



Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí

Facultad Ciencias Agropecuarias

Programa de Postgrado

Maestría en Agroindustria, mención en gestión de calidad y seguridad alimentaria

Tema

Evaluación del crecimiento del cultivo simbiótico de celulosa (SCOBY) y características sensoriales en kombucha obtenida a partir de diferentes sustratos

Autor

Francisco José Loor García

Tutor

Mirabella Lucas Ormaza

Manta – Manabí – Ecuador

Diciembre 2022

Aprobación por parte del tribunal de posgrado



*Maestría en Agroindustria con Mención en Gestión de
Calidad y Seguridad Alimentaria
Cohorte II
Facultad de Ciencias Agropecuarias*

Oficio. N°. Uleam FXG-P-F-0022
Manta 19 de julio 2022

Ingeniero.

LOOR GARCÍA FRANCISCO JOSÉ

**Maestrante del Programa Maestría en Agroindustria con mención en Gestión de
Calidad y Seguridad Alimentaria, cohorte II.**

Ciudad.-

De mi consideración:

En respuesta a la solicitud de aprobación de su proyecto de titulación y designación de su tutor, me permito informarle que, en sesión de la Comisión Académica del Programa de **Maestría en Agroindustria con mención en Gestión de Calidad y Seguridad Alimentaria**, cohorte II en sesión DPCRI-MAMGCSA-CS-005-2022 realizada con fecha 6/7/2022 conoció y resolvió aprobar el tema propuesto:

“OBTENCIÓN DE SCOPY PARA ELABORACIÓN DE KOMBUCHA A PARTIR DE DIFERENTES SUSTRATOS (HOJAS DE GUAYUSA, HOJAS DE GUANÁBANA Y CAFÉ) PARA EVALUAR EL CRECIMIENTO DE SCOPY Y CARACTERÍSTICAS SENSORIALES RESULTANTES .”

De conformidad a las atribuciones determinadas por el art. 14 literal a) del Reglamento Reformatorio y Sustitutivo del Reglamento General de los Programas de Postgrado, se designó en la misma sesión al Ing. Mirabella Lucas como **TUTOR** de su trabajo de titulación, quién coordinará una planificación acorde con los reglamentos internos, para concluir su trabajo con éxito.

Particular que informo para los fines legales pertinentes, a la vez que detallo información del tutor designado.

Correo electrónico: mirabella.lucas@uleam.edu.ec

Número Móvil:

Atentamente,



Firmado electrónicamente por:
**CHRISTIAN SIMÓN
RIVADENEIRA
BARCIA**

Ing. Christian Simón Rivadeneira Barcia Mg.

**Coordinador Académico Maestría en Agroindustria con mención en Gestión de
Calidad y Seguridad Alimentaria**

Declaración de autoría

Yo, Loor García Francisco José, con C.I. 1311588097, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría, y los resultados obtenidos son personales y originales; además, los textos que se encuentran en el documento ajenos a mi autoría están debidamente citados y referenciados.

Francisco José Loor García

C.I. 1311588097

Agradecimiento

Agradezco a mi familia por el apoyo que siempre me han brindado y gracias a ellos he conseguido finalizar este paso en mi historia académica.

Dedicatoria

A mis padres y familia, por su apoyo y consejos brindados durante mis estudios de posgrado.

Índice

Resumen	11
Abstract.....	12
Capítulo I	13
1. Introducción	13
1.1. Planteamiento del problema	17
1.2. Justificación	19
1.3. Hipótesis.....	19
1.3.1. Hipótesis alternativa.....	19
1.3.2. Hipótesis nula	19
2. Objetivos del proyecto.....	20
2.1. Objetivo general y objetivos específicos.	20
2.1.2. Objetivo general.....	20
2.1.3. Objetivos específicos	20
Capitulo II.....	20
3. Marco teórico	20
3.1. Té kombucha	20
3.2. Composición química de la kombucha y sus beneficios para la salud.....	20
3.3. Symbiotic culture of bacteria and Yeast (SCOBY).....	22
3.4. Sustratos para elaboración de kombucha	23
3.5. Fermentación de kombucha.....	24
3.6. Hojas de guanábana, <i>Annona muricata L.</i>	25
3.7. Hojas de guayusa, <i>Ilex guayusa Loes.</i>	26

3.8. Granos de café, <i>Coffea arabica</i> L	27
Capítulo III.....	27
4. Metodología.....	27
4.1. Descripción del lugar de investigación	27
4.2. Tipo de investigación	27
4.4. Designación de los tratamientos	29
4.4.1. Esterilización por calor húmedo	30
4.5. Obtención del primer SCOBY	30
4.6. Estandarización de fórmula para obtención de Kombucha.....	31
4.7. Manejo de las muestras.....	32
4.8. Elaboración de los tratamientos y controles.....	33
4.9. Protocolos para medición de variables.....	36
4.9.1. Determinación de pH	36
4.9.2. Determinación de grados Brix.....	36
4.9.3. Determinación de peso drenado	36
4.9.4. Análisis sensorial	36
4.10. Estadísticos aplicados	37
4.10.1. Estadísticos para parámetros fisicoquímicos	38
4.10.2. Estadísticos para atributos sensoriales	38
Capítulo IV	39
5. Resultados y discusión	39
5.1. Obtención de primer SCOBY y estandarización de fórmula	39
5.2. Obtención de kombucha a partir de distintas fuentes de nitrógeno	39

5.3. Características fisicoquímicas.....	40
5.3.1. Potencial de hidrógeno	40
5.3.2. Sólidos solubles totales	46
5.3.3. Peso drenado de SCOBY	52
5.4. Análisis sensorial	54
Capítulo V	57
6. Conclusiones y recomendaciones.....	57
6.1. Conclusiones	57
6.2. Recomendaciones	57
Capítulo VI.....	58
7. Referencias y anexos	58
7.1. Referencias.....	58
7.2. Anexos.....	66

Índice de tablas

Tabla 1. Características del diseño experimental	28
Tabla 2. Esquema de análisis de varianza	29
Tabla 3. Designación de tratamientos para el estudio	29
Tabla 4. Formulación para obtención de SCOBY inicial	31
Tabla 5. Formulación para obtención de kombucha modificada de Sharma y Bhardwaj (2019)	32
Tabla 6. Prueba ANOVA y TUkey para las medidas de pH obtenidas.....	45
Tabla 7. Prueba ANOVA y Tukey para las medidas de °Brix obtenidas	51
Tabla 8. Prueba ANOVA y Tukey para las medidas de peso SCOBY obtenidas	52
Tabla 9. Promedios obtenidos de la prueba hedónica realizada a los tratamientos y al C+ .	56

Índice de figuras

Figura 1. Compuestos benéficos de la kombucha.....	22
Figura 2 Diferentes propiedades del SCOBY de kombucha	23
Figura 3 Metabolismo de sustratos por bacterias y levaduras presentes en el SCOBY.....	25
Figura 4 Diagrama de flujo del proceso de elaboración de kombucha para la obtención de 3000 gr de solución.	34
Figura 5 Comportamiento del pH en el tiempo para el control positivo.....	40
Figura 6 Comportamiento del pH en el tiempo para el tratamiento 1.....	40
Figura 7 Comportamiento del pH en el tiempo para el tratamiento 2.....	41
Figura 8 Comportamiento del pH en el tiempo para el tratamiento 3.....	42
Figura 9 Comportamiento del pH en el tiempo para el control negativo.....	42
Figura 10 Comportamiento del pH en el tiempo para las unidades experimentales propuestas.	43
Figura 11 Comportamiento de los grados Brix en el tiempo para el control positivo	46
Figura 12 Comportamiento de los grados Brix en el tiempo para el T1	46
Figura 13 Comportamiento de los grados Brix en el tiempo para el T2	47
Figura 14 Comportamiento de los grados Brix en el tiempo para el T3.	48
Figura 15 Comportamiento de los grados Brix en el tiempo para el C-.....	48
Figura 16 Comportamiento de los °Brix en el tiempo para las unidades experimentales propuestas.	49

Resumen

La kombucha es un producto ancestral que se obtiene por fermentación de una bebida azucarada de té negro utilizando un consorcio simbiótico de bacterias y levaduras (SCOBY). Se le ha atribuido numerosas características beneficiosas para la salud y debido a esta propiedad el mercado de esta bebida funcional se encuentra creciendo rápidamente. Durante este estudio, se propone reemplazar el sustrato tradicionalmente utilizado, té negro, por sustratos que contienen propiedades bioactivas por si solos como son la guanábana, guayusa y café. En las preparaciones se analizó principalmente el comportamiento de parámetros como pH, °Brix, crecimiento de SCOBY y análisis sensorial. Se pudo observar, que los tratamientos propuestos son medios de cultivo aptos para el crecimiento de SCOBY, esto se confirmó por el comportamiento de pH de 4.56, 4.73, 4.67 y 4.83 en el día uno y 3.31, 3.33, 3.34 y 3.5 en el día once de fermentación para el sustrato control, guanábana, guayusa y café respectivamente. En adición, el crecimiento del SCOBY también se evaluó y se concluyó que para el té negro y el café el crecimiento es mucho más acelerado que para los otros sustratos, donde al día 24 de fermentación se obtuvo un peso de 89.5 y 74.5 gr respectivamente. Finalmente, de acuerdo con el análisis sensorial todos los tratamientos tuvieron una aceptación buena siendo el T1 el tratamiento que más les gustó a los panelistas ($p < 0.05$) en todos los atributos evaluados, seguido por el C+, T2 y, por último, T3.

Palabras clave: kombucha, fermentación, sustrato, crecimiento SCOBY, pH.

Abstract

Kombucha is an ancient product that is obtained by fermenting a sweetened black tea drink using a symbiotic consortium of bacteria and yeast (SCOBY). Numerous beneficial health characteristics have been attributed to it and due to this property, the market for this functional drink is growing rapidly. During this study, it is proposed to replace the traditionally used substrate, black tea, by substrates that contain bioactive properties on their own, such as soursop, guayusa and coffee. In the preparations, the behavior of parameters such as pH, °Brix, SCOBY growth and sensory analysis were analyzed. It was possible to observe that the proposed treatments are suitable culture media for the growth of SCOBY, this was confirmed by the behavior of pH of 4.56, 4.73, 4.67 and 4.83 on day one and 3.31, 3.33, 3.34 and 3.5 on the eleventh day of fermentation for the control substrate, soursop, guayusa and coffee respectively. In addition, the growth of the SCOBY was also evaluated, and it was concluded that for black tea and coffee the growth is much faster than for the other substrates, on day 24 of fermentation a weight of 89.5 and 74.5 gr was obtained respectively. Finally, according to the sensory analysis, all the treatments had good acceptance, with T1 being the treatment that the panelists liked the most ($p < 0.05$) in all the evaluated attributes, followed by C+, T2 and, finally, T3

Keywords: kombucha, fermentation, substrate, SCOBY growth, pH.

Capítulo I

1. Introducción

El té de kombucha es una bebida tradicional azucarada producida comúnmente por fermentación de hojas de té negro (*Camellia sinensis*), en algunas ocasiones se suele utilizar té verde o té oolong. La bebida es originaria de Asia, del noreste de China y ha ganado popularidad en zonas occidentales debido a sus propiedades terapéuticas, como antimicrobiana, antioxidante, anti carcinogénica, antidiabética, tratamiento de úlceras gástricas y colesterol alto (Coelho et al. 2020). Además, ha demostrado tener efectos beneficiosos en la respuesta inmune y la detoxificación del hígado (Chakravorty et al. 2016).

Se cree que la kombucha se utilizó por primera vez en el este de Asia por sus beneficios terapéuticos en el año 220 A.C. Aunque, su origen data del noreste de China en Manchuria, donde fue acogida durante la dinastía Tsin (Ling Chi) por sus propiedades detoxificante y energizante (Jayabalan et al. 2008).

En 414 EC, un doctor llamado Kombu había llevado el té a Japón y lo utilizó para curar los problemas digestivos del emperador Inkyo, de esto se le dio el nombre a la bebida como “té Kombu” o “Kombucha”. Entre otros nombres que se conoce a la kombucha, debido a su ingreso en varias culturas, son “Tea Fungus”, “Kargasok Tea”, “Manchurian Mushroom” y “Haipao”. Con la expansión de las rutas de intercambio la kombucha llegó hasta Rusia y al este de Europa en el siglo XX (Santos 2016).

Durante la Segunda Guerra Mundial, Alemania introdujo esta bebida, y en la década de 1950, llegó a Francia y al norte de África, dominado por Francia, donde su consumo creció de forma acelerada y debido al hábito de beber té fermentado se produjo una escasez de hojas de té y azúcar, lo que hizo que el consumo de la bebida se redujera en gran medida. Años más tarde, investigadores suizos afirmaron que el consumo de la kombucha era igual de beneficioso que el yogurt, debido a la presencia de bacterias beneficiosas para el intestino. Desde esta afirmación, la kombucha se ha introducido en

varios mercados de varios países e incluso se han desarrollado una gama de sabores. Incluso es posible encontrar en tiendas kits para la elaboración casera del té (Jayabalan et al. 2008).

Los ingredientes para la preparación de kombucha consisten en una infusión de té negro, azúcar y añadir el cultivo simbiótico (SCOBY). No obstante, el sustrato y el tipo de azúcar puede ser reemplazado por otras alternativas. Además, las variables como la proporción de té, azúcar, el tiempo y temperatura de fermentación utilizados en la elaboración de kombucha pueden variar de acuerdo con la región o las preferencias de los consumidores. En resumen, para producir kombucha hay que prepara un té base y añadir azúcar, la preparación será el sustrato para las bacterias y levaduras que llevaran a cabo la fermentación (Leal et al. 2018).

El SCOBY (de sus siglas en inglés: Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast), también conocido como hongo del té o kombucha madre, es una estera zoogeal celulósica tridimensional con la presencia de una relación simbiótica entre las bacterias del ácido acético y las especies de levaduras osmofílicas (Laavanya et al. 2021). Este cultivo es el encargado de realizar la fermentación del té para obtener como producto final la bebida conocida como kombucha. En el proceso de fermentación participan varios microorganismos, por ejemplo, las levaduras osmofílicas fermentan el azúcar en el té y producen etanol, las bacterias oxidan el alcohol y producen ácido acético. Además del ácido acético, otros compuestos orgánicos se forman como ácidos glucónicos, lácticos, málicos, cítricos y tartáricos, que tienen actividad antibacteriana y previenen la contaminación de la kombucha por parte de bacterias patógenas (Coelho et al. 2020).

