

## Análisis bromatológicos de bebidas fermentadas con alto contenido de probióticos a base de kombucha.

Bromatological analysis of kombucha-based fermented beverages with a high content of probiotics.

Acevedo Ruiz Mariela<sup>1</sup>, Albino García Diana<sup>2</sup>, Montoya Ortega Jesús Tadeo<sup>3</sup>, Ramírez Manríquez Haly Julieta<sup>4</sup>, Rivas García Iris Monserrat<sup>5</sup>, Solorzano Olivares Rebeca Itzel<sup>6</sup>, Omar S. Castillo-Baltazar<sup>7</sup> y Adan Topiltzin Morales-Vargas<sup>8</sup>

<sup>1-8</sup> División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad de Guanajuato, Campus Celaya-Salvatierra, Calle Mutualismo S/N 38060, Celaya, Guanajuato, México.

[m.acevedoruiz@ugto.mx](mailto:m.acevedoruiz@ugto.mx)<sup>1</sup>, [d.albinogarcia@ugto.mx](mailto:d.albinogarcia@ugto.mx)<sup>2</sup>, [jt.montoyaortega@ugto.mx](mailto:jt.montoyaortega@ugto.mx)<sup>3</sup>, [hj.ramirezmanriquez@ugto.mx](mailto:hj.ramirezmanriquez@ugto.mx)<sup>4</sup>, [im.rivasgarcia@ugto.mx](mailto:im.rivasgarcia@ugto.mx)<sup>5</sup>, [ri.solorzanolivares@ugto.mx](mailto:ri.solorzanolivares@ugto.mx)<sup>6</sup>, [omar.castillo@ugto.mx](mailto:omar.castillo@ugto.mx)<sup>7</sup> y [topiltzin.morales@ugto.mx](mailto:topiltzin.morales@ugto.mx)<sup>8</sup>

### Resumen

La kombucha es una bebida no alcohólica fermentada que se prepara a base de té, es precisamente la fermentación que permite que el té se transforme en una bebida con una gran cantidad de vitaminas, minerales, ácidos orgánicos y probióticos, que promueven grandes beneficios para la salud. La investigación, y desarrollo bromatológico de esta bebida fermentada kombucha se elaboró a base de té negro, al cual se agregó una colonia de levaduras y bacterias conocida como SCOBY (Symbiotic Colony of Bacteria and Yeast) que fueron necesarias para llevar a cabo la fermentación y como la fuente de carbono se utilizó piloncillo. El principal objetivo de esta investigación es obtener los datos del análisis bromatológico, entre ellos, grados Brix (°Bx), acidez titulable, pH, y, determinación de nitrógeno total mediante el método de Kjeldahl, modificado por Nessler.

**Palabras clave:** Bebida fermentada, Probióticos, Kombucha

### Introducción

La Kombucha es una bebida ligeramente dulce y ácida, tradicionalmente producida a partir de la fermentación del té negro o verde (*Camellia sinensis*), con la adición de azúcar o piloncillo mediante una biopelícula de celulosa que contiene un cultivo simbiótico de bacterias y levaduras (SCOBY) (Kapp y Sumner, 2019), también conocida como "hongo de té" (Dutta y Paul, 2019). Este cultivo consiste en una simbiosis de bacterias acéticas, bacterias ácido lácticas y levaduras osmófilas (Cardoso et al., 2020). Se cree que la kombucha tuvo su origen en el noreste de China (Manchuria), donde fue valorada durante la dinastía Tsin ("Ling Chi"), alrededor del 220 a.C., por sus supuestos beneficios para la salud (Chakravorty et al., 2019). Con la expansión de las rutas comerciales, comenzó a migrar al resto del mundo. Además de China, Corea y Japón, la popular práctica de consumir kombucha se hizo prevalente en Rusia y otros países de Europa del Este, y emergió en Alemania en el siglo XX (Dutta y Paul, 2019; Jayabalan et al., 2014). En la década de 1950, llegó a Francia y también al norte de África. El hábito de consumir bebidas fermentadas se volvió aceptable en toda Europa, lo que aumentó aún más su popularidad en la década de 1960. Hoy en día, la kombucha se vende en todo el mundo (Jayabalan et al., 2014) y sigue ganando popularidad, especialmente en América.

