

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DO CHÁ VERDE E CHÁ PRETO E SUAS RESPECTIVAS KOMBUCHAS

DETERMINATION OF TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS OF GREEN AND BLACK TEA AND THEIR RESPECTIVE KOMBUCHA TEAS

CONCENTRAÇÃO DE FENÓLICOS EM KOMBUCHAS

Gabriela Olba do Couto¹
Cristina Peitz de Lima²

RESUMO: A kombucha é resultante de uma fermentação de chá verde ou chá preto adoçados e adicionados de uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras, capaz de fornecer diversas propriedades benéficas à saúde, inclusive ao trato gastrointestinal e à imunidade. O chá verde e o chá preto são conhecidos e utilizados há anos devido aos seus benefícios à saúde. Estes chás são originados do processamento da espécie *Camellia sinensis*. Este estudo teve como objetivo avaliar concentração de compostos fenólicos presentes nas kombuchas preparadas a partir do chá verde e chá preto, e nos dois tipos de chás preparados apenas por infusão. A análise foi realizada 15 dias após o início da fermentação das kombuchas e os chás foram congelados até o dia da análise. Foi observado que o chá verde e o chá preto apresentaram resultados estatisticamente iguais de compostos fenólicos e inferiores aos das suas respectivas kombuchas. A kombucha de chá verde apresentou maior concentração de compostos fenólicos que a kombucha de chá preto. Ao final do processo de fermentação, foi possível observar aumento da concentração de compostos fenólicos nas kombuchas de chá verde e chá preto.

Descritores: kombucha; *Camellia sinensis*; polifenóis; fermentação.

ABSTRACT: The kombucha is the result of the fermentation of sweetened green tea or black tea and added symbiotic culture of bacteria and yeasts, capable of providing several health beneficial properties, including to the gastrointestinal tract and to the immunity. Green tea and black tea have been known and used for years due to their health benefits. These teas are derived from the processing of *Camellia sinensis*. This study aimed to evaluate the concentration of phenolic compounds present in kombuchas prepared from green tea and black tea, and in the two types of teas prepared only by infusion. The analysis was performed 15 days after the start of the fermentation process. The green and black teas were frozen until the day of the analysis. It was observed that green and black tea had statistically equal results for phenolic compound and lower than their respective kombuchas. The kombucha obtained from green tea had a higher concentration of phenolic compound than the kombucha obtained from black tea. At the end of the fermentation process, it was possible to observe an increase in the concentration of phenolic compound in the kombucha obtained from green and black teas.

Descriptors: kombucha; *Camellia sinensis*; polyphenols; fermentation.

¹ Acadêmica do Curso de Nutrição do Centro Universitário Autônomo do Brasil, Unibrasil

² Professora do Centro Universitário Autônomo do Brasil, UniBrasil

INTRODUÇÃO

O chá preparado a partir da folha da *Camellia sinensis* é a segunda bebida mais consumida no mundo e está associada a diversos benefícios à saúde quando utilizada de maneira regular na dieta. Dependendo do grau de fermentação da folha, é possível obter diferentes tipos de chás, entre eles o chá preto e o chá verde, que se diferenciam principalmente na cor e no sabor ⁽¹⁾.

Produtos fermentados fazem parte da alimentação humana desde o começo do desenvolvimento da civilização. São definidos como alimentos ou bebidas obtidos através da fermentação controlada de microrganismos ou conversões enzimáticas. A fermentação também é vista como um modelo de preservação dos alimentos ⁽²⁾.

Os benefícios dos alimentos fermentados são diversos e estão associados a indivíduos doentes e saudáveis. Os principais benefícios geralmente se manifestam sobre a saúde gastrointestinal, devido aos microrganismos resultantes da fermentação. Estes microrganismos têm o poder de competir contra bactérias patogênicas do intestino, reduzir toxinas, converter certos compostos em metabólitos biologicamente ativos, promover redução de carboidratos fermentáveis (FODMAPs) e melhorar a tolerância de indivíduos com síndrome do intestino irritável ⁽³⁾.