El SCOBY, el cual es el biofilm que se forma durante la fermentación, era considerado un subproducto en la elaboración de kombucha. Hoy en día, es considerado como una valiosa materia prima con amplias aplicaciones. Aunque los estudios sobre la aplicación del SCOBY son limitados, se están realizando muchos experimentos actualmente a pequeña escala para confirmar sus aplicaciones. Entre las aplicaciones que se han

encontrado cabe resaltar su uso como adsorbente de metales pesados en soluciones de aguas residuales (Mousavi et al. 2018). Se ha utilizado, además, para elaborar electrónicos amigable con el ambiente, debido a su naturaleza porosa y las interacciones adsorptivas de la membrana (Kalaiappan et al. 2020). En la industria alimenticia se ha utilizado tanto para propósitos de alimentación (complemento nutritivo en dieta de pollos y otros propósitos (envasado de alimentos). Incluso, en la industria textil se ha utilizado láminas de celulosa derivadas del SCOBY para hacer camisetas, calzado, pulseras y otras prendas de vestir a pequeña escala para experimentar el uso de celulosa para producir ropa ecológica. De igual manera se han descrito una serie de aplicaciones más para utilizar el subproducto de la elaboración de kombucha (Laavanya et al. 2021).

Los géneros de microorganismos que comúnmente se encuentran en el SCOBY son *Gluconobacter*, *Acetobacter*, *Zygosaccharomyces*, *Saccharomyces* y *Schizosaccharomyces*, aunque, es posible encontrar otros tipos de microorganismos en el biofilm de celulosa. La presencia de otro tipo de microorganismos depende de factores como la fuente, el sustrato proporcionado para la fermentación, los metabolitos producidos durante la fermentación, el clima y la geografía del cultivo. No obstante, los microorganismos dominantes presentes en el SCOBY y el té de kombucha permanecen siendo los mismos (Mukadam et al. 2016).

Hay numerosas bacterias y especies de levaduras presentes en la estera de celulosa zoogléica (SCOBY). Los tipos de bacterias del ácido acético presentes son *Komagataeibacter*, *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus* y *Lactobacillales*. Las cepas de levaduras osmofílicas presentes son *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces ludwigii*, *Kloeckera apiculata*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Brettanomyces bruxellensis*, *Brettanomyces lambicus*, *Brettanomyces custersii*, *Pichia membranaefaciens*, *Torulopsis* y *Candida*, todos estos microorganismos se encuentran comprimidos en el cultivo simbiótico (Laavanya et al. 2021, Jayabalan et al. 2016, Harrison y Curtin 2021, Jayabalan et al. 2014)

La bacteria *Acetobacter xylinum* es la que produce el biofilm de celulosa, que se considera como un metabolito secundario de la fermentación y es una de las características importantes de este proceso. Comúnmente a la biopelícula se la confunde con un hongo debido a que se asemeja a un moho superficial en el medio. Cuando ocurre la fermentación las levaduras y bacterias crecen hasta los 14 días, tanto en el SCOBY como en el medio, aunque en el medio líquido se ha encontrado que siempre hay mayor cantidad de células bacterianas y de levaduras viables. Al contrario, con las bacterias ácido-acéticas la concentración es mayor en la parte superior del biofilm de celulosa debido a que en esta ubicación existe más concentración de oxígeno que en el medio líquido (Laavanya et al. 2021).

El proceso de fermentación más común para obtener la kombucha consiste en utilizar té negro y azúcar blanca (sacarosa) como sustratos (en algunos casos se reporta la utilización de té verde). La metodología de preparación consiste en añadir hojas de té en agua hirviendo y dejarlas en infusión durante 10 minutos para luego remover las hojas. Luego, se disuelve la sacarosa (aproximadamente 50 g/l) en el té caliente y la disolución se la deja enfriar. El té se vierte en un recipiente limpio (preferentemente de vidrio) de boca ancha y se acidifica mediante la adición de vinagre o Kombucha ya preparada. Luego el SCOBY es colocado en la solución y el recipiente es tapado con una tela limpia y sujeta al recipiente. Seguidamente la preparación es dejada incubar a temperatura ambiente (20 a 30 °C) por 1 a 8 semanas (Dufresne y Farnworth 2000).

En cuanto a efectos negativos, no se ha comprobado que la bebida cause algún daño a los consumidores. En 2014 se reportó un caso de un paciente que afirmaba tener daño hepático a causa de consumir la bebida kombucha, sin embargo, la evidencia no fue suficiente para afirmar que la bebida había causado la enfermedad en el paciente (Kovacevic et al. 2014). Incluso, la FDA (de sus siglas en inglés, Foods and Drugs Administration) menciona que la kombucha es segura cuando se prepara adecuadamente y

recomiendan a los productores realizar las buenas prácticas de manufactura que sugieren en su guía (Bauer. L et al. 2022).

La kombucha tiene un sabor refrescante que hace que los consumidores sientan que están consumiendo una bebida beneficiosa para la salud diseñada para mejorar su digestión cuando se consume regularmente. La mayoría de las personas que han probado kombucha estarían de acuerdo en que tiene un sabor muy distinto y picante. Algunos incluso podrían decir que es "como nada que hayan probado antes". Los tés de kombucha en el mercado hoy en día se han perfeccionado para atraer al consumidor occidental. En cuanto al sabor, al tener como ácido acético principal compuesto orgánico, la kombucha tiene un toque de amargura y astringencia. Aunque, la amargura además de los ácidos orgánicos es favorecida por la cafeína del té y los polifenoles presentes (Bishop et al. 2022). El nivel máximo permitido de cafeína en bebidas es de 0.2 g/L, y en un estudio Chakravorty et al. (2016) informaron que la concentración de cafeína en una kombucha fermentada con té negro tenía una concentración en un rango de 06 a 1 g/L.

1.1. Planteamiento del problema

Se estimó que el mercado mundial de probióticos estaba valorado en 61100 millones de dólares en 2021 y se prevé que alcance los 91100 millones de dólares en 2026, con una CAGR (de sus siglas en inglés compound annual growth rate) del 8,3 % durante el período de pronóstico. La demanda mundial de probióticos está aumentando significativamente debido a los beneficios para la salud asociados con los alimentos fortificados con probióticos, la multifuncionalidad de los probióticos y el creciente uso de probióticos en los alimentos; además sumado a la creciente conciencia del consumidor relacionada con las dietas saludables. Incluso, se proyecta que la demanda de probióticos en los alimentos fortificados seguirá siendo alta debido a la creciente conciencia sobre sus beneficios y la disposición de los consumidores a comprar productos premium incorporados con probióticos (MarketsandMarkets 2021).

La pandemia de COVID-19 ha provocado un cambio en los patrones de consumo de los consumidores y, en última instancia, ha incentivado una dieta más saludable y con el objetivo de fortalecer el sistema inmune. Los consumidores buscan productos con alto valor nutritivo en lugar de alimentos chatarra o procesados. En los Estados Unidos, las ventas de probióticos aumentaron en un 33% repentinamente, ya que las personas se están moviendo hacia los refuerzos de nutrientes para mantenerse inmunes y fuertes. Desde entonces, las tiendas minoristas y las farmacias están acumulando pilas de probióticos en varias formas. El miedo a infectarse ha resultado en la adopción de un estilo de vida saludable, aumentando así la demanda de probióticos (FortuneBusinessInsights 2020).

Se proyecta que el mercado global de kombucha crecerá a una tasa compuesta anual (CAGR) del 17,50% durante el 2021 al 2026. Durante la pandemia de COVID-19, la demanda de bebidas funcionales aumentó considerablemente, lo que dio lugar a una creciente demanda de kombucha en el mercado mundial, principalmente debido a su contenido de probióticos que ayudan a aumentar la efectividad del sistema inmune. Por lo tanto, este factor promovió sus ventas durante la pandemia. El mercado consumidor de kombucha se impulsa por la inclinación de los consumidores hacia una dieta más sana y funcional, y el cambio de hábitos alimenticios ha causado que los consumidores prefieran bebidas funcionales sobre las bebidas carbonatadas y jugos de frutas (ResearchandMarkets 2021).

Comúnmente se suele saborizar la kombucha con todo tipo de frutas y esencias. De acuerdo con el reporte emitido por Research and Markets (2021) se espera que las bebidas saborizadas de kombucha ocupen la mayor cuota de mercado en el mercado de kombucha durante el período de pronóstico de 2021 a 2026. El segmento mencionado ha experimentado un tremendo crecimiento en los últimos 3 a 4 años, ya que las compañías han desarrollado bebidas tradicionales con sabores exóticos agregados, para atraer a los consumidores. Por ejemplo, la empresa GT's Living Foods ya tiene una línea de bebidas de kombucha primaveral donde destacan sabores como jengibre, sandía, mango, lavanda,

jazmín, entre otros (GT's Living Foods 2022). En adición, la tendencia de las bebidas naturales, de etiqueta limpia y orgánicas está impulsando el mercado.

1.2. Justificación

Los pronósticos para el mercado de kombucha son muy favorables y este segmento de mercado se destaca por su búsqueda de sabores exóticos, siempre manteniendo la funcionalidad de la bebida. La propuesta de obtención de SCOBY y kombucha a partir de distintas fuentes de nitrógeno como son las hojas de guanábana, hojas de guayusa y granos de café brindará la oportunidad de ampliar la variedad de sabores extensamente, lo que permitiría extender el mercado consumidor de kombucha en el país.

Además, con el aumento de la demanda de la bebida es necesario generar conocimientos sobre las distintas fuentes que se puede utilizar para elaborar el producto. La implementación del proyecto propuesto es un pequeño paso para que el Ecuador esté preparado para la demanda que va a tener el mercado de kombucha.

De igual manera, se incluye las personas que realicen una investigación sobre el uso del subproducto (SCOBY) obtenido de la elaboración de kombucha. Al tener una alternativa más económica o viable para obtener el subproducto. Incluso, la obtención de SCOBY como subproducto, a partir de distintos sustratos permitiría el uso de este para distintas aplicaciones y contribuir con lo que se busca en muchos países, la sustentabilidad.

1.3. Hipótesis

1.3.1. Hipótesis alternativa

Ha= Se puede generar SCOBY para obtener kombucha a partir de sustratos no tradicionales

1.3.2. Hipótesis nula

H0= No se puede generar SCOBY para obtener kombucha a partir de sustratos no tradicionales

2. Objetivos del proyecto

2.1. Objetivo general y objetivos específicos.

2.1.2. *Objetivo general*

Evaluar el crecimiento del SCOBY y las características organolépticas de la kombucha, utilizando como sustrato una infusión de hojas de guanábana (*Annona muricata L.*), hojas de guayusa (*Ilex guayusa Loes.*) y granos de café (*Coffea arabica L.*).

2.1.3. *Objetivos específicos*

- Formar un SCOBY utilizando como sustrato diferentes infusiones de hierbas.
- Evaluar el crecimiento del SCOBY en el tiempo a partir de las distintas fuentes de nitrógeno.
- Evaluar las características sensoriales de la kombucha mediante una escala hedónica

Capítulo II

3. Marco teórico

3.1. Té kombucha

El té de kombucha (conocido también como te de hongo u hongo manchuriano) es una bebida, con azúcar añadida, comúnmente producida por la fermentación de hojas de té negro, se caracteriza por tener un sabor avinagrado. A veces también se utilizan hojas de té verde o té oolong (Laavanya et al. 2021). Generalmente, es consumido porque se le atribuyen numerosos beneficios para la salud.

3.2. Composición química de la kombucha y sus beneficios para la salud

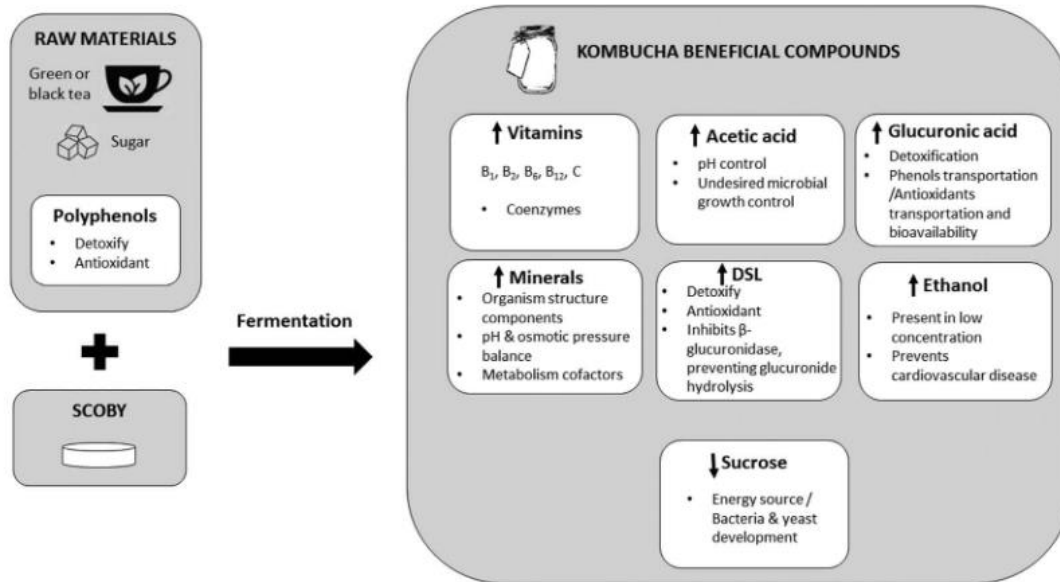
Los ensayos químicos realizados a la bebida de kombucha indican la presencia de una variedad de componentes. Entre los que se incluyen ácidos orgánicos, principalmente acéticos, glucónico y ácido glucurónico. También, puede ser encontrado ácido cítrico, láctico, málico, tartárico, malónico, oxálico, succínico, pirúvico y úsnico. Se encuentra

además, azúcares como sacarosa, glucosa y fructosa; vitaminas hidrosolubles como B1, B6, B12, C, purinas, aminas biogénicas, aminoácidos, pigmentos, etanol, proteínas, enzimas hidrolíticas, lípidos, bacterias ácido acéticas, bacterias ácido lácticas, dióxido de carbono, polifenoles, aniones (fosfato, nitrato, bromuro, sulfato, yoduro, fluoruro y cloruro), minerales (plomo, níquel, hierro, zinc, cobre, cobalto, manganeso, cadmio y cromo) y productos metabólicos de levaduras y bacterias (Jayabalan et al. 2010, Leal et al. 2018). La cantidad o presencia de cada uno de los elementos depende de varios factores como son el lugar donde se realiza la fermentación, el inóculo utilizado, el tiempo de fermentación, temperatura, altura, humedad, entre otros.

Los componentes mencionados que se producen durante la fermentación de la bebida se listan en la figura 1, en adición, se indica los principales beneficios que brinda cada componente al cuerpo.

Figura 1

Compuestos benéficos de la kombucha



Fuente: Tomado de (Leal et al. 2018).

