



## ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DA KOMBUCHA EM CHÁ PRETO E VERDE ANALYSIS OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF KOMBUCHA IN BLACK AND GREEN TEA

*Fernanda Hohmann<sup>1</sup>, Milena Despessiani Kunz<sup>1</sup>, Débora Fiorentin Vandresen<sup>2</sup>.*

1. Acadêmica de farmácia. União de Ensino do Sudoeste do Paraná, Paraná, Brasil.

2. Farmacêutica. professora do curso de farmácia. União de Ensino do Sudoeste do Paraná, milenakunz@hotmail.com

### RESUMO

A kombucha vem se tornando famosa devido a sua gama de benefícios, entre eles equilíbrio da flora intestinal e antioxidante. É uma bebida resultante da fermentação do chá preto ou verde adoçados imersos em culturas de leveduras e bactérias, as quais irão fazer o processo de simbiose. Notado seu acervo de benefícios este trabalho teve como objetivo analisar a atividade antibacteriana da kombucha nos diferentes tipos de chás e açúcares frente as colônias de *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Utilizou-se a metodologia modificada de Malbasa, Loncar e Djurié (2008), na qual realizou-se a preparação dos chás verde, preto e misto e adicionou-se em cada chá o açúcar cristal e mascavo e um pedaço do scoby (kombucha) e deixou-se fermentar por 20 dias e posteriormente realizou a análise microbiologia através de discos e de poças em ágar Mueller Hinton. Nas análises para a bactéria *Klebsiella pneumoniae* observou-se maior sensibilidade nos chás misto mascavo, com halo de 20mm e do chá preto mascavo halo de 16mm e os chás verde mascavo e verde cristal apresentaram menor sensibilidade com halos de 14,75mm e 11,5 mm respectivamente. Para a bactéria *Staphylococcus aureus* apresentou-se mais sensibilidade para os chás misto mascavo com halo de 20,5 mm e preto mascavo halo de 23,5mm e menor sensibilidade para os chás verde mascavo, preto cristal e misto cristal com halos de 18mm, 15mm e 16mm respectivamente. Não foi possível realizar a análise com *Escherichia coli* devido há uma grande sensibilidade das bactérias ou má semente da cultura. Neste sentido concluiu-se que os chás utilizados com kombucha, mesmo com diferentes formas de adoçantes manteve sua atividade antimicrobiana.

**Descritores:** Kombucha, simbiótico, fermentação, antibacteriano.

### ABSTRACT

The kombucha has become famous due to its range of benefits, including balance of intestinal flora and antioxidant. It is a drink resulting from the fermentation of sweetened black or green tea immersed in yeast and bacteria cultures, which will make the symbiosis process. Noting its collection of benefits, this study aimed to analyze the antibacterial activity of kombucha in different types of teas and sugars against the colonies of *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The modified methodology of Malbasa, Loncar and Djurié (2008) was used, in which green, black and mixed teas were prepared and crystal and brown sugar and a piece of scoby (kombucha) were added to each tea. and allowed to ferment for 20 days and subsequently carried out microbiological analysis using discs and pools on Mueller Hinton agar. In the analyzes for the bacterium *Klebsiella pneumoniae*, greater sensitivity was observed in mixed brown teas, with a 20mm halo and 16mm halo black tea, and green and crystal green teas showed less sensitivity with 14.75mm and 11.5 mm halos. respectively. For the bacterium *Staphylococcus aureus*, there was more sensitivity for mixed brown teas with a 20.5 mm halo and 23.5 mm brown black halo and less sensitivity for brown green, crystal black and mixed crystal teas with 18 mm, 15 mm halos. and 16mm respectively. It was not possible to carry out the analysis with *Escherichia coli* due to the high sensitivity of the bacteria or poor seeding of the culture. In this sense, it was concluded that the teas used with kombucha, even with different forms of sweeteners, maintained their antimicrobial activity.

**Descriptors:** Kombucha, symbiotic, fermentation, anti-bacterial.

**Como citar:** Hohmann F, Kunz MD, Vandresen DF. Análise da atividade antibacteriana da kombucha em chá preto e verde. Rev Inic Cient Ext. 2020; 3(2):505-10.

