

## Isolamento e Caracterização de bactérias do ácido láctico isoladas da Kombucha

### Isolation and characterization of lactic acid bacteria isolated from Kombucha

<sup>1</sup>Sávio Dias Sousa; <sup>2</sup>Regineide Xavier Santos.

**RESUMO:** kombucha é uma bebida fermentada aeróbica e estática, adoçada por sacarose, contendo uma cultura de bactérias do ácido láctico, acético e leveduras. Essa rica composição, possui propriedades capazes de atuar de forma benéfica ao hospedeiro. Tendo em vista, que a kombucha vem sendo promissora em diversos estudos, este trabalho teve por objetivo prospectar microrganismos da kombucha com potencial antagônico para montar uma biblioteca no intuito de serem aplicadas em futuras pesquisas para seleção de potenciais probióticos. A partir de três kombuchas comerciais foi realizada caracterização fenotípica, teste de Gram, teste de produção e gás e posteriormente houve o congelamento das cepas isoladas. Como resultado, este estudo obteve 12 cepas isoladas e alocada em uma biblioteca de microrganismos, com características de bactérias ácido láctico. Este estudo comprovou que de fato, a kombucha é um preparado fermentado rico em bactérias, e as cepas extraídas serão testadas futuramente contra o fungo *Sporothrix brasiliensis*.

**Palavras-chave:** biblioteca de microrganismos, isolados de kombucha, potencial probiótico.

**ABSTRACT:** Kombucha is an aerobic, static fermented beverage, sweetened by sucrose, containing a culture of lactic and acetic acid bacteria and yeast. This rich composition has properties capable of acting beneficially to the host. Considering that kombucha has been promising in several studies, this work aimed to prospect kombucha microorganisms with antagonistic potential to assemble a library in order to be applied in future research for the selection of potential probiotics. From three commercial kombuchas, phenotypic characterization, Gram test, production and gas test were carried out and later the isolated strains were frozen. As a result, this study obtained 12 strains isolated and allocated in a library of microorganisms, with characteristics of lactic acid bacteria. This study proved that, in fact, kombucha is a fermented preparation rich in bacteria, and the extracted strains will be tested in the future against the fungus *Sporothrix brasiliensis*.

**KEYWORDS:** microorganism library, kombucha isolates, probiotic potential.

## 1- INTRODUÇÃO

Estudos recentes apontam a microbiologia de alimentos e bebidas fermentadas como fortes candidatos no combate a patógenos humanos e não humanos. O objeto de

---

<sup>1</sup> Graduando em Ciências Biológicas Bacharel pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB. E-mail: savindiassousa@gmail.com;

<sup>2</sup> Profa. Dra. da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB. E-mail: regineide.xavier@uesb.edu.br

análise deste estudo é a Kombucha ou SCOBY, uma bebida feita por fermentação aeróbica e estática, adoçada por sacarose, composta por bactérias do ácido acético, bactérias do ácido láctico e leveduras. Além das bactérias, análises químicas da Kombucha mostraram a presença de vários ácidos orgânicos, como o acético, glucônico, L-láctico e oxálico, vitaminas, minerais ânions e compostos polifenólicos; somando o conjunto complexo simbiótico (ZIEMLEWSKA, *et al.*, 2021).

Sendo muito conhecida como uma bebida funcional tendo em vista as propriedades que a compõem, capazes de oferecer proteção antibacteriana, antioxidante, hepatoprotetoras, antidiabética, anti-inflamatória e anticancerígena (BARBOSA, *et al.*, 2022). Haja visto o exposto, o presente trabalho tem por objetivo prospectar microrganismos da kombucha com potencial probiótico para montar uma biblioteca no intuito de serem aplicadas em futuras pesquisas para seleção de potenciais antagonistas.

## **2- MATERIAL E MÉTODO**

Para a bioprospecção de bactérias lácticas foram utilizados três tipos de kombucha comercial com sabores diferentes encontradas em lojas de especiarias na cidade de Vitória da Conquista – Ba. Para o isolamento das bactérias do ácido láctico – BAL's foi utilizado o meio de cultura MRS. Os isolamentos das BAL's foram através de diluições seriadas de alíquotas da Kombucha em solução salina estéril (NaCl 0,9%) onde foram ativadas o seu crescimento em tubos de ensaios contendo 5ml de MRS líquido, incubados por 48 horas, após o crescimento foram plaqueadas em meio MRS sólido e incubados por 48 horas a 30°C.

A partir do crescimento dos isolados com aspectos morfológicos diferentes, no intuito de caracterizar-los fenotipicamente, esses isolados foram submetidos ao teste de Gram para selecionar bactérias Gram-positivas, verificou-se morfolologicamente quanto ao formato de cocos e bacilos. No entanto, para avaliá-los fisiologicamente e bioquimicamente os isolados foram submetidos ao teste de CO<sub>2</sub>, incubados em caldo MRS com tubos de Durham invertidos por 5 dias a 30°C, a fim de diferenciar os isolados homofermentativos e heterofermentativos. Por fim, os isolados foram catalogados e preservados em duplicatas em freezer a uma temperatura de -18°C para posterior utilização.

## **3- RESULTADOS E DISCUSSÃO**

De acordo com os resultados obtidos os quatro isolados da kombucha 01 apresentaram características fenotípicas semelhantes quanto à coloração, as bordas variaram do redondo circular ao irregular, sendo perceptível também elevação côncava

e baixa comum aos isolados, a textura desses isolados também não apresentou grande variação. Os isolados K1-1 e k1-7 são semelhantes quanto a morfologia, porém em outros testes se diferenciam.