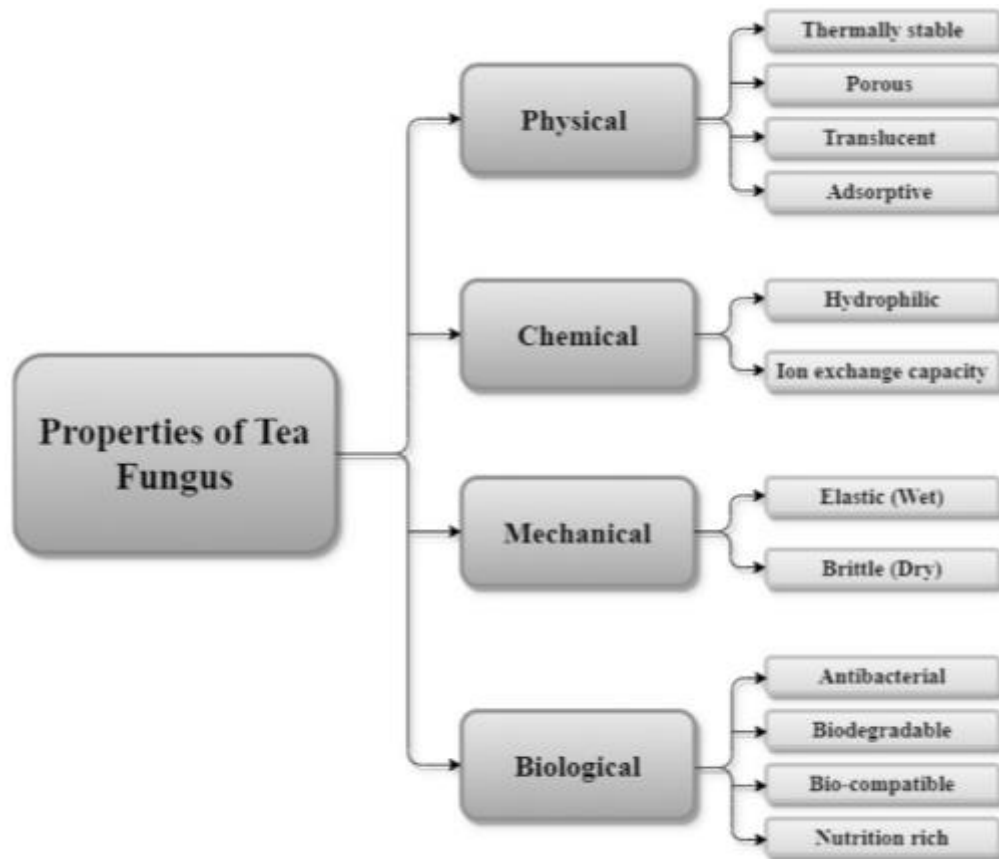
3.3. Symbiotic culture of bacteria and Yeast (SCOBY)

El SCOBY es una estera zoogel celular tridimensional que tiene una presencia simbiótica entre levaduras y bacterias acido-acéticas. Es un subproducto que se obtiene de la elaboración del té kombucha y normalmente se confunde con un hongo por su forma que asemeja un hongo (Laavanya et al. 2021).

El SCOBY al ser un subproducto generalmente es desechado, aunque también se lo utiliza como inóculo para la elaboración de una nueva kombucha. Tiene varias propiedades que son interesantes para futuras aplicaciones y que los investigadores han tomado como base para proponer aplicaciones para este subproducto, en la figura 2 se detalla las principales propiedades del SCOBY.

Figura 2

Diferentes propiedades del SCOBY de kombucha



Fuente: Tomado de (Laavanya et al. 2021)

3.4. Sustratos para elaboración de kombucha

Los principales sustratos que se utilizan para la elaboración de kombucha son la sacarosa (como fuente de carbohidrato) y el té negro (como fuente de nitrógeno). Sin embargo, los investigadores han realizado las pruebas con una variedad de sustratos como son infusiones de hierbas, jugos de fruta, leche, soya, entre otros y han reportado resultados satisfactorios en cuanto a su cinética y propiedades biológicas (de Miranda et al. 2022).

3.5. Fermentación de kombucha

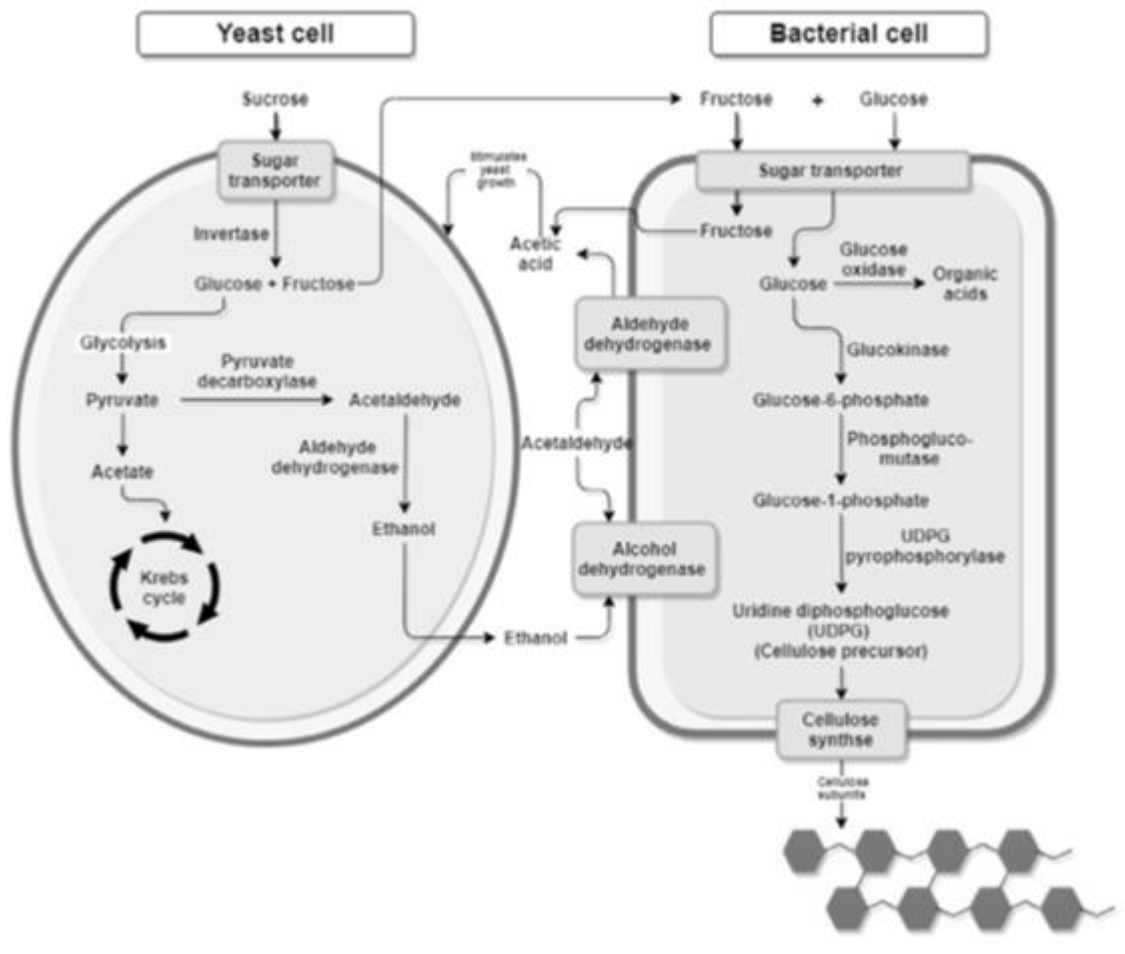
La kombucha como ya se menciona es obtenida mediante un proceso de fermentación, durante dicho proceso se obtiene como subproducto una biopelícula flotante en la superficie del medio de crecimiento debido a la actividad de ciertas cepas de las bacterias ácido-acéticas. Los principales ácidos que se encuentran son el ácido acético, glucónico, tartárico, málico y en menor cantidad el cítrico, estos ácidos son los responsables del sabor ácido de la bebida (Leal et al. 2018).

Dentro de la fermentación de kombucha se dan varios tipos de fermentaciones como son alcohólica, láctica y acética. La primera es una fase aeróbica, el consorcio simbiótico de kombucha es capaz de convertir el azúcar y el té en un período de 7 a 10 días en una bebida refrescante, ligeramente carbonatada, ligeramente ácida, que está compuesta por varios ácidos, 14 aminoácidos, vitaminas y algunas enzimas hidrolíticas. Para el fin del proceso, la fermentación que domina es las especies ácido-tolerantes (de Miranda et al. 2022). Se recomienda que la fermentación se lleve a cabo hasta un máximo de 60 días, lo que genera muchos cambios como el incremento de la actividad antioxidante y el contenido de ácidos orgánicos, sin embargo, se recomienda un periodo de 7 a 15 días de fermentación para obtener resultados favorables (Villarreal-Soto et al. 2018).

En la figura 3 se muestra una ilustración general del metabolismo que ocurre dentro de las bacterias y levaduras presentes en la kombucha.

Figura 3

Metabolismo de sustratos por bacterias y levaduras presentes en el SCOBY



Fuente: Tomado de (Laavanya et al. 2021).

3.6. Hojas de guanábana, *Annona muricata* L.

La guanábana es una fruta tropical perteneciente a la familia de las *Annonaceae* y se encuentra distribuida en el sector de América tropical, incluyendo las zonas cálidas de Ecuador, Colombia, Venezuela, Brasil, México, Las Antillas y América Central. El país donde se ha notado un desarrollo considerable de este frutal es Brasil, luego se tiene a Colombia y Ecuador, donde se han desarrollado cultivos tecnificados que abastecen los mercados de las principales ciudades como Sao Paulo, Brasilia, Bogotá, Cali, Quito, Guayaquil entre otras (INIAP 2014).

Con el crecimiento del cultivo en Ecuador y al ser las hojas un subproducto de la poda, se propone darle un uso a dicho subproducto. Además, la guanaba es un árbol que se caracteriza por tener componentes bioactivos que ha llamado la atención de muchos científicos, principalmente por sus propiedades anticancerígenas. En una revisión realizada por Wahab et al. (2018) recopilaron información sobre las propiedades de la planta incluyendo las hojas de guanábana. Se reportó que han sido utilizadas empíricamente para tratar varias afecciones incluyendo, el cáncer, diabetes, inflamación, desordenes hepáticos y tumores. La conclusión de la revisión es que en las hojas de guanábana se han identificado 117 compuestos que incluyen acetogeninas anonáceas, alcaloides y compuestos fenólicos. Aunque, es necesario realizar pruebas preclínicas para confirmar el efecto de la guanábana el potencial que presenta la planta como uso antiinflamatorio y anticancerígeno puede aclararse claramente mediante la comprensión de sus mecanismos de acción en el sistema del cuerpo humano (Wahab et al. 2018).

3.7. Hojas de guayusa, *Ilex guayusa* Loes.

En el oriente ecuatoriano, el cual representa una de las áreas con mayor biodiversidad del mundo, habita una de las plantas sagradas de las nacionalidades indígenas que habitan la región amazónica del Ecuador y es conocida como guayusa y ha sido utilizada como infusión por generaciones por los Achuar y mestizos de la zona. Ha tomado popularidad no solo en el oriente ecuatoriano, sino en todo el país e incluso en otros países, el 95 % de la producción mundial de guayusa proviene del Amazonas de Ecuador, y es consumida por sus beneficios energizante y antioxidante para el organismo; la guayusa tiene una importancia para el uso cotidiano y medicinal, gracias a sus propiedades estimulantes y por su contenido de cafeína, teobromina y otros componentes que brindan un efecto energizante natural, diurético y relajante (Radice y Vidari 2007).

Por las propiedades que presenta y la disponibilidad casi única del país se propone obtener la bebida de kombucha utilizando como sustratos las hojas de la guayusa, de esta manera se puede obtener un producto funcional con un sabor atractivo y tropical.

3.8. Granos de café, Coffea arabica L

El café se considera un producto comercial de mucho valor, el 70 al 80 % de la población mundial consume este grano. Además, contiene agentes bioactivos importantes; uno de ellos y el más conocido es la cafeína. El consumo moderado de café conlleva a efectos beneficiosos para la salud, como control del peso corporal, mejora en el rendimiento cognitivo, la reducción de la presión arterial entre otros. Incluso, se relaciona con la reducción del riesgo de tener enfermedades como diabetes mellitus tipo II, cáncer, enfermedades cardiovasculares, neurológicas y hepáticas (Gómez et al. 2021).

Capítulo III

4. Metodología

4.1. Descripción del lugar de investigación

El proyecto se llevó a cabo en la ciudad de Quito, provincia Pichincha, país Ecuador. Los procesos se llevaron a cabo dentro del hogar del maestrando donde se designó y esterilizó una habitación para el desarrollo del proyecto. La materia prima se obtuvo de supermercados y mercados cercanos del sector.

4.2. Tipo de investigación

La investigación propuesta es una investigación experimental, donde se decidió analizar bajo el control de la variable de concentración de fuente de nitrógeno el crecimiento de SCOBY y características fisicoquímicas y sensoriales de la kombucha.

4.3. Diseño experimental

El experimento se realizó en base a un diseño completamente al azar de un factor. En el experimento se propone reemplazar la fuente de nitrógeno convencional por otras fuentes no tradicionales.

Los tratamientos que se utilizarán como fuente de nitrógeno son hojas de guanábana (tratamiento 1), hojas de guayusa (tratamiento 2) y granos de café (tratamiento 3). Además, se incluirá un control positivo (C+) donde el sustrato será el té negro y un control negativo (C-) donde no se añadirá fuente de nitrógeno a la preparación.

En total se realizará 4 tratamientos con 3 repeticiones, se seguirá un modelo unifactorial. En la tabla 1 se observa las características del diseño experimental.

Tabla 1

Características del diseño experimental

Características del diseño experimental	
Número de tratamientos	4
Número de repeticiones	3
Variables por medir	pH, grados Brix, peso SCOBY, características sensoriales
Masa total del medio	1000 gr

El modelo estadístico que se empleará se muestra en la ecuación 1.

$$y_{ij} = \mu + \epsilon_{ij} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

y_{ij} = total de observaciones del estudio

μ = media

ϵ_{ij} = error experimental de la unidad ij

Además, en la tabla 2 se muestra el esquema del análisis de varianza (ANOVA).

Tabla 2

Esquema de análisis de varianza

Fuente de variación	GL	SC	CM	F
Tratamientos	3	SS_{trat}	CM_{trat}	$F = \frac{CM_{trat}}{CM_{error}}$
Error	12	SS_{Error}	CM_{error}	
Total	15	SS_{Total}		

Nota: SC: suma de cuadrados, GL: grados de libertad, CM: cuadrado medio, F: frecuencia de variación

4.4. Designación de los tratamientos

Para este estudio se contará con cuatro formulaciones de kombucha, siendo la fuente de nitrógeno la única diferencia entre las mismas. Estas fórmulas serán los tratamientos a los cuales se realizaría la medición de dos parámetros; fisicoquímicos (porcentaje de hidrógeno, grados Brix, peso del SCOBY y características sensoriales. Los tratamientos designados se muestran en la tabla 3.