A kombucha é caracterizada como uma bebida fermentada, agri-doce e levemente gaseificada que apresenta diversos compostos bioativos benéficos a saúde. O processo de fermentação ocorre através do consórcio de bactérias e leveduras, em inglês Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast (SCOBY), adicionado geralmente ao chá verde ou chá preto e adoçado com açúcar demerara ⁽¹⁾. Também é utilizada sacarose comum para adoçar a bebida ⁽⁴⁾. As bactérias responsáveis pela fermentação são várias, entre elas as bactérias ácido lácticas, devido ao alto teor de açúcar do meio ⁽²⁾. As acetobactérias, incluindo a *Acetobacter xylinum*, e leveduras também são responsáveis pela fermentação ⁽⁵⁾.

É possível que a kombucha apresente capacidade probiótica e funcional devido a sua composição rica em bioativos. Sabe-se que os chás e a kombucha apresentam polifenóis, mas dados que comparem o teor de fenólicos totais antes e após a fermentação ainda são escassos. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) é o órgão que define os padrões de qualidade e identidade da kombucha ⁽⁶⁾, mas, ainda assim, a composição da bebida pode variar de acordo com a qualidade da colônia de bactérias e leveduras, qualidade dos ingredientes e modo de preparo.

Portanto, este trabalho teve como objetivo determinar a concentração de compostos fenólicos totais do chá verde e chá preto não fermentados e de suas respectivas kombuchas.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo quantitativo de análise de compostos fenólicos, em que foi realizada a preparação artesanal dos chás verde e preto por infusão, e a produção das kombuchas a partir destes mesmos chás. O tipo de chá utilizado foi comprado a granel em um comércio de produtos naturais na cidade de Curitiba/PR, e as SCOBYs com chá de arranque foram obtidas através de doação de um preparo doméstico da mesma cidade. As SCOBYs foram transportadas em vidro esterelizado com álcool 70% (m/m) em temperatura de aproximadamente 25°C até serem armazenadas em refrigerador, onde ficaram por um dia até o início do preparo. As análises foram realizadas em triplicatas e as kombuchas não foram saborizadas.

PREPARO DOS CHÁS

Foi adicionado 5g de chá verde e 5g de chá preto para cada um 1 litro de água fervida e deixado em infusão por 10 minutos. Então, as bebidas foram peneiradas em outro recipiente de vidro e as folhas foram descartadas. Duas amostras de 50 mL de cada chá foram extraídas e congeladas para análise posterior. Os chás foram resfriados à temperatura ambiente e foi dado início a preparação das kombuchas. Os utensílios utilizados foram: chaleira, três recipientes de vidro com capacidade mínima de 1 litro, peneira e balança digital de cozinha.

PREPARO DAS KOMBUCHAS

O preparo das kombuchas foi realizado com base no procedimento proposto por Cardoso et al (2020) com modificações⁽⁷⁾. Para dar início, à primeira fermentação foram adicionados 70 g de açúcar refinado comum em cada chá, junto às culturas simbióticas de bactérias e leveduras e 150 mL de chá de arranque em cada. Em seguida, as preparações foram cobertas com um guardanapo preso por um elástico, visando preservar a respiração dos microrganismos e evitar a contaminação por insetos ou sujidades. As preparações foram armazenadas em local reservado por 10 dias. Para a segunda fermentação, as SCOBYs foram retiradas das amostras e, então, as bebidas foram peneiradas em duas garrafas de vidro com capacidade de 500 mL cada. As garrafas foram vedadas e armazenadas novamente em local reservado e em temperatura ambiente por mais 5 dias. Após esse processo as bebidas estavam prontas para análise.

