# EFEITOS DO PRÉ-TRATAMENTO POR CAMPO ELÉTRICO PULSADO SOBRE A CINÉTICA FERMENTATIVA E QUALIDADE DA KOMBUCHA

**Palavras-Chave: Bebida fermentada; bactérias acéticas; bactérias ácido-láticas; acidez titulável.**

**Autores:**

**CESAR MELO MARTINS FILHO, DETA – UNICAMP**

**Prof. Dr. ERIC KEVEN SILVA (Orientador), DETA – UNICAMP**

## INTRODUÇÃO:

Com um aumento da preocupação com a saúde e a alimentação, há um crescente interesse por produtos que contribuam para a prevenção de doenças crônicas como diabetes, obesidade e dislipidemias (Correa et al., 2024). Nesse contexto, alimentos fermentados, como a kombucha, têm despertado atenção por seus múltiplos efeitos benéficos à saúde, atribuídos à ação de microrganismos vivos e compostos bioativos produzidos durante a fermentação (Tamang et al., 2020; Kocot & Wróblewska, 2021).

A kombucha é uma bebida fermentada tradicionalmente produzida a partir do chá preto ou verde adoçado, utilizando uma cultura simbiótica de bactérias e leveduras (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* – SCOBY), sendo rica em compostos fenólicos, ácidos orgânicos e vitaminas. Entre seus benefícios, destacam-se ações antioxidantes, antimicrobianas, antiproliferativas e hepatoprotetoras (Martínez Leal et al., 2018; Hyun et al., 2016; Kaewkod et al., 2019). A presença de flavonoides como as catequinas, além de ácidos como o glucurônico e o acético, reforça o seu potencial funcional (Jayabalan et al., 2014).

Apesar do potencial da kombucha, seu processo fermentativo é lento e pouco controlado, o que pode afetar a padronização e a qualidade do produto. Neste cenário, tecnologias emergentes como o campo elétrico pulsado (*Pulsed Electric Field* - PEF) têm se destacado por promover eletroestimulação celular, facilitando o transporte de nutrientes e modulando o metabolismo microbiano. O PEF consiste na aplicação de pulsos elétricos de curta duração (micro a nanosegundos) para induzir a permeabilização reversível das membranas celulares microbianas, favorecendo o transporte de nutrientes e alterando o metabolismo celular (Barba et al., 2015; Chanos et al., 2020). Tais efeitos podem acelerar a fermentação, melhorar a qualidade sensorial e aumentar a produção de compostos bioativos (Al Daccache et al., 2020; Demir et al., 2023).

Estudos com tecnologias semelhantes, como o ultrassom, demonstraram aumento do potencial bioativo da bebida e modulação positiva da microbiota fermentadora (Fonteles et al., 2024). Sendo um processo

não térmico, o PEF também se destaca por sua eficiência energética, baixo impacto térmico sobre os microrganismos e potencial de escalabilidade industrial (Arshad et al., 2021; Bocker & Silva, 2024).
Diante disso, este estudo avaliou o impacto do PEF como pré-tratamento na cultura simbiótica de kombucha, investigando efeitos sobre a cinética fermentativa e parâmetros de qualidade da bebida.