Debido a su facilidad de uso, sabor y especialmente, sus propiedades para la promoción de la salud, la kombucha se ha convertido en una bebida atractiva. Algunos de los beneficios atribuidos a la kombucha ya han sido comprobados en estudios *in vitro* y con animales, como el control del estrés oxidativo (Srihari, Karthikesan, et al., 2013), actividad antimicrobiana (Battikh et al., 2013), el tratamiento y prevención de la diabetes (Aloulou et al., 2012), la reducción de la propagación del cáncer (Srihari, Arunkumar, et al., 2013) y la mejora de la función hepática (hepatoprotectora) (Wang et al., 2014).

La kombucha es una bebida rica en sustancias con propiedades bioactivas, especialmente compuestos fenólicos. Estos representan el grupo principal de antioxidantes presentes en la kombucha y son responsables

de los supuestos beneficios para la salud de la bebida (Cardoso et al., 2020). En este estudio se realizó un análisis bromatológico sobre te de kombucha, en este proyecto nos enfocamos específicamente en la elaboración de la kombucha y en las en las determinaciones de pH, acidez titulable, concentración de nitrógeno y azúcares presentes..

## Materiales y métodos

### 1. Condiciones de fermentación

#### 1.1 Preparación del té negro (*Camellia sinensis*)

Se prepararon 6L de agua, con 30 sobres de té negro marca McCormick y 656g de piloncillo lo que es equivalente al 10% del volumen preparado.

#### 1.2 Preparación del SCOBY

De una fermentación previa se tomaron 300ml lo equivalente 10% del volumen total a fermentar, se deja remojando el scoby en vinagre de manzana por 10 min para desinfectarlo y posteriormente se lava con agua de garrafón.

#### 1.3 Preparación de la fermentación

Una vez enfriado el té previamente preparado, en dos frascos con capacidad de 5L, se agregan 2.7 L a cada uno, posteriormente se agregaron los 300ml de una fermentación anterior y 359 g del SCOBY a cada uno.

### 2. Determinación de grados Brix

La determinación de solidos solubles presentes en las muestras de kombucha se realizó basándose en la NMX-F-103-1982 utilizando un refractómetro calibrado previamente con agua destilada y los resultados obtenidos se registraron como °Bx.

### 3. Determinación de pH

El pH se determinó con ayuda de un potenciometro. Para lo cual se tomaron muestras de 50ml de kombucha en un tubo Falcon, los resultados obtenidos se registraron como pH.

### 4. Determinación de acidez

La evaluación de acidez titulable se llevó conforme a la NMX-F-511-1988, utilizando como reactivos Hidróxido de Sodio (NaOH) 0.01N y Fenolftaleína al 1% como indicador, se tomó una muestra de kombucha de 1 ml diluyó en proporción 1:9 de agua destilada y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 250 ml adicionando 5 gotas de fenolftaleína. Se utilizo una bureta de 25 ml para realizar la titulación y para mantener constante agitación se utilizó una plancha de agitación con una barra magnética de agitación. Para el cálculo de los valores se utilizó Excel. La fórmula correspondiente para la determinación de los gramos de ácido acético es la siguiente:

$$\text{Acidez } \frac{\text{g}}{\text{L}} (\text{ácido acético}) = \frac{V \cdot N \cdot 0.06}{M} \cdot 1000$$

### 5. Determinación de nitrógeno

La determinación de nitrógeno total presente en la kombucha se realizó basándose en la metodología de determinación de TKN HACH (1999), donde inicialmente se realizó una digestión en el digestor Digesdahl, donde se colocó en el matraz de digestión una muestra de 2 ml de la fermentación de kombucha y se diluyo en una relación 2:4 con agua destilada, se adicionaron 9 perlas de ebullición previamente tratadas con HNO<sub>3</sub> 0.1N posteriormente se adicionaron 5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se sometió a ebullición a una temperatura de 440 °C tras haber precalentado por un minuto la plancha a la misma temperatura, después de la formación de

burbujas por ebullición se mantuvo a 440 °C por 3 minutos, transcurrido este tiempo se adiciona Peróxido de Hidrogeno en pequeños volúmenes hasta completar un total de 17 ml y que la muestra este totalmente transparente, posterior a esto se transfiere la muestra ya fría del matraz de digestión a un tubo Falcon estéril.

