

AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE KOMBUCHA COMERCIAL EM CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE *Allium cepa*

Yan Charles Alves Rocha¹, Francine Novais Souza², Regineide Xavier Santos²

RESUMO

A kombucha, um chá fermentado de origem asiática, tem ganhado popularidade nos últimos anos devido aos seus diversos benefícios à saúde, como propriedades antioxidantes, antimicrobianas e imunomoduladoras. No entanto, poucos estudos foram realizados para análises dos potenciais riscos associados ao consumo dessa bebida. Nesse contexto, este estudo teve como objetivo avaliar o potencial do efeito citotóxico de kombucha. A avaliação da atividade citotóxica da kombucha foi realizada em células meristemáticas de *Allium cepa*., conforme o protocolo de Meyer (1982). Os efeitos da kombucha nas concentrações estudadas indicam que as doses não afetaram a divisão celular. Portanto, a bebida kombucha não possui efeitos genotóxicos, pois todas as concentrações não causaram inibição do ciclo celular.

PALAVRAS-CHAVE: Chá fermentado, índice mitótico, toxicidade.

EVALUATION OF THE CYTOTOXICITY OF COMMERCIAL KOMBUCHA ON MERISTEMATIC CELLS OF *Allium cepa*

ABSTRACT

Kombucha, a fermented tea of Asian origin, has gained popularity in recent years due to its various health benefits, such as antioxidant, antimicrobial, and immunomodulatory properties. However, concerns have arisen regarding its toxicity and the impacts of preparation methods. In this context, this study aimed to evaluate the potential cytotoxic effect of commercial kombucha on meristematic cells of *Allium cepa*. Kombucha didn't reduce the cell Division in *A. cepa*, with the treatments showing no decrease or increase in their mitotic index percentage, being statistically similar to the negative control.

KEYWORDS: Fermented tea, mitotic index, toxicity.

INTRODUÇÃO

A kombucha é uma bebida fermentada de origem asiática, preparada tradicionalmente a partir da fermentação de chá preto ou chá verde adoçado (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) e adicionado a uma cultura contendo um consórcio simbiótico de bactérias e leveduras (SCOBY – *Symbiotic Culture os Bacteria and Yeast*)(Mudadam *et al.*, 2016).

Nos últimos anos, a kombucha ganhou popularidade no Ocidente como um símbolo de estilo de vida saudável por seus inúmeros efeitos terapêuticos, os quais são abordados em diversos estudos (Bode & Dong, 2003; Jayabalan *et al.*, 2014; Morales, 2020).

¹ Discente do curso de Ciências Biológicas – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

² Docente do Departamento de Ciências Naturais – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Produtos naturais são amplamente valorizados pelos potenciais benefícios à saúde, mas nem sempre são isentos de riscos. A ideia de que “natural” significa “seguro” pode levar ao uso indiscriminado desses produtos, sem a devida avaliação científica da sua eficácia e segurança. Apesar das suas propriedades, diversos casos apontam que o consumo da kombucha pode ser prejudicial, principalmente se o modo de preparo for feito de maneira incorreta, pois há chances de microrganismos patogênicos contaminarem a bebida durante o processo, além disso, o consumo excessivo deve ser evitado (Martini, 2018).

Os testes de toxicidade objetivam avaliar ou prever efeitos tóxicos em sistemas biológicos e medir a toxicidade de diferentes substâncias (Forbes & Forbes, 1994). Ensaio podem ser utilizados para esse propósito, como o bioensaio com *Allium cepa* para avaliação da citotoxicidade e genotoxicidade (Blois, 1958).

Com o intuito de explorar os potenciais efeitos citotóxicos da kombucha, o presente estudo tem como objetivo avaliar o potencial toxicológico por meio do ensaio de *Allium cepa*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Teste de *Allium cepa*

As cebolas tiveram suas cascas mais superficiais removidas, posteriormente foram lavadas com água sanitária. Os bulbos foram dispostos para germinar com a parte inferior mergulhada em água destilada, por 7 dias em temperatura ambiente.