## METODOLOGIA:

**Ativação da Cultura**: A cultura inicial, composta por dois pedaços de SCOBY de aproximadamente 10 g, foi inoculada em 1 L de chá verde adicionado de 45 g de sacarose. Fermentou-se esta mistura por 10 dias a 25 °C, sendo que esta ativação inicial da cultura foi realizada mais quatro vezes repetindo a mesma formulação a fim de se obter uma massa de SCOBY suficiente para uso nos diferentes tratamentos e para uma cultura de manutenção.
**Aplicação do PEF**: Após período inicial de ativação do consorcio microbiano, conduziram-se experimentos com kombucha utilizando pré-tratamento por PEF. O pré-tratamento foi realizado em 200 mL de kombucha pré-fermentada, utilizando PEF com os seguintes parâmetros: Intensidade de campo elétrico de 2 kV/cm, frequência de 10 Hz, 100 pulsos com duração de 100 µse distância entre eletrodos de 5 cm.
**Fermentação Experimental**: Após o tratamento, adicionaram-se 300 mL de chá adoçado (10 g de chá e 45 g de sacarose/L) e 15 g de SCOBY. A fermentação foi conduzida por 10 dias a 25 °C, empregando metodologia *backslopping* para reduzir variações entre ensaios. Durante o processo, monitoraram-se parâmetros físico-químicos (pH, sólidos solúveis, acidez titulável), ganho de massa e contagem microbiológica de bactérias acéticas (BAA) e ácido-láticas (BAL).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A Figura 1 ilustra os efeitos do pré-tratamento por PEF sobre o ganho de massa, as contagens de BAA e BAL, além dos parâmetros pH, sólidos solúveis e acidez titulável, em comparação à bebida controle não tratada. O ganho de massa da amostra pré-tratada com PEF foi significativamente (p-valor $< 0,05$) superior ao controle não tratado (Figura 1-a), indicando que o pré-tratamento favoreceu a formação do biofilme do SCOBY. Esse comportamento pode ser atribuído à maior permeabilidade celular induzida pela eletroporação, que potencializa a absorção de nutrientes e a síntese de polímeros extracelulares.

As contagens microbianas revelaram crescimento estável de BAA e BAL ao longo da fermentação, sem diferenças marcantes entre os tratamentos (Figura 1-b e 1-c). Esses achados sugerem que o efeito do PEF ocorreu principalmente em nível metabólico, e não populacional, corroborando estudos que associam a eletroestimulação a alterações no metabolismo sem aumento da viabilidade (Stühmeier-Niehe et al. (2023)).

O pH manteve comportamento semelhante em ambos os grupos (Figura 1-d), embora com valores iniciais ligeiramente inferiores aos reportados na literatura para kombucha tradicional, possivelmente devido à baixa presença de leveduras. Esse fator pode ter limitado a produção de etanol e subsequente formação de ácidos orgânicos. Quanto aos sólidos solúveis e à acidez titulável, não foram observadas diferenças relevantes entre os tratamentos (Figura 1-e e 1-f), o que indica que a aplicação do PEF não comprometeu a dinâmica geral da fermentação, mantendo características importantes para a estabilidade e aceitação sensorial da bebida.