DETERMINAÇÃO DOS TEORES DE COMPOSTOS FENÓLICOS

Para o doseamento de compostos fenólicos das amostras, foi utilizado o reativo de Folin

Ciocalteau⁽⁸⁾. Foi preparada uma curva analítica a partir de uma solução de ácido gálico com concentrações entre 25 a 600 µg/mL. Para cada tubo foi adicionado 200 µL de reativo de Folin Ciocalteau, 160 µL da solução de ácido gálico, e 3,6mL de água destilada, em seguida foi realizada a agitação, seguida de repouso de 3 minutos. Foi adicionado 0,4 mL de solução de carbonato de sódio a 35% (m/v) em cada tubo. Os tubos foram novamente agitados e deixados em repouso durante 60 minutos. A medida foi realizada em espectrofotômetro a 760 nm, contra um branco. Com os resultados das absorvâncias, os dados foram interpolados e foi determinada a equação da reta. O mesmo procedimento foi realizado com as amostras. Os resultados foram expressos em µg/100 mL.

Na análise de determinação de compostos fenólicos, os resultados corresponderam à média \pm Dp de três repetições, e foram comparados por análise de variância seguida do teste de Tukey para identificar as diferenças significativas entre as médias, por meio do programa Sisvar⁽⁹⁾. As médias em nível de 5% ($p < 0,05$) foram consideradas significantes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os teores dos compostos fenólicos encontrados nas amostras de chá verde e chá preto não fermentados e suas respectivas kombuchas.

TABELA 1 – DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM CHÁS VERDE E PRETO NÃO FERMENTADOS E SUAS RESPECTIVAS KOMBUCHAS

Amostras	Compostos fenólicos µg/100mL
	Média ±DP
CV	148,16 ± 7,51 ^a
KCV	232,13 ± 6,47 ^c
CP	130,2 ± 10,46 ^a
KCP	175,60 ± 7,99 ^b

Resultados com letras sobrescritas diferentes indicam resultados estatisticamente diferentes para a determinação de compostos fenólicos em cada tipo de chá ($p < 0,05$).

Legenda: DP = desvio padrão, CV = chá verde, KCV= kombucha de chá verde, CP = chá preto, KCP = kombucha de chá preto

Fonte: Os autores (2020)

Os dados obtidos das análises realizadas nas amostras de kombucha e chás foram avaliados de modo a comparar o teor de compostos fenólicos entre os quatro tipos de bebidas, não identificando o tipo de composto bioativo.

De acordo com a análise estatística foi possível observar que o chá verde e o chá preto apresentaram resultados estatisticamente iguais, enquanto a kombucha de chá verde apresentou o maior resultado em compostos fenólicos e a kombucha de chá preto um resultado menor desses compostos em comparação. Diante disso, nota-se que o processo de fermentação do chá em kombucha não diminuiu o teor de compostos fenólicos dos chás, mas, sim, aumentou.

O chá verde é obtido a partir de um processamento rápido das folhas frescas e não é fermentado, enquanto o chá preto é obtido através do esmagamento e fermentação das folhas frescas⁽¹⁰⁾. Diante disso, sabe-se que o chá verde possui quantidade maior de catequinas, principalmente epigallocatequina-3-galato (EGCG), que está relacionada a diversas potencialidades medicinais para vários tipos de doenças, incluindo o tratamento preventivo de vários tipos de câncer. Além disso, possui ação antiinflamatória, antioxidante, antibacteriana, antiviral, antifúngica, antiprotozoária, antiparasitária, anti-infecciosa e tem efeito hipolipemiante. Apesar disso, é importante destacar que o consumo em excesso deste tipo de chá pode reduzir os níveis de zinco e ferro do organismo^(10,11).