Tabla 3

Designación de los tratamientos para el estudio

Designación de tratamientos	
Sustrato	Tratamiento
Té negro	Control positivo (C+)
Guanábana	Tratamiento 1 (T1)
Guayusa	Tratamiento 2 (T2)
Café	Tratamiento 3 (T3)
No se añade	Control negativo (C-)

Una vez determinados los tratamientos se procederá a realizar las bebidas, de acuerdo con cada formulación propuesta (variando la fuente de nitrógeno (té negro) de acuerdo con cada tratamiento), identificarlas y rotularlas en envases de vidrio previamente esterilizados, por calor húmedo, para evitar cualquier contaminación que afecte la inocuidad del producto.

4.4.1. Esterilización por calor húmedo

La esterilización por calor húmedo se aplicó a los envases y materiales para elaborar la bebida, con esterilización por ebullición. Esta asemeja a la esterilización en autoclave ya que al elevar la temperatura del agua penetra y elimina virus, hongos, esporas y organismos procariotas. Este proceso se usa en materiales que no son sujetos para oxidar.

4.5. Obtención del primer SCOBY

En países donde el mercado de la kombucha se encuentra más desarrollado se puede encontrar en tiendas especializadas kits para realizar la kombucha en casa. Sin embargo, en Ecuador no se encontró este tipo de tiendas, motivo por el cual fue necesario seguir la metodología que se muestra a continuación para obtener un SCOBY. El primer SCOBY se obtuvo a partir de la metodología propuesta por Bond (2021). En la tabla 4 se puede observar la formulación para preparar la solución donde crecerá el SCOBY. En primer lugar, se llevó el agua a punto de ebullición y se colocó en un recipiente mezclándolo con el azúcar. Luego se disolvió el azúcar en el agua, se añadió el té y se dejó reposar hasta que la solución alcanzó la temperatura ambiente (≈ 20 °C). Se removió las bolsas de té y se añadió la kombucha comercial, obtenida en un supermercado local, y se colocó una tela como tapa al recipiente. La solución se guardó en un lugar oscuro durante 15 días, donde ocurrió el proceso de fermentación y formación del SCOBY. El SCOBY obtenido fue utilizado posteriormente para el diseño experimental propuesto.

Tabla 4

Formulación para obtención de SCOBY inicial.

Fórmula para obtener un SCOBY	
Ingredientes	Porcentaje (%)
Agua	82,4
Sacarosa	5,1
Te negro	0,4
Kombucha comercial	12,1
Total	100

Nota: La tabla muestra la fórmula en porcentaje para la preparación de kombucha y obtener el inóculo que será utilizado en los tratamientos posteriores (Bond 2021).

4.6. Estandarización de fórmula para obtención de Kombucha.

Para la elaboración del diseño experimental primero se estandarizó la fórmula para obtener kombucha. El ensayo se basó en la metodología propuesta por (Sharma y Bhardwaj 2019) y se realizaron modificaciones para estandarizarlo a las condiciones del clima donde se realizó el experimento.

En la tabla 5 se muestra la formulación estandarizada para obtener kombucha utilizando como sustrato té negro. El proceso para la obtención de kombucha consistió en llevar el agua a punto de ebullición, luego se colocó en un recipiente de vidrio y se disolvió el azúcar. Seguidamente, se añadió las bolsas de té y se dejó enfriar la solución a temperatura ambiente. Después, se añadió el SCOBY en la solución y se agregó la kombucha de un batch anterior. Luego, se tapó el recipiente con una tela porosa y se ajustó con ligas, la solución se la dejó en un lugar oscuro a temperatura ambiente para que realice

el proceso de fermentación. Finalmente, luego de 11 días se envasó en recipientes de vidrio el producto y se almacenó a 4 °C.

Tabla 5

Formulación para obtención de kombucha modificada de Sharma y Bhardwaj (2019)

Fórmula para obtención de Kombucha	
Ingredientes	Porcentaje (%)
Agua	93,4
Sacarosa	5,7
Té negro	0,4
Kombucha (Batch anterior)	0,2
SCOBY	0,3
Total	100

Nota: La tabla muestra la formula en porcentaje que se utilizó en la elaboración de los tratamientos donde el ingrediente té negro sería reemplazado por las demás fuentes propuestas.

4.7. Manejo de las muestras

Las muestras se elaboraron el mismo día bajo condiciones controladas de inocuidad. Se elaborarán 1000 ml de bebida por cada tratamiento y repetición. Se realizó 3 repeticiones para analizar todos los parámetros antes descritos, con la premisa que el SCOBY se genera en 12 días de acuerdo con varios autores (Sharma y Bhardwaj 2019, Coelho et al. 2020, Chakravorty et al. 2016).

Los muestreos se realizaron desde el día 1 cada dos días (1, 3, 5, 7, 9 y 11). Los análisis fisicoquímicos se llevaron a cabo en los días mencionados, y el análisis organoléptico se realizó después de medir estos parámetros y confirmar que la bebida de

encuentre en un rango normal y sugerido de pH. Esto con fin de salvaguardar la salud de los panelistas, ya que el cambio brusco de algún parámetro significaría que la bebida ya no es apta para el consumo.

Otro punto que se tomó en cuenta para finalizar el proceso de fermentación fue el pH, ya que durante la fermentación se forma una gran cantidad de ácido acético y lo que se recomienda es finalizar la fermentación cuando el pH llegue a valores de 3 a 4.2 (Coelho et al. 2020).

4.8. Elaboración de los tratamientos y controles

Para cada tratamiento se utilizó la fórmula estandarizada que se muestra en la tabla 5. En la figura 4 se presenta un diagrama de flujo donde se detalla el proceso que se realizó para cada tratamiento. La fuente de nitrógeno equivale al sustrato designado en la tabla 4.

Además, todos los materiales utilizados fueron esterilizados por calor húmedo para evitar cualquier agente contaminante.

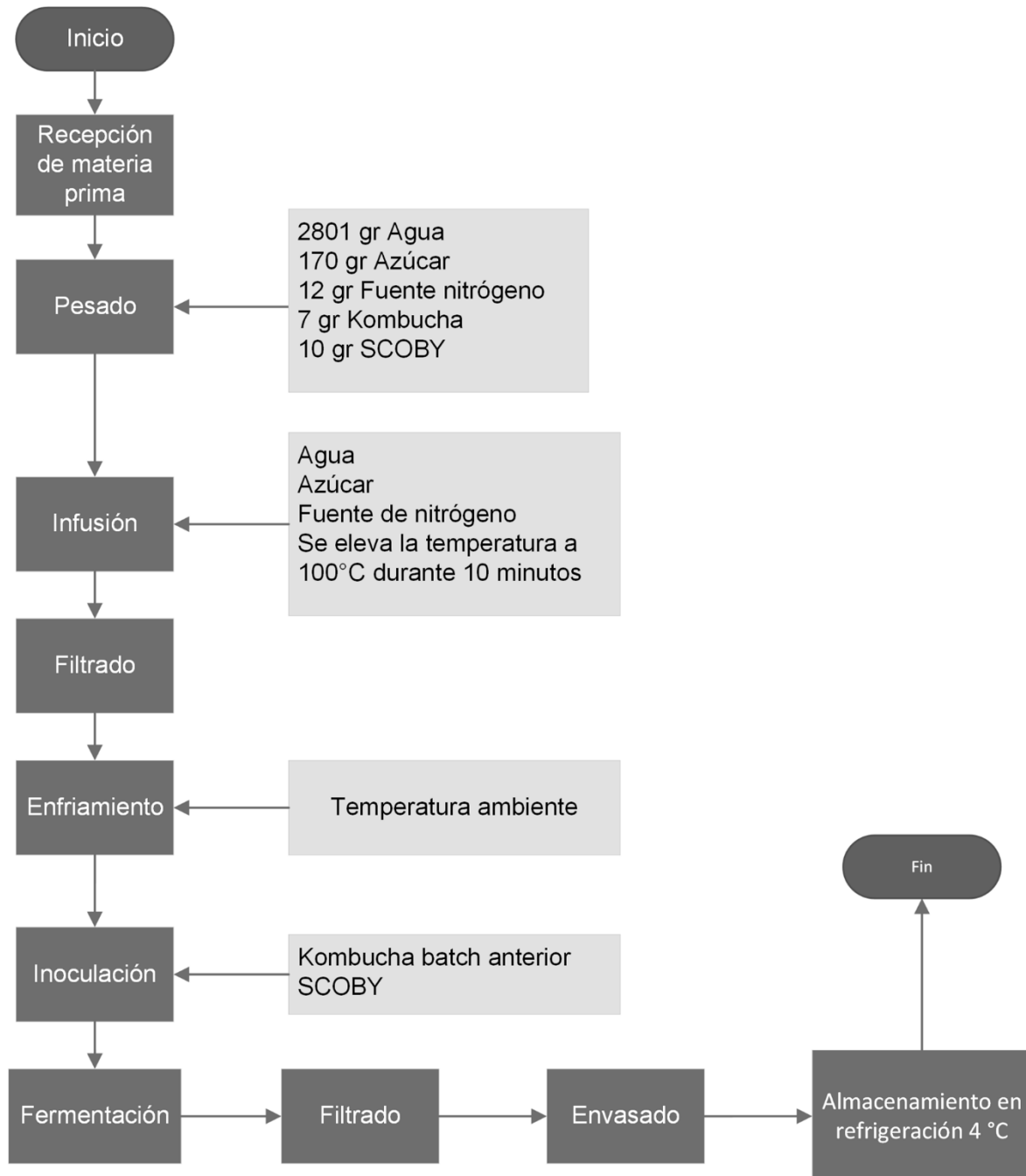
El té negro y el café fueron adquiridos en un supermercado local donde garantizan la inocuidad del alimento. Sin embargo, las hojas de guayusa y guanábana (deshidratadas) se adquirieron en un mercado local donde no hay garantías de la inocuidad de estas, por esa razón a estas dos muestras se les realizó un pretratamiento donde las hojas fueron sumergidas en una solución de hipoclorito de sodio de 150 ppm durante 5 minutos para una desinfección exitosa de acuerdo con Medina (2020).

Como se indica en la figura 4 se preparó un total de 1000 gr de kombucha por tratamiento y un adicional de 3000 gr destinado para el análisis sensorial. El primer paso fue la obtención y pesado de la materia prima. Luego, se realizó la infusión donde se añadió el agua, azúcar y fuente de nitrógeno (de acuerdo con cada tratamiento). Seguidamente, se realizó un filtrado donde se eliminó las hojas e impurezas restantes del proceso de obtención de la infusión. Después, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se inoculó el SCOBY y la kombucha de un batch anterior. Después, se dejó fermentar a temperatura

ambiente la bebida durante 11 días. Finalmente se filtró y se envasó la bebida en envases de vidrio para ser almacenados en refrigeración.

Figura 4

Diagrama de flujo del proceso de elaboración de kombucha para la obtención de 3000 gr de solución.



Nota: El diagrama de flujo representa el proceso que se siguió para preparar los tratamientos y controles. La fuente de nitrógeno es el parámetro que se cambió de acuerdo con lo propuesto en la tabla 3.

4.9. Protocolos para medición de variables

4.9.1. Determinación de pH

La medición del pH se realizó utilizando un pH-metro digital marca MULTIFUNCTION modelo EZ-9901. El proceso consistió en colocar la muestra del tratamiento en un recipiente y que el equipo realice la medición. El valor fue anotado y agregado a la tabla de resultados, metodología basada en norma NTE INEN-ISO 10523 (2014).

La medición de esta variable se realizó desde el día 1 y cada dos días (1, 3, 5, 7, 11).

4.9.2. Determinación de grados Brix

Los sólidos solubles fueron medidos utilizando un refractómetro marca ATC modelo RZ-120. El proceso consistió en tomar una muestra homogenizada del producto y colocarla en el lente del refractómetro, el valor obtenido fue anotado en la tabla de resultados, metodología basada en norma NTE INEN-ISO 2172 (2014).

La medición de esta variable se realizó desde el día 1 y cada dos días (1, 3, 5, 7, 11).

4.9.3. Determinación de peso drenado

El proceso consistió en utilizar un tamiz para eliminar el líquido y conservar solo el SCOBY. Éste fue pesado y los resultados fueron registrados, metodología basada en norma NTE INEN 395 (2013).

La medición de esta variable se realizó en el día 11, 17, 24 de fermentación.

4.9.4. Análisis sensorial

Se realizó el análisis al control positivo y los 3 tratamientos luego de los 11 días de tratamiento.

El análisis sensorial se realizó por un método de prueba afectivo o hedónico, se realizó a 30 panelistas consumidores de la bebida kombucha. Se analizó los atributos de aroma, color, textura, sabor, dulzor, residual de sabor y precepción global, todos mediante el análisis hedónico de 5 puntos donde:

1. Me disgusta mucho

2. Me disgusta
3. Ni me gusta ni me disgusta
4. Me gusta
5. Me gusta mucho

El análisis sensorial se realizó siguiendo la metodología de Liria (2007) y los consejos que menciona en su libro Golden et al. (2010) enfocado en el correcto procedimiento para realizar análisis sensorial en comida. Se dio una codificación aleatoria de 3 dígitos a cada tratamiento.

4.10. Estadísticos aplicados

A continuación, se detalla los estadísticos utilizados en las pruebas de análisis estadísticos utilizados en el procesamiento de los datos (Salazar y Castillo 2018).

Media aritmética: Es el valor resultante de la división de la suma del total de los valores de los datos obtenidos (ecuación 2).

$$\bar{X} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{N} \quad \text{Ecuación 2}$$

Varianza: Es una medida de dispersión basada en los cuadrados de las diferentes derivaciones de las observaciones (ecuación 3). Está relacionado con la media aritmética.

$$S^2 = \frac{\sum(X-\bar{X})^2}{N} \quad \text{Ecuación 3}$$

Desviación estándar: Es la raíz cuadrada de la varianza, proporciona el valor promedio de la desviación de los elementos en relación con la media aritmética.

$$S^2 = \sqrt{\frac{\sum(X-\bar{X})^2}{N}} \quad \text{Ecuación 4}$$

Coefficiente de variación: Se denomina la razón porcentual entre la media aritmética y la desviación estándar (ecuación 5).

$$CV = \frac{\sigma}{\mu} * 100\% \quad \text{Ecuación 5}$$

Rango: Medida de dispersión obtenida por la resta entre los datos cuantitativos máximo y mínimo (ecuación 6).

$$\text{Rango} = \max - \min \quad \text{Ecuación 6}$$

4.10.1. Estadísticos para parámetros fisicoquímicos

- Diseño completamente al azar, un factor: es un estadístico que considera el efecto de un factor, conformado por tratamientos. Proponiendo este diseño se pretende comprobar una hipótesis por medio de diferencias entre los resultados de las muestras (Bustos et al. 2008, Guaraca y Mariño 2020). Los datos y análisis estadísticos se realizaron utilizando el software InfoStat versión 2020e.
- Prueba de Tukey: Mide todas las diferencias entre las medias de los tratamientos de un experimento (Abdi y Williams 2010).