## INTRODUÇÃO

O kombucha é uma bebida fermentada por uma simbiose de bactérias e leveduras a partir de chás, sendo consumido há mais de dois mil anos na China e vem se popularizando no Brasil devido à procura de alimentos funcionais. Dentre os efeitos benéficos que a bebida apresenta tem-se o equilíbrio da flora intestinal e o aumento da imunidade (BRUSCHI; SOUSA; MODESTO, 2018).

Para a produção de kombucha é frequentemente utilizado o chá preto, mas o chá verde também pode ser uma opção. Ao chá açucarado é incorporado a “mãe da kombucha” ou SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts), responsável pelo processo fermentativo, que consiste na associação de bactérias do gênero *Acetobacter* e fungos *Sacharomyces*, acomodadas numa matriz de celulose sintetizada por bactérias acéticas. Seu tempo de fermentação é geralmente 7 a 10 dias e, se este se estender, desenvolve-se um sabor avinagrado (LIMA et al., 2019; SANTOS, 2016).

Dentre os benefícios do consumo da kombucha, aponta-se sua contribuição para o emagrecimento, regulando o apetite, combate à gastrite, atuando na eliminação da bactéria *H. pylori*, prevenção das infecções intestinais, ação desintoxicante, por se ligar a moléculas tóxicas no organismo e estimular sua eliminação pela urina e pelas fezes, ajuda a melhorar o funcionamento do intestino, equilibrando a flora intestinal e poder laxante, redução do estresse e auxilia no combate a insônia, dentre outros. Ainda atua como antibiótico natural tendo capacidade de inibir variadas bactérias, tendo um dos seus componentes o ácido acético que é potencialmente nocivo para leveduras do gênero *Candida*. Antioxidantes no qual ajudam a combater as consequências produzida por radicais livres, os quais tem capacidade de acelerar o envelhecimento celular. Reduz os riscos de doenças cardiovasculares. No qual diversos estudos demonstram uma diminuição dos níveis de colesterol LDL (TEIXEIRA et al., 2018).

Pesquisas apontam que tanto o kombucha mãe, como a bebida obtida são abundantes em colônias de microbiotas benéficas para o organismo. Neste pode-se encontrar tanto bactérias como leveduras, sua composição varia de acordo com as condições da cultura e dos materiais que foram utilizados para sua preparação (RUBIO, 2017).

De acordo com RUBIO (2017), dentre as bactérias e leveduras que podem compor a

kombucha pode ser mencionado:

1. Bactérias: *Acetobacter xylinum*, *A. xylinoides*, *gluconicum*, *A. pasteurianum*, *Acetobacter ketogenum*, *Gluconobacter bluconicum*.

2. Levaduras: *Brettanomyces*, *Brettanomyces bruxellensis*, *Candida*, *Candida famata*, *Mycoderma*, *Mycotorula*, *Pichia*, *Brettanomyces intermedius*, *Pichia membranaefaciens*, *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *aceti*, *Schizosaccharomyces*, *Torula*, *Torulopsis*, *Zygosaccharomyces*, *Saccharomyces*, *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *cerevisiae*.

Notado seu acervo de benefícios este trabalho teve como objetivo analisar a atividade antibacteriana da kombucha nos chás verde, preto e misto com açúcares crista e mascavo frente as colônias de *klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

## **MATERIAIS E MÉTODO**

As análises foram realizadas a partir da simbiose de microrganismos (fungos e bactérias) com etiologia doméstica, cedida para a União de Ensino do Sudoeste do Paraná. Posteriormente, dividida em 12 pedaços e cultivados em chá (metodologia modificada de Malbasa, Loncar e Djurié, 2008).

### **Preparação da cultura inicial**

Ferveu-se 1L de água a 100°C e adicionou-se 5g de chá verde da marca Incas®, após 5 minutos retirou-se os sachês com folhas desidratadas e esterilizou-se a infusão em auto clave a 127°C por 15 minutos. Adicionou-se 90g de açúcar cristal Auto Alegre® e açúcar mascavo Luanny® e distribuiu-se o líquido em vidros iguais. Após o resfriamento à temperatura ambiente, colocou-se 10% do chá fermentado anteriormente, um pedaço de scoby e cobriu-se com papel toalha. Incubou-se a temperatura ambiente (25°C) por 15 dias. Repetiu-se o procedimento com o chá preto da marca Leão Fuze®.