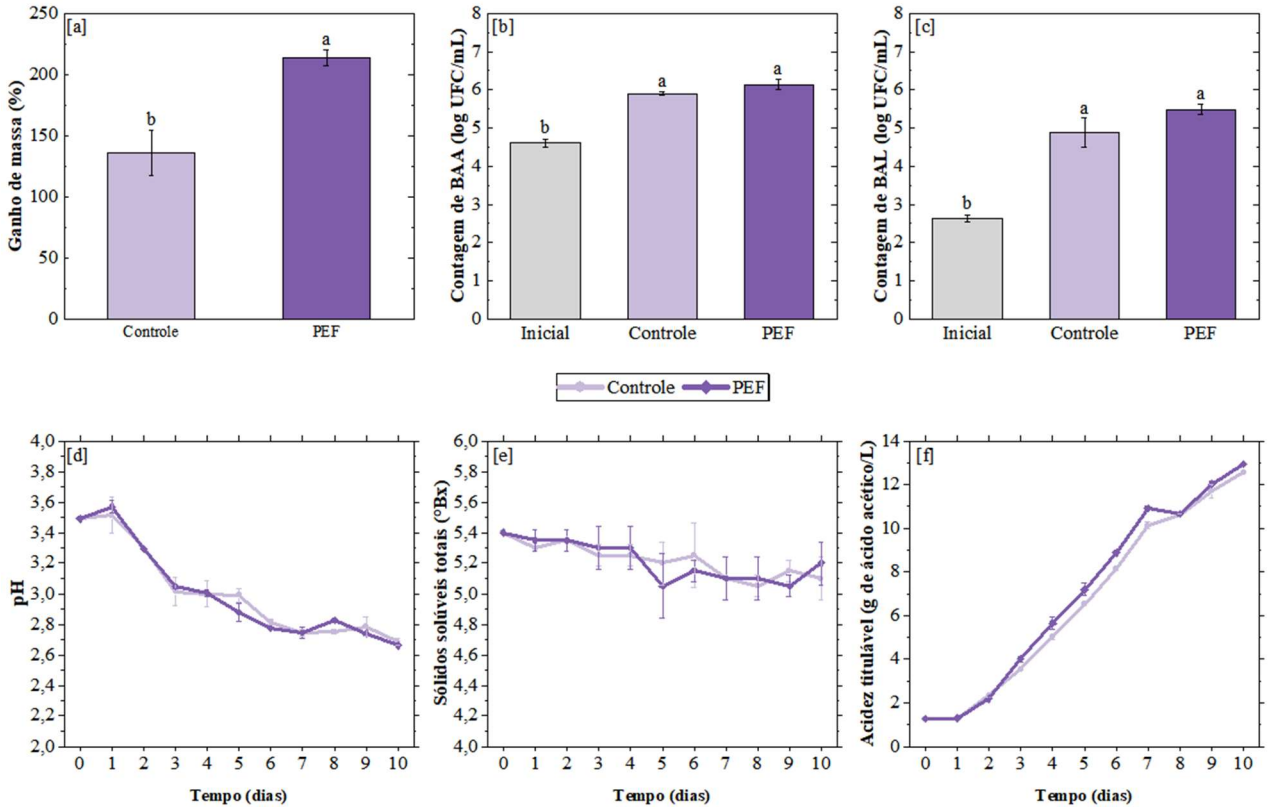


**Figura 1.** Análises durante a fermentação de kombucha: [a] Ganho de massa (%); [b] Contagem de BAA (log UFC/mL); [c] Contagem de BAL (log UFC/mL); [d] pH × Tempo (dias); [e] Sólidos solúveis totais (°Bx) × Tempo (dias); [f] Acidez titulável (g ácido acético/L) × Tempo (dias).

## CONCLUSÕES:

Os resultados demonstraram que a aplicação do PEF como pré-tratamento da cultura simbiótica de kombucha é uma estratégia promissora para o aprimoramento da fermentação da bebida, especialmente por sua aplicação como pré-tratamento não térmico. Os parâmetros testados conduziram a um maior ganho de massa, acompanhado da manutenção dos principais indicadores de estabilidade fermentativa, como o crescimento de bactérias acéticas (BAA) e ácido-láticas (BAL), pH, sólidos solúveis totais e acidez titulável. Esses achados indicam que o PEF pode induzir bioestimulação metabólica sem comprometer a estabilidade da fermentação, abrindo perspectivas para processos mais rápidos, padronizados e com maior controle tecnológico. Estudos futuros devem avaliar o impacto dessa

abordagem na produção de compostos bioativos e na qualidade sensorial da bebida, visando sua aplicação em escala industrial.

## AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro ao Auxílio à Pesquisa (2020/11255-3) e pela bolsa de Iniciação Científica concedida (2024/04948-3). Este suporte foi essencial para o desenvolvimento do presente trabalho.

## BIBLIOGRAFIA

**AL DACCACHE, M.; KOUBAA, M.; MAROUN, R. G.; SALAMEH, D.; LOUKA, N.; VOROBIEV, E.** Pulsed electric field-assisted fermentation of *Hanseniaspora* sp. yeast isolated from Lebanese apples. *Food Research International*, Amsterdã, v. 129, p. 108840, 2020.

**ARSHAD, R. N.; ABDUL-MALEK, Z.; ROOBAB, U.; MUNIR, M. A.; NADERIPOUR, A.; QURESHI, M. I.; EL-DIN BEKHIT, A.; LIU, Z.-W.; AADIL, R. M.** Pulsed electric field: A potential alternative towards a sustainable food processing. *Trends in Food Science & Technology*, Londres, v. 111, p. 43–54, 2021.