As cinco cepas (k2-1; k2-2; k2-3; k2-4 e k2-5) da kombucha 02 apresentaram variação de coloração, suas bordas pouco variaram de redondo circular a irregular, no entanto a maioria dos isolados apresentaram uma elevação baixa, exceto o isolado k2-1. Quanto á textura pode-se notar uma maior predominância de BAL's opacas com apenas dois isolados com textura brilhosa. Do mesmo modo, nos isolados da kombucha 03 suas características fenotípicas foram semelhantes, apenas uma diferenciação quanto a textura do isolado k3-3, assim como ocorreu na kombucha 01, não consiste de ser o mesmo isolado devido em outros resultados fisiológicos e bioquímicos se diferenciaram um dos outros, de acordó com a tabela 1.

**TABELA 1:** caracterização fenotípica

	ISOLADO	COR	BORDA	ELEVAÇÃO	TEXTURA
<b>KOMBUCHA 1</b>	K1-1	Bege	Redonda/Circular	Côncava	Opaca/Cremosa
	K1-3	Bege/Creme	Irregular	Baixa	Brilhante
	K1-4	Bege	Redonda	Baixa	Brilhante
	K1-7	Bege	Redonda/Circular	Côncava	Opaca/Cremosa
<b>KOMBUCHA 2</b>	K2-1	Branca	Redonda/Circular	Côncava	Leitosa/Brilhante
	K2-2	Creme	Redonda/Circular	Baixa	Brilhante
	K2-3	Marrom claro	Irregular	Baixa	Opaca com um ponto marrom no centro
	K2-4	Bege	Irregular	Baixa	Opaca/transparente
	K2-5	Marrom escuro	Irregular	Baixa	Opaca
<b>KOMBUCHA 3</b>	K3-1	Branca	Redonda/Circular	Côncava	Cremosa/Brilhante
	K3-2	Branca	Redonda/Circular	Côncava	Cremosa/Brilhante
	K3-3	Branca	Redonda/Circular	Côncava	Opaca/Cremosa

Fonte: autor, 2022

Após serem submetidas a caracterização fenotípica, foi realizado o teste de Gram no intuito de verificar se as cepas encontradas são ou não bactérias do ácido láctico. De acordo com o teste de Gram todos os isolados das três kombuchas apresentaram aspectos morfológicos cocos e/ou bacilos e o Gram de todas as cepas foram positivos. Quanto ao teste de produção de gás, os isolados da kombucha 01 e 03 são classificados como homofermentativas. Enquanto apenas o isolado k2-1 e k2-3 da kombucha 02 foram homofermentativos, sendo desse modo todas as cepas isoladas da kombucha 02 heterofermentativas, conforme a tabela 2.

**TABELA 2:** teste de Gram e teste de produção de gás

TESTE DE GRAM			TESTE DE PRODUÇÃO DE GÁS	
ISOLADO	FORMATO	GRAM	HOMOFERMENTATIVA	HETEROFERMENTATIVA

<b>KOMBUCHA 1</b>	K1-1	Cocos	Positivo	x	
	K1-3	Bacilos	Positivo	x	
	K1-4	Cocos bacilos	Positivo	x	
	K1-7	Cocos bacilos	Positivo	x	
<b>KOMBUCHA 2</b>	K2-1	Bacilos	Positivo	x	
	K2-2	Cocos bacilos	Positivo		x
	K2-3	Cocos bacilos	Positivo	x	
	K2-4	Cocos bacilos	Positivo		x
	K2-5	Cocos bacilos	Positivo		x
<b>KOMBUCHA 3</b>	K3-1	Cocos bacilos	Positivo	x	
	K3-2	Cocos bacilos	Positivo	x	
	K3-3	Cocos bacilos	Positivo	x	

**Fonte:** autor, 2022

Os resultados apontam que todos os outros isolados podem ser considerados BAL's, com exceção das cepas k2-2, k2-4 e k2-5 da kombucha 02 podendo ser bactérias do ácido acético, em virtude de o preparado de kombucha possuir um amplo espectro de microrganismos em sua composição e as cepas serem heterofermentativas. O objetivo proposto inicialmente foi alcançado, tendo em vista que a biblioteca de microrganismos foi montada a partir dos 12 isolados obtidos das três kombuchas. Os microrganismos foram preservados e catalogados em duplicata e armazenados em freezer a uma temperatura de -18°C para possível utilização futura.

#### 4- CONCLUSÕES

A Kombucha se torna atualmente um campo de estudo em ênfase devido à alta incidência de bactérias do ácido láctico, sendo capaz de combater e prevenir patologias. Objetiva-se aplicar essas cepas em teste de antagonismo contra o fungo *Sporothrix brasiliensis*, fungo causador da doença esporotricose em cães e gatos.

#### 5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, Erica L.; NETTO, Maritza C.; JUNIOR, Lauro B. et al., Kombucha fermentation in blueberry (*Vaccinium myrtillus*) beverage and its in vivo gastroprotective effect: Preliminary study. **Future Foods**. V. 5, p. 1-12, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S266683352200017X> Acesso em: 20 de junho de 2022.
- ZIEMLEWSKA, Aleksandra; NIZIOŁ-ŁUKASZEWSKA, Zofia; BUJAK, Tomasz et al., Effect of fermentation time on the content of bioactive compounds with cosmetic and dermatological properties in Kombucha Yerba Mate extracts. **Scientific Reports**. V. 11, p. 1-15, 2021. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-98191-6> Acesso em: 07 de julho de 2022.