4.10.2. Estadísticos para atributos sensoriales

- Prueba de Kruskal-Wallis: Prueba no paramétrica, comúnmente utilizada en análisis sensorial, bajo la hipótesis de que no hay diferencia entre las poblaciones que se requiere comparar. La fórmula matemática de esta prueba se presenta en la ecuación 7 (Dodge 2008). Los datos y análisis estadísticos se realizaron utilizando el software InfoStat versión 2020e.

$$N = \sum_{i=0}^k n_i \quad \text{Ecuación 7.}$$

Donde:

N: número total de observaciones

K: muestras

Capítulo IV

5. Resultados y discusión

5.1. Obtención de primer SCOBY y estandarización de fórmula

Se obtuvo un SCOBY formado de forma correcta en 15 días siguiendo la metodología propuesta por Bond (2021). Autores como Goh et al. (2012) aseguran que es necesario agregar kombucha de un batch anterior, incluso si uno ya tiene SCOBY en su preparación, o de otro modo no se iniciará la fermentación. Debido a la necesidad de un medio ácido para el desarrollo de las bacterias ácido-acéticas lo mencionado por Goh et al. se confirma, sin embargo, Bond también sugiere que se puede agregar vinagre para acidificar la solución y el resultado obtenido sería el mismo.

En la estandarización de la fórmula, basándose en la metodología de Sharma y Bhardwaj (2019), se siguió con la formulación propuesta, sin embargo, ellos recomiendan agregar un 10 % de kombucha de un batch anterior y en el caso de este experimento el volumen era muy elevado ya que la acidez de la kombucha comercial adquirida bajaba el pH de forma drástica. Por ese motivo, se ajustó la fórmula a el 0.3 % de kombucha de un batch anterior. Cabe mencionar, que en el estudio de Sharma y Bhardwaj la bebida obtenida no estaba destinada al consumo humano, mientras que en el experimento de este estudio si y de acuerdo con autores como Coelho et al. (2020) y Goh et al (2012) el pH óptimo de la bebida de kombucha debe estar en un rango de 3 - 4.2, en caso de tener un pH más bajo podría afectar las características organolépticas deseadas.

5.2. Obtención de kombucha a partir de distintas fuentes de nitrógeno

La propuesta del experimento y uno de los objetivos de este es evaluar si al cambiar la fuente de nitrógeno tradicional, la cual es el té negro, se iba a lograr la fermentación de la infusión y por tanto la obtención del té kombucha y la producción de SCOBY.

Los 3 tratamientos propuestos fueron viables para la obtención de SCOBY y por tanto se produjo fermentación en el medio. Se pudo evidenciar que en las infusiones se formó la estera de celulosa zoogleal y por el olor característico, que emanaban los frascos con la solución, también hubo actividad de fermentación.

Con la popularidad que tiene la bebida varios autores han realizado experimentos para obtener té kombucha a partir de distintas fuentes. Battikh et al. (2012) realizaron experimentos reemplazando el té negro con otras hierbas como de tomillo (*Thymus vulgaris* L), cedrón (*Lippia citriodora*), romero (*Rosmarinus officinalis*), hinojo (*Foeniculum vulgare*) y menta (*Mentha piperita*) con el objetivo de evaluar su poder antimicrobiano. Otros autores como Četojević-Simin et al. (2010) obtuvieron el té fermentado a partir de toronjil (*Melissa officinalis* L.) Además, se ha intentado obtener kombucha a partir de jugos de fruta como el jugo de pera (Ayed y Hamdi 2015). Como en todos los estudios mencionados y como resultado de este estudio se infiere que si es posible reemplazar el té negro como sustrato para la producción de kombucha y por cada sustrato utilizado se obtienen características distintas de la bebida.

5.3. Características fisicoquímicas

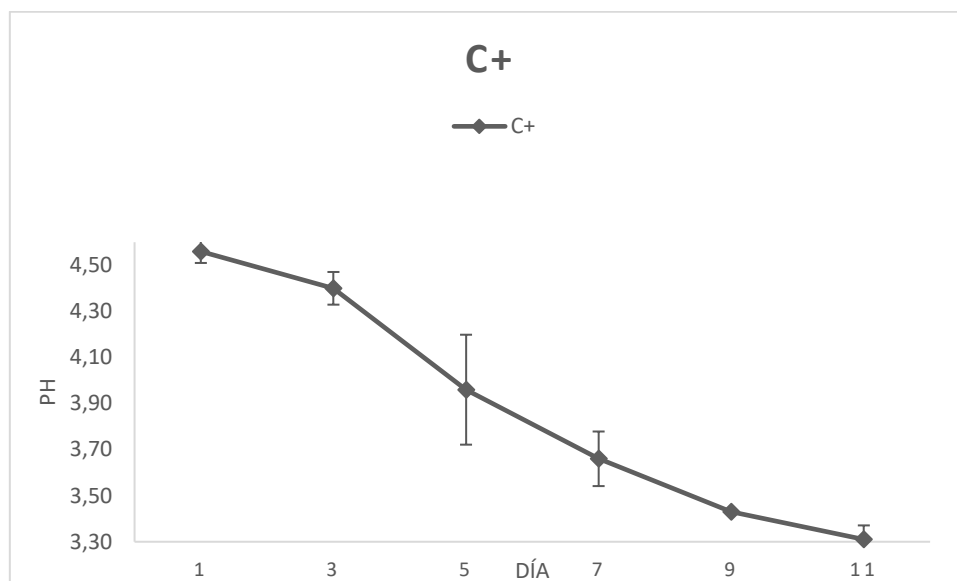
5.3.1. Potencial de hidrógeno

El comportamiento de pH se detalla para cada uno de los tratamientos y controles y luego se muestra una figura comparativa de todos los resultados obtenidos.

En la figura 5 se muestra el comportamiento de pH, para el control positivo (té negro), desde el día uno hasta el día once. Para el día uno se obtuvo un valor de pH de 4.56 ± 0.05 y el valor fue disminuyendo gradualmente hasta obtener una medida de 3.31 ± 0.06 para el día once.

Figura 5

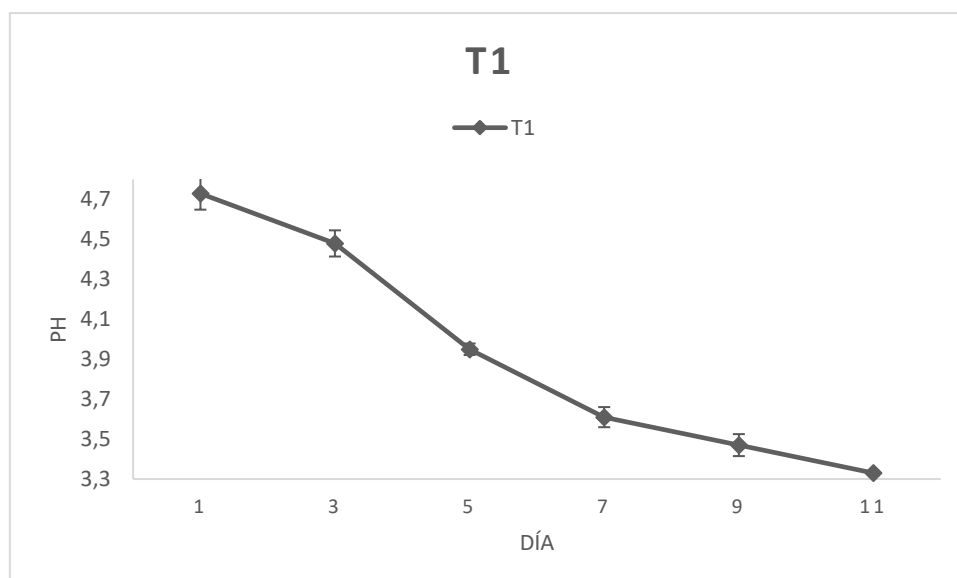
Comportamiento del pH en el tiempo para el control positivo.



En la figura 6 se muestra el comportamiento de pH, para el tratamiento 1 (guanábana), desde el día uno hasta el día once. Para el día uno se obtuvo un valor de pH de 4.73 ± 0.08 y el valor fue disminuyendo gradualmente hasta obtener una medida de 3.33 ± 0.01 para el día once.

Figura 6

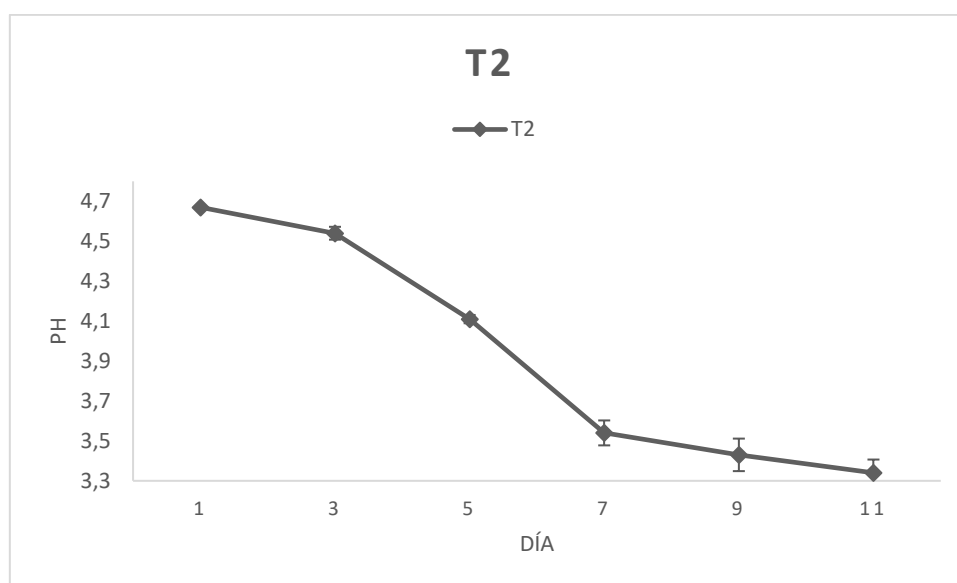
Comportamiento del pH en el tiempo para el tratamiento 1.



En la figura 7 se muestra el comportamiento de pH, para el tratamiento 2 (guayusa), desde el día uno hasta el día once. Para el día uno se obtuvo un valor de pH de 4.67 ± 0.01 y el valor fue disminuyendo gradualmente hasta obtener una medida de 3.34 ± 0.07 para el día once.

Figura 7

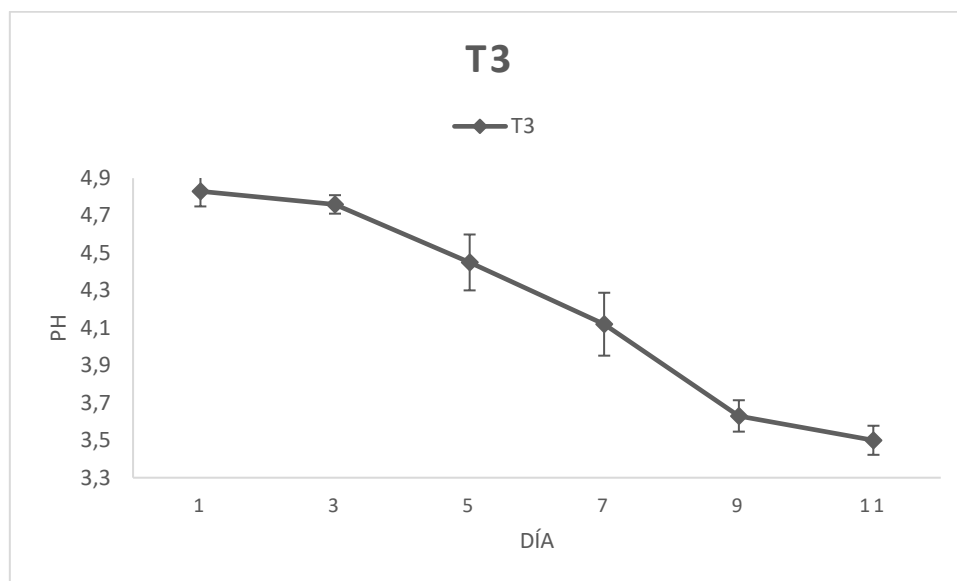
Comportamiento del pH en el tiempo para el tratamiento 2.



En la figura 8 se muestra el comportamiento de pH, para el tratamiento 3 (café), desde el día uno hasta el día once. Para el día uno se obtuvo un valor de pH de 4.83 ± 0.08 y el valor fue disminuyendo gradualmente hasta obtener una medida de 3.5 ± 0.08 para el día once.

Figura 8

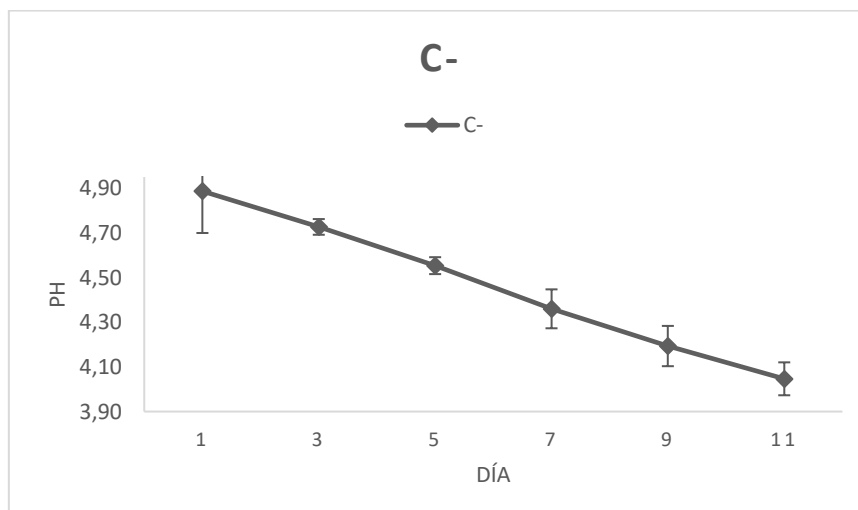
Comportamiento del pH en el tiempo para el tratamiento 3.



