

ISOLAMENTO E ESTUDO DA COMPOSIÇÃO MICROBIOLÓGICA DA KOMBUCHA

Ana Beatriz Pinheiro Cruz Lopes ¹
Zailana Ricale de Souza Silva ²
Raquel Macedo Dantas Coelho ³

INTRODUÇÃO

Dentre tantas bebidas que apresentam efeitos benéficos a vida do ser humano, encontra-se a Kombucha, um chá fermentado que foi descoberto há séculos, mas que tem chamado a atenção de pesquisadores só agora devido ao pouco conhecimento no que se diz respeito à microbiota responsável por essa fermentação (SREERAMULU et al., 2001, p. 49) e aos relatos de que a bebida poderia ajudar no tratamento de doenças crônicas (DUFRESNE & FARNWORTH, 2000, p. 409).

O consumo de chá fermentado tornou-se associado a hábitos alimentares, tal como café ou refrigerantes, que podem ser substituídos pela própria bebida, já que ela apresenta um sabor agradável e refrescante ao paladar. O crescente interesse em alimentos funcionais e nutracêuticos contribuíram para essa tendência (DUFRESNE & FARNWORTH, 2000, p. 409), além de pesquisas que relataram sobre sua alta atividade antimicrobiana, anticancerígena e antioxidante (JAYABALAN et al., 2014, p. 543).

Diante desse contexto, os principais objetivos da pesquisa consistem em elaborar uma Kombucha a partir da fermentação do chá preto, fazer um estudo detalhado da sua composição microbiológica e realizar uma análise a fim de atestar sua qualidade e a possibilidade de inserção da bebida no mercado brasileiro.

¹ Aluna do Curso de Técnico Integrado em Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte - IFRN, anabeatriz775@hotmail.com;

² Aluna do Curso de Técnico Integrado em Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte - IFRN, zailanaricale@outlook.com;

³ Professora orientadora: Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Ceará – UFC, raquel.coelho@ifrn.edu.br;

METODOLOGIA (OU MATERIAIS E MÉTODOS)

Para o preparo do chá utilizou-se 1L de água destilada, 10% de açúcar branco e 2% de chá preto. Após 5 minutos de fervura, a mistura permaneceu sob infusão por 5 minutos e posteriormente foi filtrada, para a separação das folhas, conforme Mukadam et al. (2016, p. 33). Em seguida, adicionou-se a cultura responsável pela fermentação e o processo ocorreu sob temperatura ambiente. Para as análises microbiológicas foram aplicadas técnicas de enriquecimento e isolamento, a fim de determinar bactérias e leveduras presentes na Kombucha, onde diluiu-se 25 ml de amostra em 225 ml de água peptonada, efetuando-se diluições seriadas (10-1, 10-2, 10-3). O meio de enriquecimento Caldo Extrato de Malte foi empregado para a inoculação das diluições e estas foram acondicionadas em estufa sob temperatura de 28°C durante 48 horas. Após o crescimento dos microrganismos, utilizou-se a técnica Spread Plate, em prol de isolá-los, através de plaqueamento (em duplicata) nos meios de cultura PCA (Plate Count Agar) e PDA (Potato Dextrose Agar), sendo incubados em condições aeróbias, a temperaturas de 25 a 28 °C até o crescimento. Após o desenvolvimento dos microrganismos em ambas as placas, realizaram-se os estudos macro e micromorfológicos das células, utilizando o microscópio e a técnica de Coloração de Gram, para uma visualização mais detalhada. Tendo em vista que o projeto encontra-se em andamento, a análise sensorial da Kombucha obtida acontecerá por meio de teste afetivo – teste de aceitação de escala hedônica estruturada de nove pontos, ancorada pelas notas de 1 (desgostei extremamente) a nota 9 (gostei extremamente). Os atributos avaliados serão: aparência, odor, sabor e avaliação global. Além disso, as amostras serão servidas em taças de vidro contendo 30 ml da bebida e o painel sensorial constituirá 60 provadores não selecionados e não treinados, de ambos os gêneros.

DESENVOLVIMENTO

A Kombucha

Segundo Dufresne & Farnworth (2000, p. 409), Kombucha é uma bebida refrescante obtida pela fermentação de chá açucarado com uma cultura simbiótica de bactérias acéticas e leveduras, consumida por seus efeitos benéficos para a saúde humana. Há relatos de que o consumo dessa bebida pode reduzir a pressão arterial, aliviar a artrite, aumentar a resposta do sistema imunológico e curar o câncer. Esses efeitos benéficos para a saúde criaram um interesse crescente nas pesquisas sobre esse tipo de chá, a fim de comprovar cientificamente seus benefícios (GREENWALT et al., 2000, p. 976).