#### 5.1 Preparación de muestras para espectrofotómetro

Se tomo 1ml de la muestra previamente digerida en el digestor Digesdahl. En un matraz volumétrico se colocó la muestra, y en el siguiente orden se agregaron por goteo y agitación los reactivos de Nessler de acuerdo con METODO HACH-KJELDAHL, MODIFICADO POR NESSLER:

1. Se añadió 1 gota de solución indicadora TKN a cada vaso.
2. Se añadió solución de KOH 8N, hasta que la primera coloración "azul aparente" se presente.
3. Se añadió 3 gotas de solución del reactivo Mineral Stabilizer.
4. Se añadió 3 gotas del reactivo Polyvinyl Alcohol Dispersing Agent.

Se aforó a 25ml en el matraz, se agita y posteriormente se llenó la celda con 10ml de la muestra preparada. Este proceso se repitió para cada una de las muestras (blanco, digestión 1, digestión 2).

#### 5.2 Lectura en el espectro fotómetro

Se utilizó el espectrofotómetro HACH DR/4000. Se inserto el adaptador de celda de prueba en el módulo de la celda de la muestra, se alineo y sujetó con el tornillo.

Una vez estabilizado el espectrofotometro se seleccionó el programa HACH PROGRAM: 2410 NITROGEN, TKN. La longitud de onda (A), a 460 m es automáticamente seleccionada. Las mediciones obtenidas de las 3 muestras se registraron como Nitrógeno total.

## Resultados y discusiones

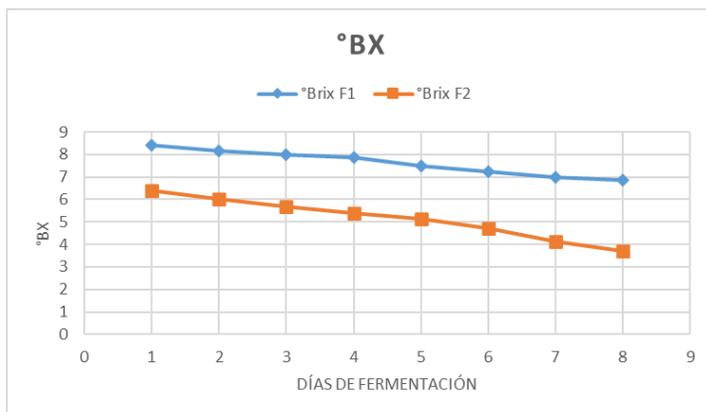
Los resultados obtenidos de la determinación bromatológica de la kombucha se muestran a continuación. La fermentación de te negro con kombucha se realizó en un sistema por lotes en un periodo de 8 días de fermentación, durante los cuales se monitorearon los siguientes parámetros °Bx, pH, Acidez titulable, y nitrógeno total para el día 1 y 8. El proceso de fermentación se realizó por duplicado

### 1. Grados Brix °Bx

Kombucha ha sido objeto de investigación e interés por sus propiedades y beneficios para la salud. Uno de los temas más importantes de esta bebida es optimizar su preparación para maximizar los efectos de sus propiedades. Se sospecha que el uso de azúcares fermentables sin refinar (como el piloncillo) y el uso de una infusión de partida rica en antioxidantes (como el té negro), fermentados en un tiempo de producción no mayor a dos semanas, dará buenos resultados en cuanto a calidad del producto ya que está relacionado con el contenido de antioxidantes (expresado en contenido de polifenoles), acidez (expresada en contenido de ácido acético), pH y materia seca soluble (Brix), expresado en contenido de azúcar kombucha. La Tabla 2 muestra la reducción en la concentración de azúcar en ambas fermentaciones. **Tabla 1. Determinación de °Bx F1: Fermentación 1, F2: Fermentación 2**