### **Preparação dos substratos**

Na realização do experimento preparou-se 6 tipos de chás, sendo eles identificados como: Chá preto com açúcar cristal (PC), chá preto com açúcar mascavo (PM), chá verde com açúcar cristal (VC), chá verde com açúcar mascavo (VM), chá misto com açúcar cristal (MC) e chá misto com açúcar mascavo (MM). Deixou-se fermentar por 10 dias em local escuro para a realização dos da prova dos discos e 20 dias para o método com poço.

### **Análise da atividade antibacteriana**

As cepas isoladas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* foram obtidas do laboratório de microbiologia da Unisep.

O ágar Mueller Hinton foi preparado para 18 placas de Petri, a semeadura de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) e *Escherichia coli* (*E. coli*), obtidas na concentração de 0,5 McFarland, foram realizadas com o auxílio de um swab sobre o ágar, rodando a posição de ida e volta de 60°, repetindo três vezes, a fim de assegurar a inoculação do microrganismo em toda a superfície. Logo após, foram colocados cinco discos de papel filtro (previamente autoclavados) em cada placa, um contendo o antibiótico Amoxicilina com clavulanato para *E. coli*, Meropenem para *K. pneumoniae* e Cefoxitina para *S. aureus*, sendo esses usados para o controle positivo e os outros com o chá fermentado. Posteriormente foram incubados na estufa a 36° por 24 horas (metodologia de Pico, 2017).

No método de perfuração em agar, com o auxílio de cilindros de vidro de 6mm de diâmetro, fez-se a retirada do meio de cultura formando poços. Nesses foi possível a aplicação de 50 µL do chá fermentado. O controle positivo feito através de discos com os antibióticos utilizados no teste de discos descrito anteriormente, bem como a forma da semeadura dos microrganismos (OSTROSKU et al., 2008).

### **Avaliação do efeito inibitório**

Para determinar o efeito inibitório, o halo formado ao redor do disco ou do poço (5mm) foi medido com uma régua. A escala de referência utilizada para a classificação foi de Duraffourd (1983).

1. Nulo (-) se for menor ou igual a 8 mm.
2. Sensível (sensível = +) de 9 a 14 mm.
3. Muito sensível (muito sensível = ++) de 15 a 19 mm.
4. Extremamente sensível (S.S. = +++) se for igual ou maior que 20 mm.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Não houve formação de halo no método de discos, por uma possível evaporação dos compostos ao serem colocados na estufa ou pela baixa quantidade de chás impregnados no discos, sendo usado apenas 10 µL (Figura 01)

No entanto, utilizando os poços obteve-se grande melhora nos resultados. Para *klebsiella pneumoniae*: VC = 11,5mm, MC = 7,5mm, VM =14,75mm, PC = 8mm, MM = 20mm, PM = 16mm. Com o microrganismo *Staphylococcus aureus*: VC = 5mm, MM = 508

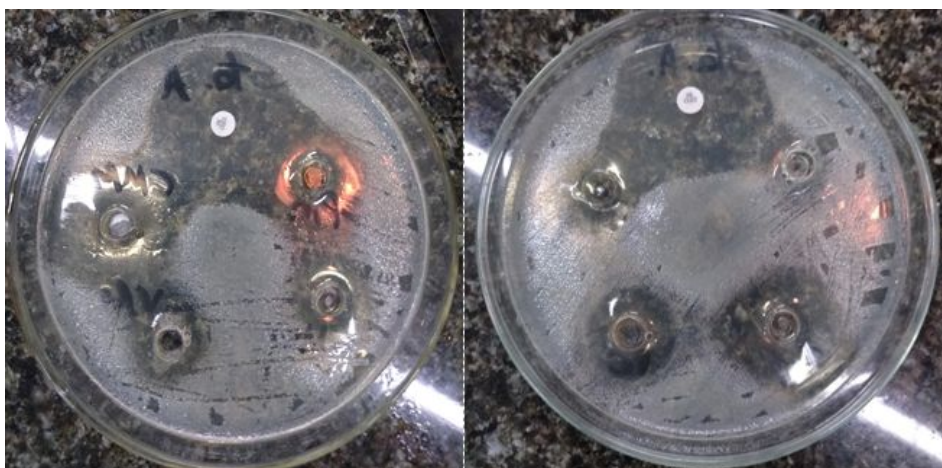
20,5mm, VM = 18mm, PM = 23,5mm, PC = 15mm, MC = 16mm, conforme a tabela 1 abaixo:

**Tabela 1 – Classificação dos resultados segundo método de Duraffourd no teste de poço.**

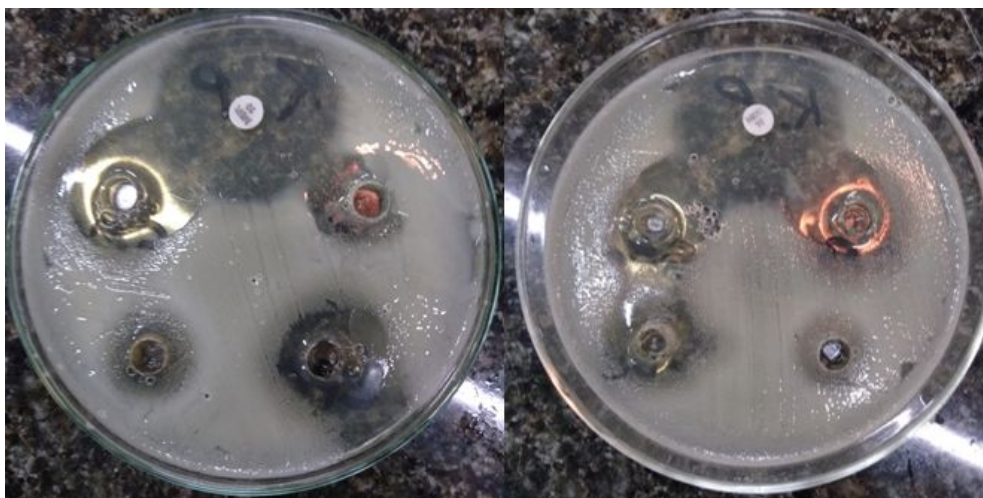
|               | VC | VM | PC | PM  | MC | MM  |
|---------------|----|----|----|-----|----|-----|
| K. pneumoniae | +  | ++ | -  | +++ | -  | +++ |
| S. aureus     | -  | ++ | ++ | +++ | ++ | +++ |

Nas placas semeadas com *Escherichia coli* não houve crescimento, podendo ser explicado pela sua alta sensibilidade ao chá ou pela má sementeira da bactéria.

**Figura 1- Halos de inibição em placas semeadas com *Staphylococcus aureus*.**



**Figura 2 – Halos de inibição em placas semeadas com *Klebsiella pneumoniae*.**



chás de 14 dias, obtiveram para *S. aureus* com VM 15mm, com chá verde e açúcar refinado 6mm, PM 10mm, chá preto com açúcar refinado 12mm, o presente trabalho apresentou halos um pouco maiores podendo ser explicado pelo maior tempo de fermentação dos chás.

Outra pesquisa comparou a atividade antimicrobiana com chá de *Melissa officinalis* e o chá tradicional (*Camelia sinensis* L.), Velicanski et al. (2007), registraram um halo para *E. coli* de 13,67mm e 13,67mm já para *S. aureus* 12,33mm e 16mm no chá tradicional e Lemon balm, respectivamente, se opondo ao nosso resultado obtido que foi nulo para *S. aureus* com chá verde como mostra a Tabela 1 (VELICANSKI et al., 2007).

Sreeramulu; Zhu; Knol (2000) realizaram estudos com o kombuchá em pH ácido e pH 7, demonstrando que a atividade antibacteriana vai além do que apenas a do ácido acético. Para o microrganismo *E. coli* o probiótico teve seu potencial bactericida maior no 10º dia de fermentação, já para o *S. aureus* apenas no 14º dia apresentou halo.

