x 10 <sup>6</sup> (meio Suomaleinem) 1,5 x 10 <sup>6</sup> (meio Carr)
Leveduras (UFC.mL <sup>-1</sup> )	1,5 x 10 <sup>6</sup> (meio Sabouraud) 1,0 x 10 <sup>7</sup> (meio MYP)
<b>Físico-químicas</b>	
Acidez Total (% de ácido acético)	1,067 ± 0,024
pH	3,98 ± 0,03
Etanol (g.L <sup>-1</sup> )	0,43 ± 0,08
Açúcares Redutores Totais – ART (g.L <sup>-1</sup> )	3,17 ± 0,28

A bebida apresentou teor residual de etanol de  $0,43 \pm 0,08$  g. L<sup>-1</sup>, açúcares redutores totais residuais de  $3,17 \pm 0,28$  g. L<sup>-1</sup>, pH  $3,98 \pm 0,03$  e  $1,067 \pm 0,024\%$  de acidez total. Os valores para pH e contagem das bactérias do ácido acético e leveduras são próximos dos descritos por CVETKOVIC e MARKOV (2006) para Kombucha produzida a partir de *Satureja montana* L.

#### Conclusão:

É possível produzir Kombucha, em escala laboratorial, utilizando o inóculo convencional e mantendo sua qualidade físico-química e microbiológica.

#### Referências Bibliográficas:

- 1.ALOULOU, A. et al. Hypoglycemic and antilipidemic properties of Kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats. **BMC Complement. Altern. Med.** V.12, p.63-71, 2012.
- 2.ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 2007. **Official Methods of Analysis**. 18th ed. Gaithersburg, M.D, USA.
- 3.BARNEJEE, D. et al. Comparative healing property of Kombucha tea and black tea against indomethacin induced gastric ulceration in mice: possible mechanism of action. **Food Funct.** V.1, 284–293, 2000.
- 4.BHATTACHARYA, S., GACHHUI, R., SIL, P.C. Effect of Kombucha, a fermented black tea in attenuating oxidative stress mediated tissue damage in alloxan induced diabetic rats. **Food Chem. Toxicol.** 60, 328– 340, 2013.
- 5.CHAN, E.W.C. et al. Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia sinensis*. **Pharmacogn. Res.** V.3, p. 266–272, 2011.
- 6.CVETKOVIĆ D.D. And Markov, L. S. Producing kombucha beverage from winter savory (*Satureja Montana* L.) tea inoculated by pellicle. **APTEFF.** V.37, P.119-130, 2006.
- 7.INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas: métodos químicos e físicos para alimentos**. 4.ed. São Paulo, 2008.
- 8.INTERNACIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGY SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microorganismos de los alimentos: técnicas de análisis microbiológico**. Zaragoza, Acribia, 1984.431 p.
- 9.JARRELL, J; CAL, T and BENNETT, J. W. The kombucha consortia of yeast and bacteria. **Mycologist**, V.14, n.4, nov. 2000.
- 10.JAYABALAN, R. et al. Effect of solvent fractions of Kombucha tea on viability and invasiveness of cancer cells- Characterization of dimethyl 2-(2-hydroxy-2-methoxypropylidene) malonate and vitexin. **Indian J. Biotechnol.** V.10, p.75–82,2011.
- 11.JAYABALAN, R. et al. A review on Kombucha Tea - Microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and Tea fungus. **Comprehensive Review in food science and food safety**. V.13. 2014.
- 12.MILLER, Gail. Lorenz. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n.3,p.426-428, mar. 1959.
- 13.MO, H; ZHU, Y and CHEN, Z. Review. Microbial fermented tea- a potential source of natural food preservatives. **Trends Food Sci.Tech.** V. 19, p.124-130, 2008.
- 14.MUKHTAR, H; AHMAD, N. Tea polyphenols: prevention of cancer and optimizing health. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 71(Suppl), p. 1698-1702, 2000.
- 15.SALIK, F. L. M.; POVOH, N. P. Método espectrofotométrico para determinação de teores alcoólicos em misturas hidroalcoólicas. In: CONGRESSO NACIONAL DA STAB 5, Águas de São Pedro. **Anais** Piracicaba: STAB, 1993. p. 262-266.
- 16.SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M, H; SANTOS, R. F. S. S.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**.3ed. São Paulo: Varela, 2007,533p.
17. SPINOSA, Wilma Aparecida. **Isolamento, seleção, identificação e parâmetros cinéticos de bactérias acéticas provenientes de indústrias de vinagre**. 2002. 203 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Unicamp, Campinas, 2002.