A fermentação da bebida é realizada por colônias microbianas contendo bactérias aeróbicas e leveduras (GREENWALT et al., 2000, p. 977), instaladas numa forma de celulose sintetizada por bactérias acéticas (SANTOS, 2016, p. 8). A cultura que transforma o chá em um fermentado recebeu o nome de “mãe do Kombuchá”, por ser a principal responsável pelo processo fermentativo e a que dará origem a uma nova colônia durante a fermentação. As películas de celulose formam-se a partir de outra, assim ficando em camadas, então a que estará na superfície será a mais recente (SANTOS, 2016, p. 10).

Microrganismos encontrados na Kombucha

Estudos revelaram que a *Acetobacter xylinum* mostrou ser a principal bactéria do meio, pois ela produz a celulose, um composto importante para a película celulósica (GREENWALT et al., 2000, p. 977). Algumas bactérias como *Leuconostoc*, *Allobaculum*, *Ruminococcaceae*,

Enterococcus, Propionibacterium, Bifidobacterium e Thermus também foram detectadas (SANTOS, 2016, p. 12).

As espécies de leveduras isoladas incluíam principalmente *Brettanomyces bruxellensis*, *Brettanomyces lambicus*, *B. custersii*, *Kloeckera apiculata*, *Saccharomyces ludwigii*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Candida*, e espécies de *Pichia* (FU et al., 2014, p. 123). Outros pesquisadores colheram amostras de Kombucha e as leveduras *Zygosaccharomyces bailii*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Kluyveromyces marxianus*, *Brettanomyces bruxellensis*, *Lachancea fermentati* e *Kazachstania unispora* predominaram (SANTOS, 2016, p. 11).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fermentação do chá preto ocorreu durante 15 dias, tendo o pH 3,0 no início e pH 2,4 ao final do processo, devido à atividade das leveduras que fermentam o açúcar, produzindo etanol, que é oxidado pelas bactérias acéticas, dispondo de ácido acético como produto. A cultura responsável pelo processo fermentativo deu origem a uma nova película (Figura 1), que ficou na superfície do chá, como levantado por Santos (2016, p. 10).

No meio de cultura propício para o crescimento de leveduras (PDA), houve o desenvolvimento de células com características semelhantes às espécies *Brettanomyces bruxellensis*, *Brettanomyces lambicus* (FU et al., 2014, p. 123), *Zygosaccharomyces bailii*, *Kluyveromyces marxianus*, *Lachancea fermentati* e *Kazachstania unispora* (SANTOS, 2016, p. 11).

Já no meio de cultura PCA houve o crescimento de bactérias semelhantes às espécies *Acetobacter pasteurianus* (JAYABALAN et al., 2014, p. 539) e *Leuconostoc*, *Enterococcus* e *Propionibacterium* (SANTOS, 2016, p. 12).

Por fim, espera-se que a Kombucha elaborada seja bem aceita sensorialmente entre os provadores participantes do teste, e que essa pesquisa possibilite a divulgação científica de estudos referentes ao Kombuchá, bem como sua maior difusão no Brasil, impulsionando a área de desenvolvimento de novos produtos e movimentando a economia do país.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A metodologia utilizada mostrou-se suficiente para a execução das atividades e os objetivos propostos para o andamento do projeto até o momento foram alcançados. Porém, para que as características particulares de cada bactéria e levedura fossem estudadas mais aprofundo, seria necessário efetuar testes bioquímicos em cada microrganismo, tendo em vista que os conhecimentos acerca deles são limitados, dessa forma fazendo com que a divulgação de estudos referentes ao Kombuchá seja significativa para a comunidade científica.

Palavras-chave: Kombucha. Bactérias. Leveduras. Fermentação.

REFERÊNCIAS

DUFRESNE, C.; FARNWORTH, E.. Tea, Kombucha, and health: A review. Food Research International, v. 33, n. 6, p.409-421, jul. 2000.

FU, Caili et al. Antioxidant activities of kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotics during storage. Food Science And Technology, Campinas, v. 34, n. 1, p.123-126, jan-mar. 2014.

GREENWALT, C. J.; STEINKRAUS, K. H.; LEDFORD, R. A.. Kombucha, the Fermented Tea: Microbiology, Composition, and Claimed Health Effects. Journal Of Food Protection, Ithaca, v. 63, n. 7, p.976-981, jul. 2000.

JAYABALAN, Rasu et al. A Review on Kombucha Tea: Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety, v. 13, n. 4, p.538-550, jul. 2014.

MUKADAM, Tehmeena Ashraf et al. Isolation and Characterization of Bacteria and Yeast from Kombucha Tea. International Journal Of Current Microbiology And Applied Sciences, v. 5, n. 6, p.32-41, 2016.

SANTOS, Mafalda Jorge dos. Kombucha: caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração. 2016. 109 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Ciências Gastronômicas, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2016. Cap. 2.

SREERAMULU, G.; ZHU, Y.; KNOL, W.. Characterization of Antimicrobial Activity in Kombucha Fermentation. Engineering In Life Sciences, v. 21, n. 1, p.49-56, fev. 2001.