## CONCLUSÃO

A kombucha que antigamente já era muito utilizada pelos orientais, no presente momento, com a população querendo um estilo de vida cada vez mais funcional e saudável, vem adquirindo cada vez mais espaço no dia a dia da população visto seus grandes benefícios para a saúde. Após as análises realizadas, consta-se que a bebida fermentada pela kombucha, com ênfase nos chás misto mascavo e preto mascavo, possuem o maior potencial antimicrobiano frente as cepas de *K. pneumoniae* e *S. aureus* sendo estes extremamente sensíveis. Já o chá verde misto apresentou-se muito sensível para ambas as cepas, os chás preto cristal e misto cristal mostram-se muito sensíveis apenas para as cepas de *S. aureus* e os chás verde cristal mostrou-se sensível apenas para as cepas de *K. pneumoniae*.

Visto que os resultados encontrados são promissores no potencial antimicrobiano para as cepas de *K. pneumoniae* e principalmente frente as cepas de *S. aureus*, sugere-se o desenvolvimento de novos estudos para melhor elucidação de seus potenciais antimicrobianos para que estes contribuam para a saúde e possivelmente no tratamento de alguma patologia.

## REFERÊNCIAS

1. BRUSCHI, J. S.; SOUSA, R. C.; MODESTO, K. R. O RESSURGIMENTO DO CHÁ DE KOMBUCHA. Revista de Iniciação Científica e Extensão. Faculdade Sena Aires-FACESA, p. 162-168, 2018.
2. CARDOOS, S.B.; BUSFIELD, I.C.; STEINER, E.; ROSA, T.R.O. Avaliação física, química e antimicrobiana da Kombucha Probiótico (*Medusomyces gisevii* lindau) e análise comparativa com outros probióticos comercializados no Brasil. Nutrição Brasil, v. 17, n 1, 2018.

3. LIMA, N. S.; SILVA, N. F.; ABREU, B. S.; MODESTO, K. R. VERIFICAÇÃO DE VIABILIDADE EM AMOSTRAS DE KOMBUCHA. Revista de Iniciação Científica e Extensão. Faculdade Sena Aires-FACESA, 2019.
4. MALBASA, R.; LONCAR, E.; DJURIÉ, M. Comparison of the products of Kombucha fermentation on sucrose and molasses. Food Chemistry 106 (2008) p. 1039 –1045.
5. OSTROSKU et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. Revista Brasileira de Farmacognosia. P. 303-307, 2008.
6. RUBIO. M.C.P. EFECTO ANTIBACTERIANO DEL TE Manchurian fungus SOBRE Streptococcus mutans. ESTUDIO IN VITRO. UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, Quito, 2017.
7. SANTOS, M.J. KOMBUCHA: CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA E DESENVOLVIMENTO DE NOVOS PRODUTOS ALIMENTARES PARA USO EM RESTAURAÇÃO. Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa, 2016.
8. SREERAMULU, G.; ZHU, Y.; KNOL, W. Kombucha Fermentation and Its Antimicrobial Activity. Department of Applied Microbiology and Gene Technology, TNO Nutrition and Food Research Institute. J. Agric. Food Chem., 48, P. 289–2594, 2000.
9. SOUSA, L.; ESPÓSITO, E. Determinação da atividade antibacteriana de kombucha preparado com quatro diferentes açúcares comerciais. Anais do 7 Congresso de Iniciação Científica da Universidade de Mogi das Cruzes; p.43, 2009.
10. VELICANSKI, A. S.; CVETKOVC, D. D.; MARKOV, S. L.; TUMBAS, V. T.; SAVATOVIC, S. M. ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF LEMON BALM KOMBUCHA. Revista Original scientific paper, p. 165-172, 2007.
11. TEIXEIRA, K.A.B.; SOUZA, J.G.; DOMINGUES, A.J.S.; HENRIQUES, L.L.B. O EFEITO DOS ALIMENTOS FUNCIONAIS NA MICROBIOTA INTESTINAL: O USO DO KEFIR E DA KOMBUCHA NA DIETA ALIMENTAR SAUDÁVEL. REVISTA DE TRABALHOS ACADÊMICOS - UNIVERSO CAMPOS DOS GOYTACAZES, v. 1 , n 10, 2018.