As raízes foram mergulhadas em diferentes concentrações da kombucha (10%, 50% e 100%) e seus controles. O controle negativo foi água destilada e o positivo sulfato de cobre na concentração de 0,006 mg/L. Após exposição aos controles e tratamentos, fragmentos das raízes foram retirados e fixados por 24h em solução etanol: ácido-acético (3:1), depois foram dispostos em freezer, armazenados em etanol 70%.

As raízes coletadas foram duplamente lavadas com água destilada por 5min e hidrolisadas com HCl por 8min, em seguida foram lavadas com água destilada gelada para interromper a reação.

Posteriormente, as raízes foram coradas com reagente de Schiff, as regiões meristemáticas das radículas foram dispostas em lâminas de microscopia e o excesso do corante foi removido. Um corte transversal foi conduzido na região meristemática da raiz e o material foi realocado para outra lâmina com uma gota de ácido acético 45%, em seguida, o tecido vegetal foi embebido em bálsamo do Canadá. Foram analisadas 1.200 células por tratamento (400 por lâmina) e observadas as células em interfase e mitose para o cálculo do Índice Mitótico (IM).

Para o cálculo empregou-se a seguinte equação:

$$\text{Índice Mitótico (IM)} = M / T \cdot 100$$

Onde: M = Número de células em mitose, T = Número total de células.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados para a análise citotóxica da kombucha em meristemas de raízes de *Allium cepa* encontram-se expressos na Tabela 1. Os efeitos da kombucha nas concentrações de 10; 50; e 100% sobre os índices mitóticos das células de *A. cepa* expostas não foram estatisticamente diferentes do controle negativo (CN), sugerindo que o chá kombucha não afeta a divisão celular.

TABELA 1. Frequência das diferentes fases da mitose e Índice mitótico em células meristemáticas de raízes de *A. cepa* expostas a kombucha.

Tratamentos(%) e controles	Intérfase	Células em divisão				Índice mitótico(%)
		Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	
CN	86	313,89	0,11	0	0	15,70a
CP	79	316,22	3,67	1	0,11	17,31a
10	53,89	342,33	2,67	1,11	0	16,05a
50	69,22	330,22	0,33	0,22	0	15,13a
100	81,56	304,44	17,11	2,11	0,33	15,92a

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% ($p < 0,05$). **CN**= controle negativo; **CP**= controle positivo. FONTE: Próprio autor.

O controle positivo não foi considerado para discussão, pois o mesmo não foi eficaz em apresentar efeito citotóxico sobre a divisão celular de *Allium cepa*, apresentando efeito semelhante ao do controle negativo (CN) em função das concentrações e/ou tempo de exposição que foram utilizadas.

Estudos mostram que a kombucha contém compostos fenólicos e metabólicos com atividade antioxidante e até efeitos protetores alguns modelos (Antolak, Piechota e Kucharska, 2021; Burgazli *et al.*, 2024), o que pode reduzir danos ao DNA. Estudos *in vivo* e trabalhos *in vitro* também não reportam sinais significativos de toxicidade para kombucha em condições de estudo controlados, entretanto, há relatos clínicos isolados de efeitos adversos, como casos de intoxicação (Srinivasan, Smolinske e Greenbaum, 1997; Vijayaraghavan *et al.*, 2000).

Os resultados da contagem de células em diferentes fases da mitose do tecido meristemático das raízes de *A. cepa* expostas á kombucha e aos controles por 24h estão na **Tabela 1**. Na divisão mitótica, o estágio de metáfase apresentou alteração na dose testada de 100% da kombucha em comparação ao controle negativo.

O aumento da proporção de células na metáfase, indica um bloqueio no ponto de checagem do fuso mitótico. O ponto de checagem na mitose proporciona que os cromossomos sejam corretamente separados, esse processo impossibilita que as células com cromossomos alterados finalizem a mitose (Heredia, 2012). E para tanto, um inibidor poderá parar o ciclo celular até que todos os cromossomos estejam corretamente alinhados (Heinrich, 2013). Todavia, essa condição representa um impeditivo na progressão da mitose com erros, prevenindo a formação de células com um número incorreto de cromossomos.