Día de fermentación	F1	F2
1	8.4	6.4
2	8.1	6
3	8	5.6

4	7.8	5.4
5	7.5	5.1
6	7.2	4.7
7	6.9	4.1
8	6.8	3.7

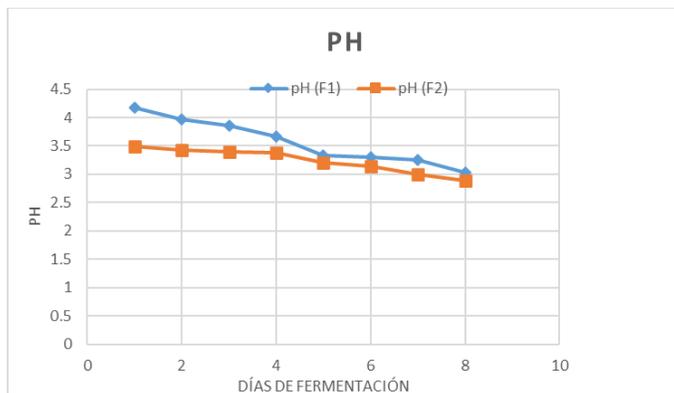


## 2. pH

El pH se relaciona con el crecimiento microbiano y los cambios estructurales de los compuestos presentes en la kombucha, que pueden influir en la actividad antioxidante y que además afecta el proceso de fermentación, ya que los ácidos acético y glicólico poseen beneficios para la salud. Al considerar el pH ideal de 2.5 a 3.5; los valores de pH de la fermentación 2 de los días 6, 7 y 8 entraron dentro de dicho rango, mientras que los del segundo frasco fueron ligeramente superiores. Al aumentar el tiempo de fermentación de igual forma disminuyó su pH, Tabla 2.

**Tabla 2.** Determinación de pH  
F1: Fermentación 1, F2: Fermentación 2

Día de fermentación	F1	F2
1	4.17	3.49
2	3.97	3.43
3	3.86	3.39
4	3.66	3.38
5	3.33	3.21
6	3.30	3.13
7	3.25	3
8	3.03	2.88

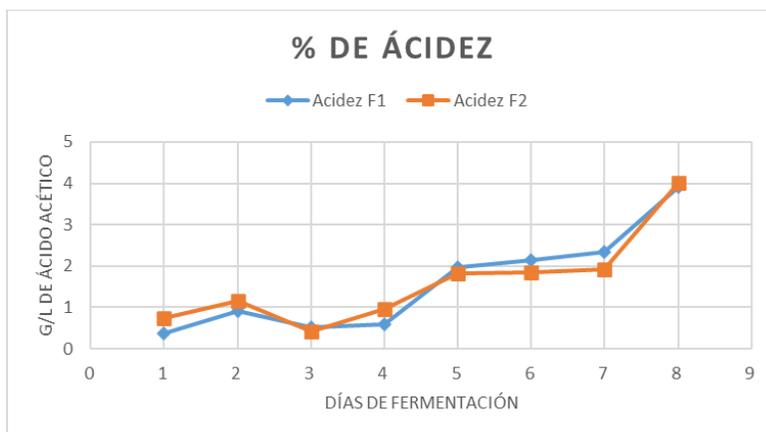


### 3. % Acidez

La concentración y el tipo de ácidos orgánicos presente en un alimento pueden influir significativamente en el pH de este. Algunos alimentos pueden tener un pH naturalmente bajo debido a la presencia de estos ácidos orgánicos, como el caso de la kombucha. La acidez recomendada para una fermentación de 14 días es de  $4.953 \pm 0.351$  g/L , por lo tanto, los valores de las dos fermentaciones se encuentran dentro del rango. La acidez va incrementando de acuerdo con los días, a un mayor nivel de acidez la fermentación posee una cantidad superior de ácidos orgánicos. Tabla 3