**BARBA, F. J.; PARNIAKOV, O.; PEREIRA, S. A.; WIKTOR, A.; GRIMI, N.; BOUSSETTA, N.; SARAIVA, J. A.; RASO, J.; MARTIN-BELLOSO, O.; WITROWA-RAJCHERT, D.; LEBOVKA, N.; VOROBIEV, E.** Current applications and new opportunities for the use of pulsed electric fields in food science and industry. *Food Research International*, Amsterdã, v. 77, p. 773–798, 2015.

**BOCKER, R.; SILVA, E. K.** Pulsed electric field technology as a promising pre-treatment for enhancing orange agro-industrial waste biorefinery. *RSC Advances*, Cambridge, v. 14, n. 3, p. 2116–2133, 2024.

**CHANOS, P.; WARNCKE, M. C.; EHRMANN, M. A.; HERTEL, C.** Application of mild pulsed electric fields on starter culture accelerates yogurt fermentation. *European Food Research and Technology*, Berlim, v. 246, n. 3, p. 621–630, 2020.

**CORREA, A. C.; LOPES, M. S.; PERNA, R. F.; SILVA, E. K.** Fructan-type prebiotic dietary fibers: Clinical studies reporting health impacts and recent advances in their technological application in bakery, dairy, meat products and beverages. *Carbohydrate Polymers*, Amsterdã, v. 323, p. 121396, 2024.

**DEMIR, E.; TAPPI, S.; DYMEK, K.; ROCCULI, P.; GÓMEZ GALINDO, F.** Reversible electroporation caused by pulsed electric field – Opportunities and challenges for the food sector. *Trends in Food Science & Technology*, Londres, v. 139, p. 104120, 2023.

**FONTELES, T. V.; DOS SANTOS, A. Y. S.; LINHARES, M. F. D.; MIGUEL, T. B. A. R.; MIGUEL, E. C.; RODRIGUES, S.** Metabolic responses of kombucha consortium fermentation upon ultrasound-processing. *Food Chemistry Advances*, Amsterdã, v. 4, p. 100646, 2024.

**HYUN, J.; LEE, Y.; WANG, S.; KIM, J.; KIM, J.; CHA, J.; SEO, Y.-S.; JUNG, Y.** Kombucha tea prevents obese mice from developing hepatic steatosis and liver damage. *Food Science and Biotechnology*, Seul, v. 25, n. 3, p. 861–866, 2016.

**JAYABALAN, R.; MALBAŠA, R. V.; LONČAR, 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*, Chicago, v. 13, n. 4, p. 538–550, 2014.

**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*, Basel, v. 7, n. 12, art. 700, 2019.

**KOCOT, A. M.; WRÓBLEWSKA, B.** Fermented products and bioactive food compounds as a tool to activate autophagy and promote the maintenance of the intestinal barrier function. *Trends in Food Science & Technology*, Londres, v. 118, p. 905–919, 2021.

**MARTÍNEZ LEAL, J.; VALENZUELA SUÁREZ, L.; JAYABALAN, R.; HUERTA OROS, J.; ESCALANTE-ABURTO, A.** A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA – Journal of Food*, Londres, v. 16, n. 1, p. 390–399, 2018.

**STÜHMEIER-NIEHE, C.; LASS, L.; BROCKSIEPER, M.; CHANOS, P.; HERTEL, C.** Pre-treatment of starter cultures with mild pulsed electric fields influences the characteristics of set yogurt. *Foods*, Basel, v. 12, n. 3, p. 442, 2023.

**TAMANG, J. P.; COTTER, P. D.; ENDO, A.; HAN, N. S.; KORT, R.; LIU, S. Q.; MAYO, B.; WESTERIK, N.; HUTKINS, R.** Fermented foods in a global age: East meets West. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Chicago, v. 19, n. 1, p. 184–217, 2020.