En la figura 9 se muestra el comportamiento de pH, para el control negativo, desde el día uno hasta el día once. Para el día uno se obtuvo un valor de pH de 4.89 ± 0.19 y el valor fue disminuyendo gradualmente hasta obtener una medida de 4.05 ± 0.07 para el día once. Sin embargo, la variación de pH fue de un comportamiento diferente al de los demás tratamientos y control positivo.

Figura 9

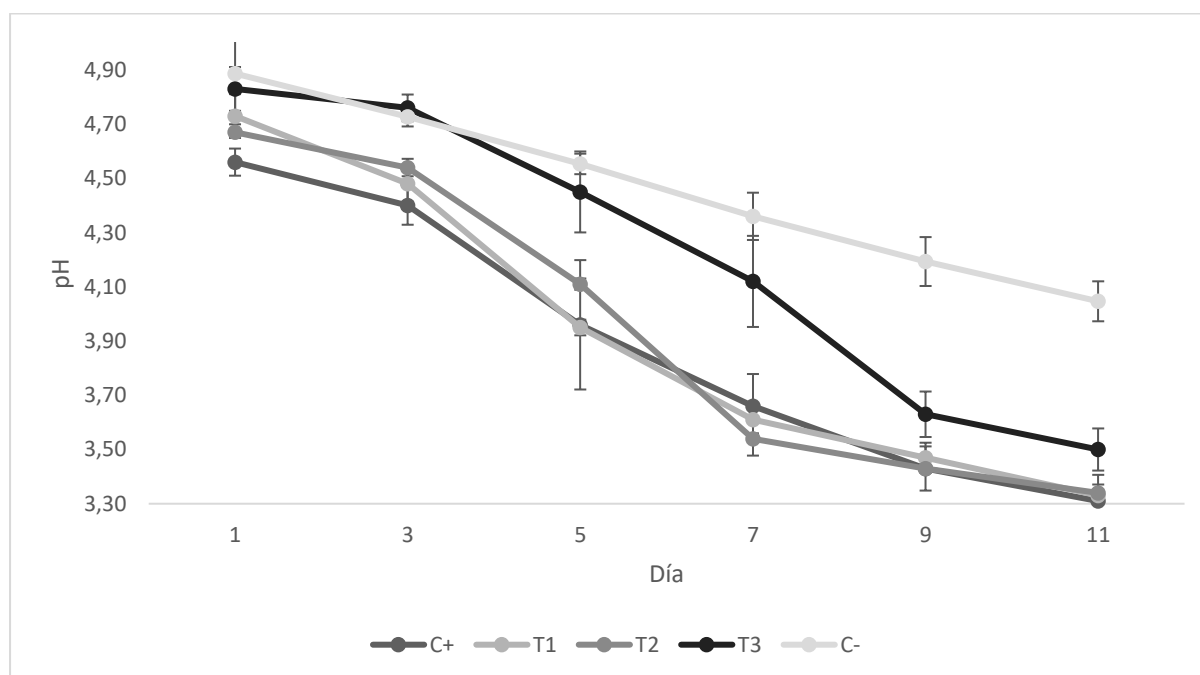
Comportamiento del pH en el tiempo para el control negativo.



Todos los tratamientos (T1, T2, y T3) y el control positivo mostraron un comportamiento similar en el parámetro de pH. En la figura 10 se puede observar de manera comparativa las mediciones de pH realizadas desde el día uno hasta el día once. De acuerdo con varios autores, la recomendación para finalizar la fermentación es dejar la bebida con un pH entre 3 y 4.2 (Goh et al. 2012, Coelho et al. 2020), por ese motivo se decidió que la bebida estaba lista a los 11 días cuando el promedio de pH de los tratamientos y el C+ fue de 3.37.

Figura 10.

Comportamiento del pH en el tiempo para las unidades experimentales propuestas.



El pH en la kombucha tradicional presenta un comportamiento decreciente como lo presentó el control positivo de este experimento. El comportamiento normal del pH debe empezar en un valor menor a 5 y con el tiempo estimado de fermentación, entre 10 y 15 días, debe reducir su nivel de pH hasta 2 (Dutta y Paul 2019). De igual manera, los tratamientos 1, 2 y 3 presentaron un comportamiento similar donde el pH empezó en un rango de 4.75 a 4.85 hasta disminuir a un valor promedio de 3.37 en los once días que duró la fermentación.

En la tabla 6 se muestra el análisis estadístico ANOVA y Tukey realizado a los resultados de pH de los tratamientos, donde se puede observar que para todos los días si existió diferencias significativas ($p < 0,05$) en la medida de pH para el C+, T1, T2 y T3 (el C- no se tomó en cuenta para este análisis). Para la prueba de Tukey a partir del día 5 el único tratamiento que presentó diferencias significativas ($p < 0,05$), en comparación con los demás tratamientos, fue el tratamiento T3.

Tabla 6

Prueba ANOVA y Tukey para las medidas de pH obtenidas.

Tratamiento	Día					
	1	3	5	7	9	11
	pH					
C+	4,56A	4,4A	3,96A	3,66A	3,43A	3,31A
T1	4,73AB	4,48AB	3,95A	3,61A	3,47A	3,33A
T2	4,67AB	4,54B	4,11A	3,54A	3,43A	3,34A
T3	4,83C	4,76C	4,45B	4,12B	3,63B	3,5B

Nota. Medias en columnas con una letra común no son significativamente diferentes $p > 0,05$.

El comportamiento del pH del T3 es un comportamiento que presentó un valor más elevado que los demás tratamientos realizados en este estudio, esto se debió a que se utilizó café como fuente de nitrógeno. De acuerdo con la literatura, el pH normal del café es de 4.85 – 5.1, al momento de la preparación de la bebida la adición de café es la razón por la cual presentó el pH más elevado de los tratamientos (Yeager et al. 2021). Un comportamiento similar de pH de la kombucha preparada con café reportó Bueno et al. (2021) donde de igual manera reemplazaron el té negro con café y presentaron un pH inicial de 4.01 y un pH final de 3.51.

El tiempo de fermentación promedio para la kombucha difiere según lo que se espera del producto, si se desea obtener un producto con cierto nivel de dulce la fermentación será corta. Por otra parte, si se desea un producto más ácido la fermentación

se extenderá. La temperatura es un factor que afecta directamente el tiempo de fermentación. Durante este estudio se finalizó la fermentación a un pH promedio de 3.38 a los 11 días de fermentación a temperatura ambiente (18 ± 0.76 °C).

La reducción de pH en todos los tratamientos y control es un indicador de que la fermentación se está llevando a cabo. El metabolismo de las bacterias que se encuentran en el SCOBY y en el medio producen ácidos orgánicos, responsables de la reducción del pH. El subproducto que más se genera, de acuerdo con la literatura, es el ácido acético, aunque también se generan otros ácidos como son el ácido glucónico, glucurónico, cítrico, L-láctico, oxálico, tartárico, pirúvico y málico (Bueno et al. 2021, Jayabalan et al. 2016).

Los resultados obtenidos en base al comportamiento de pH concuerdan con los tiempos de fermentación de otros autores, donde además se observa que si aumentan las temperaturas los tiempos de fermentación se acortan. Coelho et al. (2020) indican que la fermentación, para alcanzar el pH deseado y las características organolépticas esperadas, es de 5 a 7 días. Lo mismo reportan otros artículos donde, por ejemplo: Četojević-Simin et al. (2010) finalizaron la fermentación a los 3 días manteniendo una temperatura de 28 °C y un pH final de 2.89, Wang et al. (Wang et al. 2022) finalizaron la fermentación a los 4 días manteniendo una temperatura de 30 °C y Moreira et al. (2022) finalizaron la fermentación a los 10 días manteniendo una temperatura de 25 °C y un pH final de 3.1.

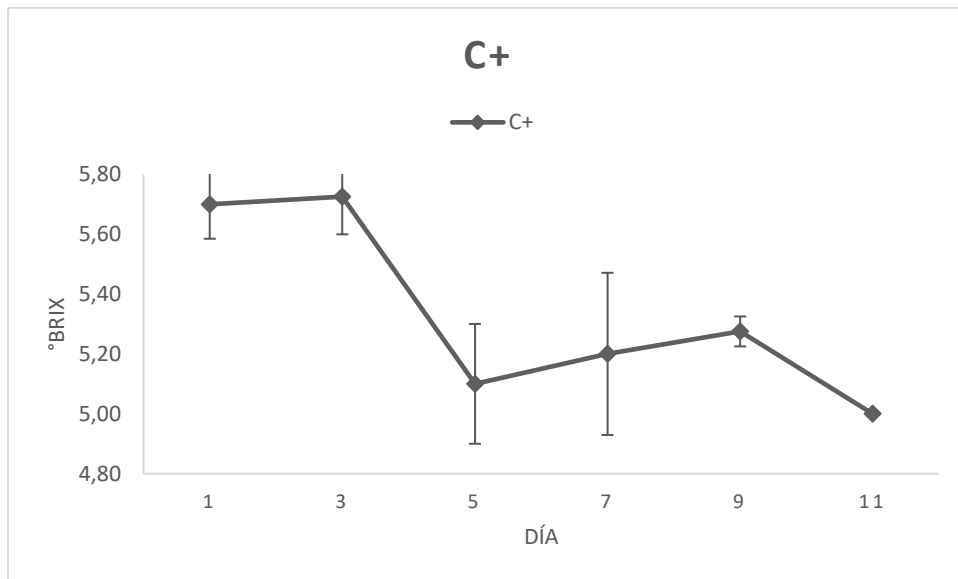
5.3.2. Sólidos solubles totales

Otra medida que se analizó en este estudio son los sólidos solubles totales en grados brix. Para cada tratamiento se observó un comportamiento.

En la figura 11 se muestra el comportamiento de los grados brix en el tiempo para el control positivo, la medida inicial fue de 5.7 ± 0.12 y el día once el valor de los grados Brix fue de 5.0 ± 0.0 .

Figura 11

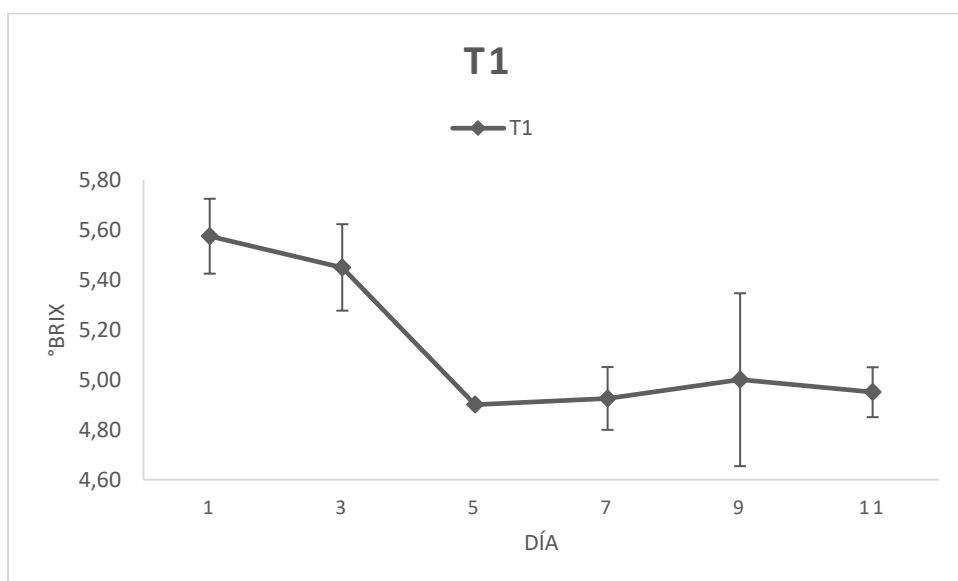
Comportamiento de los grados Brix en el tiempo para el control positivo



En la figura 12 se muestra el comportamiento de los grados brix en el tiempo para el T1, la medida inicial fue de 5.58 ± 0.15 y el día once el valor de los grados Brix fue de 4.95 ± 0.10 .

Figura 12

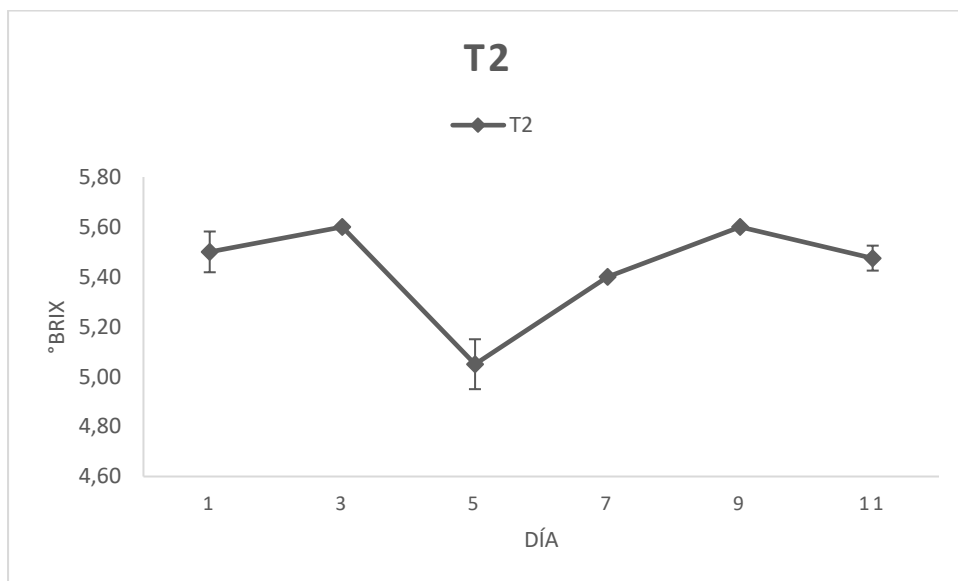
Comportamiento de los grados Brix en el tiempo para el T1



En la figura 13 se muestra el comportamiento de los grados brix en el tiempo para el T2, la medida inicial fue de 5.50 ± 0.08 y el día once el valor de los grados Brix fue de 4.48 ± 0.05 .