O chá preto possui os mesmos grupos de catequinas que o chá verde mas em menor quantidade, sendo seus principais compostos as teaflavinas e tearubiginas. Em sua produção, grande parte das principais epicatequinas presentes no chá verde, entre elas epicatequina (EC), epigallocatequina-3-galato (EGCG), epicatequina-3-galato (ECG) e epigallocatequina (EGC)

são oxidadas e transformadas em teaflavinas, compostos responsáveis pelo pigmento do chá preto. A literatura relata que o chá preto também apresenta propriedades relacionadas à saúde humana, como a prevenção de câncer e ação antiinflamatória ⁽¹²⁾.

A variação do conteúdo de compostos fenólicos dos chás de *Camelia sinensis* pode ocorrer, e vários fatores podem promover esta alteração, como local de armazenamento, condições de crescimento, época de colheita e temperatura de processamento ⁽¹³⁾. O peso seco da planta e a quantidade de água usada na infusão do chá tem forte influência no teor de compostos fenólicos do chá verde, além do tempo de infusão e a diferença entre marcas de chá ⁽¹⁴⁾. Em relação à quantidade de compostos fenólicos, existe variação nos dois tipos de chá, verde e preto, e a granulometria do chá influencia diretamente no processo de extração dos compostos. Observa-se que uma folha com uma menor granulometria é a mais exposta à água quente e isso facilita o processo de extração dos compostos fenólicos durante o preparo da infusão ⁽¹⁵⁾. O chá preto em seu processo de produção cria uma partícula pequena das folhas e com isso há uma maior área de exposição à superfície ⁽⁵⁾, se comparado ao chá verde.

Durante o período de fermentação da kombucha existe uma quantidade crescente de bactérias formadoras de compostos ativos, e essas dependem do tipo de chá utilizado para sua reprodução ⁽⁵⁾, por isso a escolha de um chá de procedência adequada é importante.

Um estudo realizado em 2019 ⁽⁷⁾ mostrou resultado contrário ao encontrado nesta pesquisa: a kombucha de chá preto apresentou quantidade maior de compostos fenólicos em relação a kombucha de chá verde. A kombucha de chá preto apresentou maior atividade antioxidante com maior diversidade de compostos fenólicos, enquanto a kombucha de chá verde se destacou pela atividade antibacteriana contra maior número de bactérias e aumentou a proteção contra tumores. A proteção contra tumores provavelmente ocorreu devido à maior concentração de catequinas do chá verde. No chá preto, observou-se maior diversidade de compostos fenólicos e essa pode ter sido a explicação da maior concentração de fenólicos totais.

Em contrapartida, outro estudo ⁽⁵⁾ afirma que o teor fenólico total é maior na kombucha de chá verde que na kombucha de chá preto. Entretanto, a kombucha de chá preto, aos 15 dias de fermentação, apresentou maior quantidade de ácidos orgânicos, principalmente ácido glucônico. Foi observado que as kombuchas de chá verde e chá preto foram eficientes na inibição do crescimento de bactérias patogênicas entéricas, como: *Escherichia coli*, *Salmonella Typhi* e *Vibrio cholerae*. Neste mesmo estudo, verificou-se que as kombuchas preparadas a partir dos dois tipos de chás apresentaram quantidades significativas de compostos fenólicos entre o terceiro e o sexto dia de fermentação, após isso as quantidades estabilizaram e continuaram estáveis até o fim da fermentação de quinze dias. Os autores apontam que no

processo de fermentação da kombucha são produzidas diversas enzimas, entre elas a *fitase*, *α -galactosidase* e *tanase*, reconhecidas por promover o aumento no teor de compostos fenólicos. Estas enzimas consistem no principal mecanismo na degradação de polifenóis complexos em moléculas simples. Acredita-se que a bioatividade dos microrganismos cresce em torno de três dias de fermentação, e por isso a concentração de compostos fenólicos aumentou nesse período⁽⁴⁾. Tal fato pode ter ocorrido no presente estudo em que se constatou um aumento da concentração de compostos fenólicos das kombuchas em relação aos seus respectivos chás, como observado na Tabela 1.