CONCLUSÕES/CONSIDERAÇÕES

A kombucha não apresenta atividade citotóxica em células meristemáticas de *A. cepa*, mas, proporcionou uma alteração em fases da mitose. Os resultados deste estudo evidenciam a sua importância e indicam que, embora já existam estudos sobre os seus efeitos benéficos, mais investigações sobre a toxicidade da kombucha são importantes. Para tanto, são necessárias outras metodologias em modelos experimentais capazes de oferecer mais exatidão na avaliação toxicológica dessa bebida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANTOLAK, H.; PIECHOTA, D.; KUCHARSKA, A. **Kombucha tea – a double power of bioactive compounds from tea and symbiotic culture of bacteria and yeasts (SCOBY)**. *Antioxidants* (Basel), 2021, v. 10, n. 10, p.1541.
2. BLOIS, M. S. **Antioxidant determinations by the use of a stable free radical**. *Nature*, 1958, v. 181, p. 1199-1200.
3. BODE, A. M.; DONG, Z. **Signal transduction pathways: targets for green and black tea polyphenols**. *BMB Reports*, 2003, v. 36, n. 1, p. 66-77.
4. BURGAZLI, A. Y.; TAGORTI, G.; YALÇIN, B.; GÜNES, M.; EROGLU, B.; DELIK, E.; ÖZTÜRK, B. E. T.; KAYA, B. **Antigenotoxic and life-prolonging effects of flavoured kombuchas on *Drosophila melanogaster***. *Food Technology and Biotechnology*, 2024, v. 62, n. 2, p. 133-139.
5. FORBES, V. E.; FORBES, T. L. **Ecotoxicology in theory and practice**. Londres: Chapman and Hall, 1994, p. 247.
6. HEINRICH, S.; GEISSEN, E. M.; KAMENZ, J.; TRAUTMANN, S.; WIDMER, C.; DREWE, P.; KNOP, M.; RADDE, N.; HASENAUER, J.; HAUF, S. **Determinants of robustness in spindle assembly checkpoint signaling**. *Nature Cell Biology*, 2013, v. 15, n. 11, p. 1328-1339.
7. HEREDIA, F. F. **Estudo de proteínas relacionadas ao fuso mitótico (AURORA A e AURORA B) e ponto de checagem mitótica (CDC20 e MAD2L1) em pacientes portadores de síndrome mielodisplásica**. Tese (Doutorado) – Fundação Antônio Prudente e Escola Cearense de Oncologia – ECO. Programa de Pós-Graduação Interinstitucional (Dinter) em Oncologia, Fortaleza, 2012.

8. JAYABALAN, R.; MALBASA, R. V.; LONCAR, E. S.; VITAS, J. S.; SATHISHKUMAR, M. **A review on kombucha tea – microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus.** Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2014, v. 13, n. 4, p. 538-550.
9. MARTINI, N. **Kombucha.** J. Prim. Health Care, 2018, v. 10, n.1, p. 93-94.
10. MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: **A convenient general bioassay for active plant constituents.** Journal of Medicinal Plant Research: Planta Médica, 1982, v. 45, n.1, p. 31-34.
11. MORALES, D. **Biological activities of kombucha beverages; the need of clinical evidence.** Trends in Food Science & Technology, 2020, v. 105, p. 323-333.
12. SRINIVASAN, R.; SMOLINSKE, S.; GREENBAUM, D. **Probable gastrointestinal toxicity of kombucha tea: is this beverage healthy or harmful?.** Journal of General Internal Medicine, 1997, v. 12, n. 10, p. 643-644.
13. VIJAYARAGHAVAN, R.; SINGH, M.; RAO, P. V.; BHATTACHARYA, R.; KUMAR, P.; SUGENDRAN, K.; KUMAR, O.; PANT, S. C.; SINGH, R. **Subacute (90 days) oral toxicity studies of kombucha tea.** Biomedical and Environmental Sciences, 2000, v. 13, n. 4, p. 293-299.