Figura 13

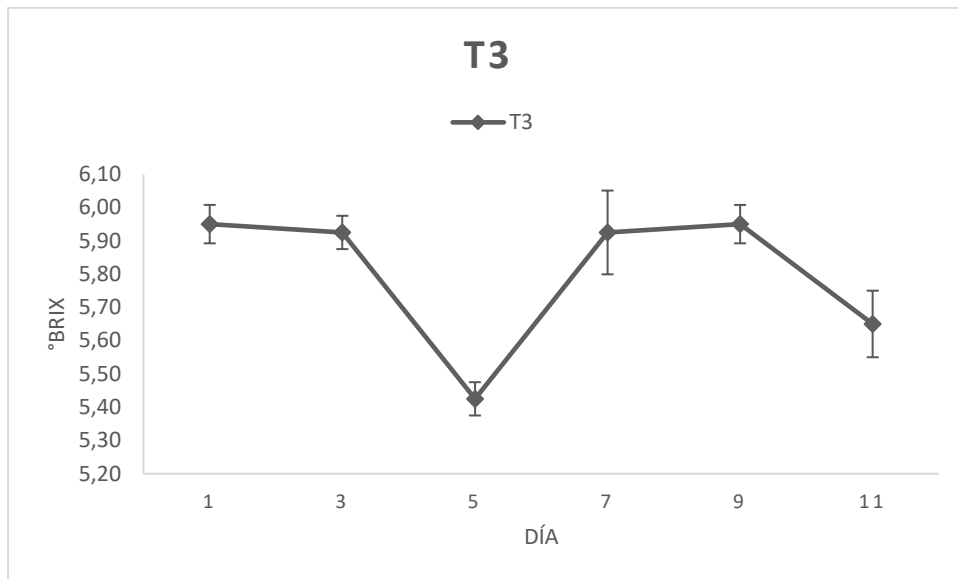
Comportamiento de los grados Brix en el tiempo para el T2.



En la figura 14 se muestra el comportamiento de los grados brix en el tiempo para el T3, la medida inicial fue de 5.95 ± 0.06 y el día once el valor de los grados Brix fue de 5.65 ± 0.10 .

Figura 14

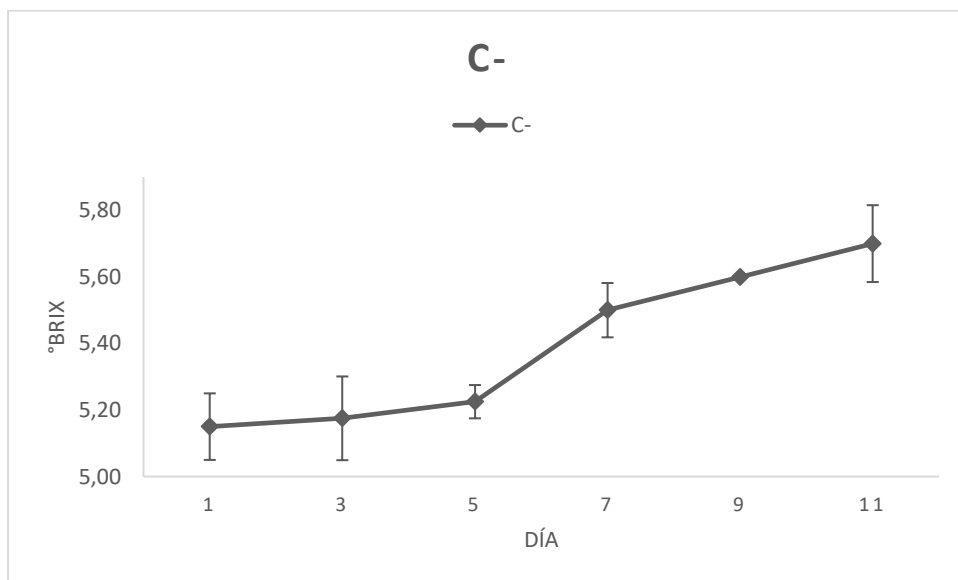
Comportamiento de los grados Brix en el tiempo para el T3.



En la figura 15 se muestra el comportamiento de los grados brix en el tiempo para el C-, la medida inicial fue de 5.15 ± 0.10 y el día once el valor de los grados Brix fue de 5.70 ± 0.12 .

Figura 15

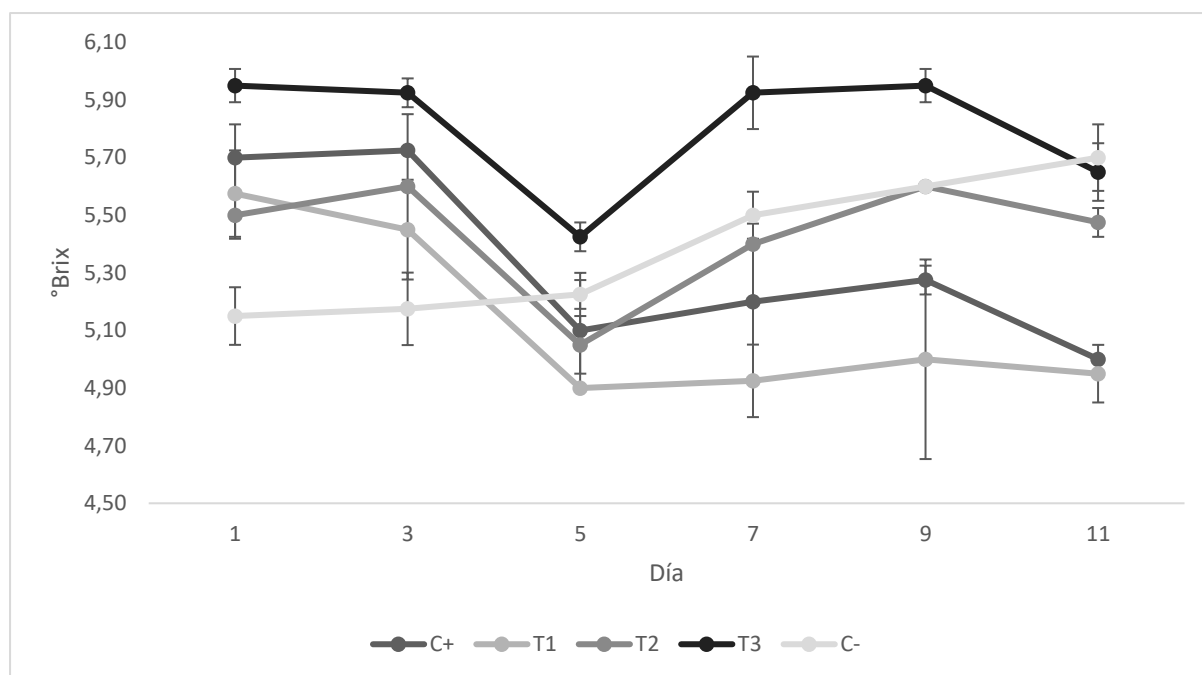
Comportamiento de los grados Brix en el tiempo para el C-.



En la figura 16 se muestra de forma comparativa, para todos los tratamientos y controles el comportamiento de los grados Brix en el tiempo.

Figura 16

Comportamiento de los °Brix en el tiempo para las unidades experimentales propuestas.



El comportamiento de los grados Brix muestra en general una tendencia a reducir. Se puede observar en la figura 16 como el C+, T1, T2 y T3 pasan por una pequeña reducción del día 1 al día 3 y cuando llega el día 5 hay una baja de los grados brix más notable. Sin embargo, la variación de los grados °Brix es distinta para cada tratamiento y control, el control positivo tuvo una reducción de 0.7 puntos, el T1 tuvo una reducción de 0.63 puntos, el T2 tuvo una reducción de 0.03 puntos, el T3 tuvo una reducción de 0.3 puntos y el C- tuvo un aumento de 0.55 puntos contrariamente a los demás tratamientos.

El análisis estadístico se presenta en la tabla 7, el resultado del ANOVA indica que en todos los tratamientos por cada día existió diferencias significativas ($p < 0,05$). Con la prueba de Tukey se obtuvo que el C+ y T1 mostraron valores aproximados de sólidos soluble totales y el T2 y T3 presentaron valores similares desde el día 7 hasta el 11. El

rango en el que se encontraron los resultados de sólidos solubles totales para todos los tratamientos fue de 5 y 6 °Brix.

Tabla 7

Prueba ANOVA y Tukey para las medidas de °Brix obtenidas.

Tratamiento	Día					
	1	3	5	7	9	11
	° Brix					
C+	5,7AB	5,73B	5,1A	5,2AB	5,28AB	5A
T1	5,58A	5,45A	4,9A	4,93A	5A	4,95A
T2	5,5A	5,6AB	5,05A	5,4BC	5,6BC	5,48B
T3	5,95B	5,93B	5,43B	5,93C	5,95C	5,65B

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Existe poca información sobre el comportamiento de los grados Brix en la kombucha durante la fermentación, no obstante, los resultados obtenidos sobre el comportamiento de °Brix coincide con lo que se ha reportado en estudios similares. Bueno et al. (2021) realizaron una bebida de kombucha reemplazando el té negro por café y el comportamiento de los grados Brix inicio en 12.83 y luego al finalizar la fermentación se encontraba en 12.16 un comportamiento similar al presentado por el T3. En adición, Galarza y Vizhñay (2021) también analizaron el comportamiento de los TDS (sólidos solubles totales) y obtuvieron que los grados brix iniciales fueron de 5.7 y al finalizar la fermentación, 10 días después el valor final fue de 5.58. Guzmán (2021) que en su estudio realizó una kombucha a base de té negro, obtuvo una concentración final de TDS de 5 en un periodo de fermentación de 10 días, de igual manera presentó un comportamiento similar al de este estudio en cuanto a comportamiento desde el primer día.

En cuanto al comportamiento del C-, en el cual los grados brix tuvieron una tendencia de incrementar, Novillo (2021) menciona en su trabajo, donde presentó este comportamiento, que esto se debe a los productos generados por el metabolismo de las

levaduras y bacterias presentes. La presencia de estos metabolitos causa un aumento de la medida de los grados brix, además de la sacarosa que no se encuentra hidrolizada.

5.3.3. Peso drenado de SCOBY

Para cada tratamiento se midió el peso drenado de la estera de celulosa zoogaleal o SCOBY que se forma como subproducto de la fermentación, este proceso se midió desde el día 11 debido a que es necesario que se forme una estructura sólida para poderla manipular y pesar, y se tomó luego en el día 17 y 24. Los resultados promedios de los pesos en gr del SCOBY se observan en la tabla 8, donde además se muestra los resultados del ANOVA, donde todos los tratamientos mostraron que al menos uno de ellos es estadísticamente diferente (ellos $p < 0,05$), y el resultado de la prueba de Tukey.

Tabla 8

Prueba ANOVA y Tukey para las medidas de peso SCOBY obtenidas.

Tratamiento	Día		
	11	17	24
	Peso SCOBY		
C+	33,50B	60,00B	89,50D
T1	17,50A	21,00A	27,25A
T2	15,00A	19,75A	35,25B
T3	29,25B	55,75B	74,50C

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Además, se incluye en la figura 17 un gráfico donde se observa el crecimiento del SCOBY en el tiempo para cada tratamiento. Se puede apreciar que el tratamiento que obtuvo un mayor crecimiento fue el C+ alcanzando un peso de 89.5 ± 2.52 gr al día 24 de fermentación, seguido por el T3 que obtuvo un valor de 74.5 ± 7.05 gr. Los tratamientos T2 y T1 presentaron un crecimiento menor de SCOBY, alcanzando el valor de 35.25 ± 1.26 y

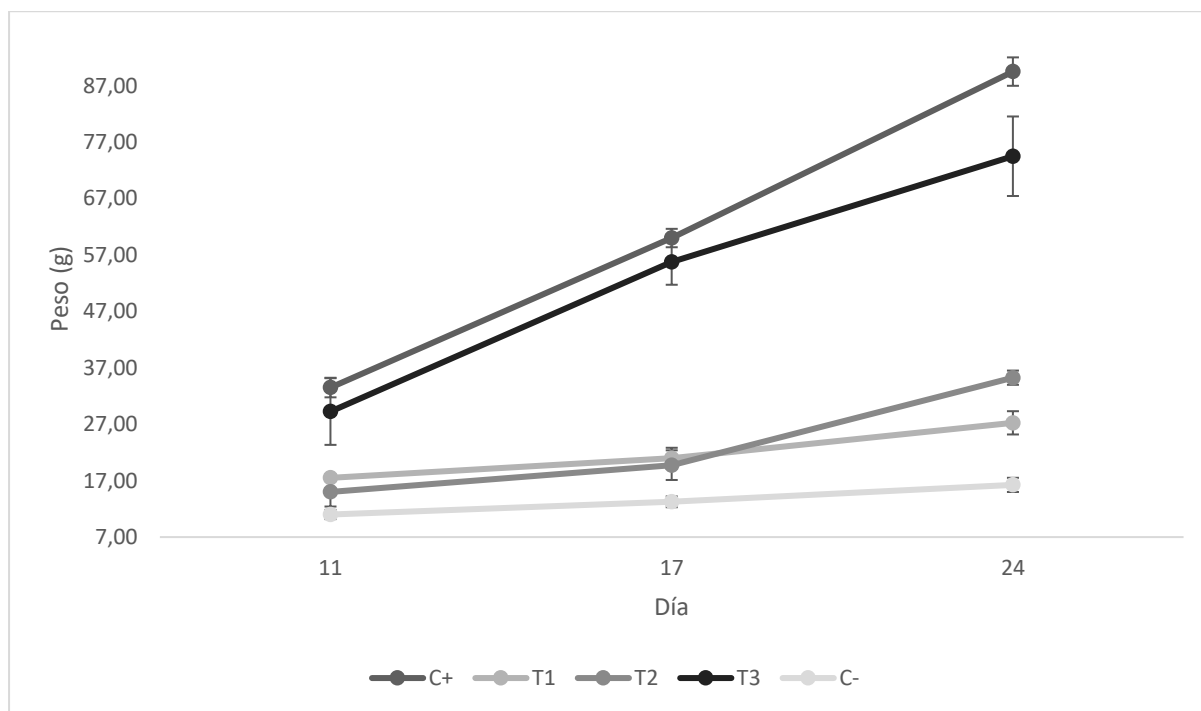
27.25 ± 2.06 gr respectivamente. Para el día 11 todos los tratamientos presentaron diferencias significativas entre ellos $p < 0,05$.

Avcioglu et al. (2021) realizaron un estudio donde evaluaron el rendimiento de SCOBY cambiando distintas variables que afectan su producción para obtener el mejor tratamiento. Uno de sus parámetros evaluados fue el porcentaje de té negro que se añade a la fórmula y obtuvieron que 1 % es el valor más adecuado para tener el mejor rendimiento de SCOBY. En este estudio solo se incorporó el 0.4 % como fuente de nitrógenos para todos los tratamientos por lo que se podría considerar aumentar dicho valor para incrementar el crecimiento de SCOBY en el tiempo.