Outro estudo realizado por Gaggia *et al.*⁽¹⁶⁾ mostrou que durante o processo de fermentação das kombuchas de chá verde e preto houve diferença na concentração de compostos fenólicos. Na kombucha de chá verde ocorreu um aumento considerável de fenólicos, com um pico máximo no sétimo dia. Já a kombucha de chá preto apresentou concentrações menores.

No estudo de Chakravorty *et al.*⁽¹⁷⁾ foi constatado que a quantidade de compostos fenólicos presentes no chá preto aumentam progressivamente com o tempo de fermentação. Em 21 dias de fermentação foi possível observar que o teor de polifenóis presentes na kombucha de chá preto aumentou 54%. Além disso, a bioatividade da fermentação aumentou após 7 dias e permaneceu aumentando até 21 dias de fermentação.

Sendo assim, considerando a composição do chá e o processo de fermentação, a kombucha é uma bebida que apresenta compostos bioativos e propriedade antioxidante. A composição química da kombucha revela diversos tipos de ácidos, açúcares, aminoácidos, vitaminas, minerais, etanol, polifenóis e mais de 50 tipos de probióticos. Por isso muitos benefícios à saúde foram atribuídos à kombucha, como: redução dos níveis de colesterol, regulação da microbiota intestinal, efeito antibiótico, redução da pressão sanguínea, melhora na digestão e fortalecimento do sistema imunológico^(18,19,20).

O etanol presente na kombucha é proveniente do processo de fermentação de leveduras, em que grande parte do açúcar adicionado é convertido em ácidos orgânicos, CO₂ e etanol. Após esse processo, o etanol produzido é oxidado por acetobactérias⁽²¹⁾.

Diante destes resultados, é possível observar que o tempo de fermentação, a procedência e o tipo de chá influenciam no teor de compostos fenólicos dos chás de *Camellia sinensis* e também das suas kombuchas. Observa-se também que a composição da cultura de microrganismos presentes no SCOBY influencia nos teores de compostos fenólicos das kombuchas.

Pesquisadores russos, em 2000, coletaram informações de consumidores ativos de

kombucha, que relataram diversos benefícios associados à bebida, entre eles: redução nos níveis de colesterol e de problemas inflamatórios, melhora nas funções do fígado, alívio de artrite, reumatismo e gota, normalização do funcionamento intestinal, prevenção de diabetes, alívio de bronquite e asma, alívio de dores de cabeça e otimização do metabolismo de forma geral. De acordo com os autores, por esse motivo, a kombucha pode ser considerada uma bebida interessante quando associada a um estilo de vida saudável ⁽¹⁸⁾.

Existe um aumento contínuo nas evidências que demonstram os benefícios dos chás obtidos da planta *Camellia sinensis*. Hayat *et al*⁽²²⁾ relatam sobre esses benefícios, principalmente sobre ação antioxidante, anti-inflamatória, anticarcinogênica e anti-hipertensiva, mas também citam possíveis riscos associados ao consumo da bebida. Contudo, a relação entre benefícios e riscos ainda é debatida, uma vez que a bebida pode reduzir os níveis de ferro e zinco.

CONCLUSÃO

O presente estudo avaliou a concentração de compostos fenólicos totais de amostras de chás verde e preto não fermentados e as suas respectivas kombuchas. Foi constatado que o chá verde e o chá preto apresentam resultados estatisticamente iguais de compostos fenólicos, porém observou-se um aumento no teor destes compostos nas kombuchas. Essa alteração ocorreu possivelmente pela ação das enzimas produzidas durante o processo de fermentação dos chás. A kombucha de chá verde apresentou maior concentração de compostos fenólicos que a kombucha de chá preto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Santos YMA et al. Avaliação da composição de kombucha a base de diferentes chás (verde e preto). Rev. Bras. de Gestão Ambiental 2019; 12(03): 1-6.
2. Marco ML et al. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. Current Opin in Biotech. 2017; 44: 94-102.
3. Dimidi E, Cox SR, Rossi M, Whelan K. Fermented foods: definitions and characteristics, impact on the gut microbiota and effects on gastrointestinal health and disease. Nutrients 2019; 11(1806): 1-26.
4. May A et al. Kombucha: a novel model system for cooperation and conflict in a complex multi-species microbial ecosystem. Peer J. 2019; 1-22.