**Tabla 3.** Determinación de % Acidez  
F1: Fermentación 1, F2: Fermentación 2

Día de fermentación	F1	F2
1	0.36	0.74
2	0.92	1.16
3	0.52	0.42
4	0.6	0.96
5	1.98	1.82
6	2.14	1.84
7	2.34	1.92
8	3.92	4.02



#### 4. Nitrógeno total

La cantidad de nitrógeno necesario para la fermentación de la kombucha es un factor crítico, sin embargo, no se añade directamente en forma de compuesto nitrogenado. En lugar de eso, las bacterias y levaduras involucradas en la fermentación utilizan el nitrógeno presente en los compuestos orgánicos que contiene el té y el piloncillo utilizado durante el proceso de fermentación. Podemos observar una disminución de la cantidad de nitrógeno libre el líquido de la fermentación ya que este es utilizado para la formación de biomasa. En la tabla 4, se observa como cambia la concentración de nitrógeno total, comparando los días 1 y 8 de la fermentación 1

**Tabla 4.** Determinación de Nitrógeno Total (ppm TKN)

F1: Fermentación 1

Día de fermentación	F1 (ppm)
1	127.5
8	18.75

## Conclusión

La preparación de la kombucha se llevó a cabo bajo las condiciones de higiene adecuadas, tiempo de fermentación y temperatura, por ende, mantuvo sus propiedades como su alto contenido en probióticos. Los valores de pH, acidez, nitrógeno y grados brix indicaron la presencia de levaduras, ácidos orgánicos, crecimiento microbiano, actividad enzimática y propiedades que le permiten conservarse por un lapso de 28 días. Así mismo resulta fundamental mencionar que su alto contenido de probióticos mejora las funciones del sistema inmunitario y disminuye los problemas gastrointestinales, y además brinda beneficios antimicrobianos.

## Bibliografía/Referencias

- Aloulou, A., Hamden, K., Elloumi, D., Ali, M. B., Hargafi, K., Jaouadi, B., Ayadi, F., Elfeki, A. y Ammar, E. (2012). Hypoglycemic and antilipidemic properties of kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 12, 63.
- Battikh, H., Chaieb, K., Bakhrouf, A. y Ammar, E. (2013). Antibacterial and antifungal activities of black and green kombucha teas. *Journal of Food Biochemistry*. 37, 231-236.

- Cardoso, R. R., Neto, R. O., dos Santos D'Almeida, C. T., do Nascimento, T. P., Pressete, C. G., Azevedo, L., Martino, H. S. D., Cameron, L. C., Ferreira, M. S. L. y Barros, F. A. R. d. (2020). Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*. 128, 108782.
- Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Bhattacharya, D., Sarkar, S. y Gachhui, R. (2019). 10 - Kombucha: A Promising Functional Beverage Prepared From Tea. En A. M. Grumezescu & A. M. Holban (Eds.), *Non-Alcoholic Beverages* (pp. 285-327): Woodhead Publishing.
- Dutta, H. y Paul, S. K. (2019). 8 - Kombucha Drink: Production, Quality, and Safety Aspects. En A. M. Grumezescu & A. M. Holban (Eds.), *Production and Management of Beverages* (pp. 259-288): Woodhead Publishing.
- Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S. y Sathishkumar, M. (2014). A Review on Kombucha Tea—Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. 13, 538-550.
- Kapp, J. M. y Sumner, W. (2019). Kombucha: a systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Annals of Epidemiology*. 30, 66-70.
- Srihari, T., Arunkumar, R., Arunakaran, J. y Satyanarayana, U. (2013). Downregulation of signalling molecules involved in angiogenesis of prostate cancer cell line (PC-3) by kombucha (lyophilized). *Biomedicine & Preventive Nutrition*. 3, 53-58.
- Srihari, T., Karthikesan, K., Ashokkumar, N. y Satyanarayana, U. (2013). Antihyperglycaemic efficacy of kombucha in streptozotocin-induced rats. *Journal of Functional Foods*. 5, 1794-1802.
- Wang, Y., Ji, B., Wu, W., Wang, R., Yang, Z., Zhang, D. y Tian, W. (2014). Hepatoprotective effects of kombucha tea: identification of functional strains and quantification of functional components. 94, 265-272.