5. Kaewkod T, Bovonsombut S, Tragoolpua Y. Efficacy of Kombucha Obtained from Green, Oolong, and Black Teas on Inhibition of Pathogenic Bacteria, Antioxidation, and Toxicity on Colorectal Cancer Cell Line. *Microorganisms* 2019; 7(700): 1-18.
6. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR). Instrução Normativa nº41, de 17 de setembro de 2019. Diário Oficial da União. Edição 181, Seção 1, p.13. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-41-de-17-de-setembro-de-2019-216803534>. Acessado em: 22 nov 2020.
7. Cardoso RR et al. Kombuchas from Green and Black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research Internat.* 2019; 1-38.
8. Lima CP et al. Conteúdo polifenólico e atividade antioxidante dos frutos da palmeira Juçara (*Euterpe edulis Martius*). *Rev. Bras. Pl. Med.* 2012; 14(2): 321-326.
9. Ferreira DF. Sisvar: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. *Rev. Bras. Biom Lavras.* 2019; 37(4): 529-535.
10. Saeed M et al. Green tea (*Camellia sinensis*) and L-theanine: Medicinal values and beneficial applications in humans – A comprehensive review. *Biomedice & Pharmacotherapy* 2017; 95: 1260-1275.
11. Chacko SM, Thambi PT, Kuttan R, Nishigaki I. Beneficial effects of green tea: A literature review. *Chinese Medicine* 2010; 5(13): 1-9.
12. Khan N, Mukhtar H. Tea Polyphenols in Promotion of Human Health. *Nutrients* 2019; 11(39): 1-6.
13. Reygaert WC. Green tea Catechins: Their Use in Treating and Preventing Infectious Diseases. *BioMed Research Internat.* 2018; 1-9.
14. Firmino LA, Miranda MPS. Polifenóis totais e flavonóides em amostras de chá verde (*Camellia sinensis* L.) de diferentes marcas comercializadas na cidade de Salvador-BA. *Rev. Bras. Pl. Med.* 2015; 17(3): 436-443.
15. Pereira VP, Knor FJ, Velloso JCR, Beltrame FL. Determination of phenolic compounds and antioxidant activity of green, black and white teas of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. *Rev. Bras. Pl. Med.* 2014; 16(3): 490-498.
16. Gaggia F et al. Kombucha Beverage from Green, Black and Rooibos Teas: A Comparative Study Looking at Microbiology, Chemistry and Antioxidant Activity. *Nutrients* 2019;

11(1): 1-22.

17. Chakravorty S et al. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology* 2016; 220: 63-72.
18. Jayabalan R et al. A review on kombucha tea – microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2014; 13: 538-550.
19. Felix ASH. A review about probiotic foods: kefir, kimchi and kombucha. *Journal of Food Processing & Technology* 2016; 7: 1-2.
20. Kozyrovska NO, Reva OM, Goginyan VB, Vera JP. Kombucha microbiome as a probiotic: a view from the perspective of post-genomics and synthetic ecology. *Biopolymers and Cell. Institute of Molecular Biology and Genetics* 2012; 28(2): 103- 113.
21. Gomes RJ et al. Acetic Acid Bacteria in the Food Industry: Systematics, Characteristics and Applications. *Food Technology & Biotechnology* 2018; 56(2): 139- 151.
22. Hayat K et al. Tea and its consumption: benefits and risks. *Food Science and Nutrition* 2013; 1-58.