Son muchos los factores que influyen en el crecimiento del SCOBY como se ha mencionado anteriormente y lo reafirman varios autores (Alkhalifawi y Hassan 2014, Avcioglu et al. 2021). Sin embargo, en este estudio se pudo observar que el C+ y T3, los cuales tuvieron los crecimientos más favorables de SCOBY, tuvieron una coloración café oscuro mientras que los tratamientos T1 y T2 presentaron una coloración verde transparente y mostraron un menor crecimiento de SCOBY, las diferencias de crecimientos son considerables y es importante establecer que el factor color puede ser una de las variables más importante para el desarrollo del SCOBY. En una revisión bibliográfica no se encontró un estudio que demuestre que el SCOBY es fotosensible, sin embargo, todas las metodologías recomiendan realizar la fermentación lejos de la luz directa del sol (Laavanya et al. 2021, Coelho et al. 2020, Chakravorty et al. 2016, Santos 2016, Jayabalan et al. 2016, Harrison y Curtin 2021, Jayabalan et al. 2014) y, de acuerdo a los resultados de este estudio, se deberá dar a la kombucha un color café oscuro, para obtener mejores rendimientos de SCOBY, por supuesto es necesario realizar un estudio sobre la fotosensibilidad de la kombucha para poder confirmar este punto.

Figura 17

Comportamiento del peso de SCOBY (gr) en el tiempo para las unidades experimentales propuestas.



5.4. Análisis sensorial

Los atributos analizados fueron aroma, color, textura, sabor, dulzor, residual de sabor y percepción global. De acuerdo con la prueba de Kruskal-Wallis realizada a los resultados (tabla 9) se puede observar que en todos los atributos analizados al menos una de las muestras fue estadísticamente diferente que las otras. En la tabla se incluyó la comparación entre cada uno de los tratamientos para establecer cuales no presentaban diferencias significativas. En adición, se incluye en la figura 18, un gráfico radial donde se observa las medias obtenidas del resultado del análisis sensorial. Se puede apreciar que los tratamientos se encuentran en un rango entre la neutralidad y la escala positiva de atributos. De acuerdo con el atributo de percepción global se puede inferir que el tratamiento que más gusto a los panelistas fue el T1, seguido del C+, T3 y T2. Aunque T1 no presento diferencia significativa con el control, si hubo diferencia significativa ($p < 0,05$) comparado con T2 y T3.

En cuanto a los comentarios de los evaluadores, algunos gustos C+ y el T1 hicieron énfasis en que les pareció refrescante y que la sensación avinagrada estaba en el punto correcto, mientras que otros evaluadores para el T2 mencionaron que le faltaba sensación avinagrada.

De acuerdo con la figura 18 se considera que todas las bebidas tuvieron una calificación aceptable en todos sus atributos. Es importante recalcar que en este estudio solo se realizó la primera fermentación de la kombucha y la segunda fermentación es la que usualmente le da a la bebida un sabor más aceptado dentro de nuestra población, al incluirse sabores frutales e incluso azúcar a la bebida. Esto lo menciona Jayabalan et al. (2016) en su revisión donde asegura que durante la segunda fermentación es cuando la bebida toma un sabor más agradable.

Ivanišová et al. (2019) en su estudio elaboraron una kombucha tradicional con té negro y sacarosa como sustrato y realizaron un análisis hedónico de 9 puntos, en sus resultados obtuvieron una gran aceptación del producto y fue descrito por la mayoría de panelista como una bebida de sabor fresco y agridulce, aunque algunos la describieron como dulce. En comparación con este estudio los panelistas encontraron la bebida refrescante y a la mayoría les gusto el nivel de dulzor porque no se sentía el dulce de la bebida.

Tabla 9

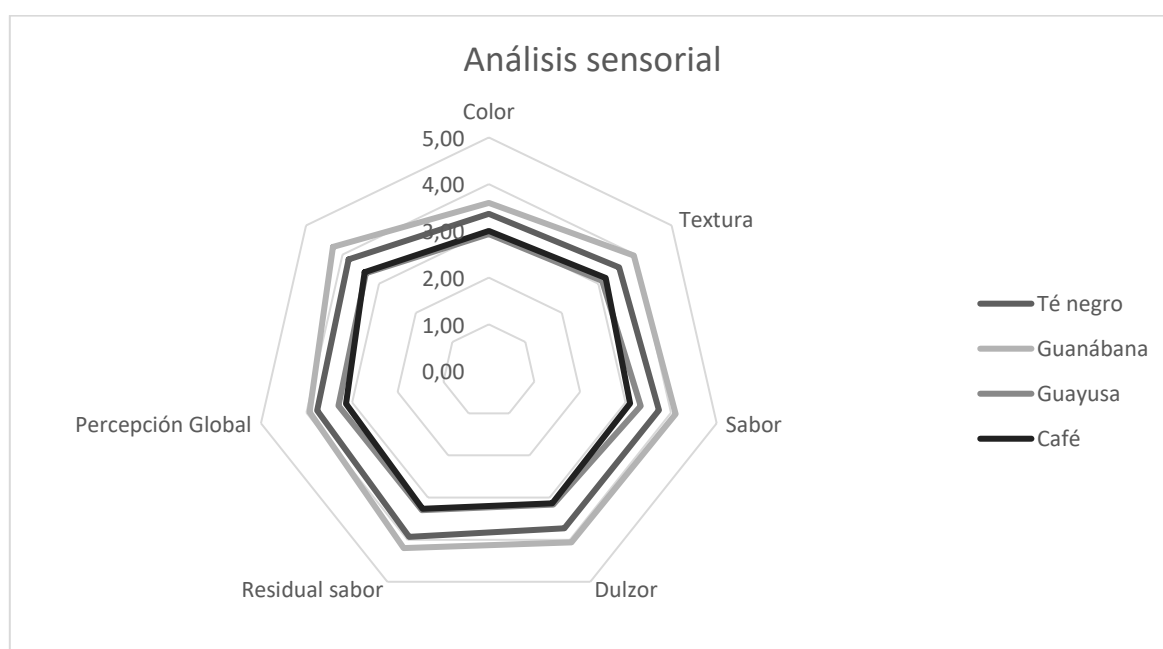
Promedios obtenidos de la prueba hedónica realizada a los tratamientos y al C+.

Tratamiento	Atributo						
	Aroma	Color	Textura	Sabor	Dulzor	Residual sabor	Percepción Global
	Promedio						
C+	3,36AB	3,56A	3,73BC	3,73B	3,93B	3,77BC	3,83AB
T1	3,60B	3,96B	4,10C	4,07B	4,20B	3,93C	4,27B
T2	2,93A	3,10A	3,33AB	3,16A	3,30A	3,30AB	3,36A
T3	3,00A	3,20A	3,10A	3,13A	3,27A	3,13A	3,40A

Nota: Promedios con una letra común no son significativamente distintos ($p > 0,05$)

Figura 18

Resultado del análisis sensorial presentado en un gráfico radial comparativo de cada tratamiento y C+.



Capítulo V

6. Conclusiones y recomendaciones

6.1. Conclusiones

- Las infusiones de guanábana, guayusa y café funcionan como sustratos para la obtención de la bebida kombucha y de su subproducto SCOBY, esto se lo demostró al observar el comportamiento descendente del pH en los tratamientos.
- Los mejores tratamientos para el crecimiento de SCOBY se dieron en el sustrato tradicional, te negro, y en el café. Los tratamientos de guayusa y guanábana si bien son buenos medios para la fermentación y obtención de kombucha, el crecimiento de SCOBY es lento para obtener buenos rendimientos.
- De acuerdo con el análisis sensorial el tratamiento que más gusto de forma global a los panelistas fue el T1, aunque no tuvo diferencia significativa con el C+. De igual manera, los demás tratamientos tuvieron una aceptación superior a la escala neutral lo que demuestra que los tres tratamientos tienen potencial de ser utilizados para la elaboración de kombucha.

6.2. Recomendaciones

- Es importante realizar un perfil metabolómico de cada una de las bebidas obtenidas con los sustratos propuestos, de esa manera se podría conocer con mayor seguridad que efectos beneficios a la salud brindaría cada bebida y que componentes bioactivos se encuentran disponibles.
- No hay referencias sobre el por qué la formación del SCOBY fue diferente en dos tratamientos, se podría también realizar un análisis de los microorganismos que crecen en cada sustrato y de esa manera conocer el distinto comportamiento del crecimiento de SCOBY.

Capítulo VI

7. Referencias y anexos

7.1. Referencias

Abdi, H; Williams, LJ. 2010. Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) Test (en línea).

Encyclopedia of Research Design. . s.l., s.e. 1-5. p. Disponible en

<http://www.utd.edu/~herve>.

Alkhalifawi, I; Hassan, I. 2014. Factors Influence on the yield of Bacterial Cellulose of

Kombucha (Khubdat Humza). *Baghdad Science Journal* 11:1420-1428.

Avcioglu, NH; Birben, M; Seyis Bilkay, I. 2021. Optimization and physicochemical characterization of enhanced microbial cellulose production with a new Kombucha

consortium (en línea). *Process Biochemistry* 108:60-68. DOI:

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.06.005>.

Ayed, L; Hamdi, M. 2015. Manufacture of a beverage from cactus pear juice using "tea fungus" fermentation (en línea). *Annals of Microbiology* 65(4):2293-2299. DOI:

<https://doi.org/10.1007/s13213-015-1071-8>.

Battikh, H; Bakhrouf, A; Ammar, E. 2012. Antimicrobial effect of Kombucha analogues. *LWT -*

Food Science and Technology 47(1):71-77. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2011.12.033>.

Bauer. L; Dekevich, D; Underthun, K. 2022. Kombucha (en línea, sitio web). Consultado 14 oct. 2022. Disponible en <https://fsi.colostate.edu/kombucha/>.

Bishop, P; Pitts, ER; Budner, D; Thompson-Witrick, KA. 2022. Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the chemical and flavor profile. *Food Chemistry Advances*

1:100025. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.FOCHA.2022.100025>.

Bond, S. 2021. Homemade Kombucha: The Simple Guide to Kickass Kombucha (en línea, sitio web). Consultado 15 abr. 2022. Disponible en <https://www.liveeatlearn.com/the-simple-guide-to-kickass-kombucha/#first>.

Bueno, F; Chouljenko, A; Sathivel, S. 2021. Development of coffee kombucha containing *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus casei*: Gastrointestinal simulations and DNA microbial analysis. *LWT* 142:110980. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.110980>.

Bustos, A; Sc, B; Rodríguez, D; Cantor, F; Flickr, F. 2008. ANDEVA para diseños completamente al azar (DCA). *Facultad de Ciencias Básicas* 4(1):143-148. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.18359/rfcb.2240>.

Četojević-Simin, DD; Velićanski, AS; Cvetković, DD; Markov, SL; Mrdanović, JŽ; Bogdanović, V v.; Šolajić, S v. 2010. Bioactivity of Lemon Balm Kombucha (en línea). *Food and Bioprocess Technology* 2010 5:5 5(5):1756-1765. DOI: <https://doi.org/10.1007/S11947-010-0458-6>.

Chakravorty, S; Bhattacharya, S; Chatzinotas, A; Chakraborty, W; Bhattacharya, D; Gachhui, R. 2016. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology* 220:63-72. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2015.12.015>.

Coelho, RMD; Almeida, AL de; Amaral, RQG do; Mota, RN da; Sousa, PHM de. 2020. Kombucha: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science* 22:100272. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.IJGFS.2020.100272>.

Dodge, Y. 2008. Kruskal-Wallis Test (en línea). New York, NY, Springer New York. p. 288-290 DOI: https://doi.org/10.1007/978-0-387-32833-1_216.

Dufresne, C; Farnworth, E. 2000. Tea, Kombucha, and health: a review (en línea). *Food Research International* 33(6):409-421. DOI: [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00067-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00067-3).

Dutta, H; Paul, SK. 2019. 8 - Kombucha Drink: Production, Quality, and Safety Aspects (en línea). In *Grumezescu, AM; Holban, AM (eds.)*. s.l., Woodhead Publishing. p. 259-288 DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815260-7.00008-0>.

FortuneBusinessInsights. 2020. Probiotics Market Trends, Share | Global Industry Growth [2020-2027] (en línea, sitio web). Consultado 12 abr. 2022. Disponible en <https://www.fortunebusinessinsights.com/industry-reports/probiotics-market-100083>.

Galarza, A; Vizhñay, J. 2021. El Pseudo Fruto del Marañón (*Anacardium Occidentale*) para la Elaboración de una Kombucha (en línea). Guayaquil, Universidad de Guayaquil. . Disponible en https://secure.urkund.com/view/92022486-868744-402357#./

Goh, WN; Rosma, A; Kaur, B; Fazilah, A; Karim, AA; Rajeev, B. 2012. Fermentation of black tea broth (Kombucha): I. Effects of sucrose concentration and fermentation time on the yield of microbial cellulose. *International Food Research Journal* 19(1):109-117.

Golden, DA; Hartel, RW; Heymann, H; Hotchkiss, JH; Johnson, MG; Montecalvo, J; Nielsen, SS; Silva, JL. 2010. *Sensory Evaluation of Food* (en línea). 2nd ed. USA, Springer. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6488-5>.

Gómez, B; Díaz, A; Valdés, R; Cruz, M. 2021. Efectos del consumo de café sobre la salud. *MediSur* 19(3):492-502.

GT's Living Foods. 2022. All Product – GT's Living Foods (en línea, sitio web). Consultado 13 abr. 2022. Disponible en <https://gtslivingfoods.com/collections/all-product>.

Guaraca, A; Mariño, G. 2020. DISEÑO DE BLOQUES COMPLETAMENTE AL AZAR(DBCA) (en línea, sitio web). Consultado 17 abr. 2022. Disponible en https://www.academia.edu/37684587/DISE%C3%91O_DE_BLOQUES_COMPLETAMENTE_AL_AZAR_DBCA_.

Guzmán, M. 2021. Resistencia de microorganismos aislados de kombucha a condiciones del tracto gastrointestinal in vitro. Zapopan, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. .

Harrison, K; Curtin, C. 2021. Microbial composition of scoby starter cultures used by commercial kombucha brewers in North America. *Microorganisms* 9(5). DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9051060>.

INEN. 2013. NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 395:2013 Segunda revisión CONSERVAS VEGETALES. DETERMINACIÓN DE LA MASA TOTAL ESCURRIDADA Primera edición CANNED VEGETABLES, DETERMINATION OF DRAINED TOTAL MASS. *INEN*. . s.l., s.e.

_____. 2014. NTE INEN-ISO 2172 - JUGO DE FRUTAS - DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE SÓLIDOS SOLUBLES - MÉTODO PICNOMÉTRICO (ISO2172:1983, IDT). Ecuador, Ecuador, INEN.

_____. 2014. NTE INEN-ISO 10523 - CALIDAD DEL AGUA. DETERMINACIÓN DEL PH (ISO 10523:2008, IDT). Ecuador, NTE INEN.

INIAP. 2014. Guanábana (en línea, sitio web). Consultado 13 oct. 2022. Disponible en <http://tecnologia.iniap.gob.ec/index.php/explore-2/mfruti/rguanabana>.

Ivanišová, E; Meňhartová, K; Terentjeva, M; Harangozo, L; Kántor, A; Kačániová, M. 2019. The evaluation of chemical, antioxidant, antimicrobial and sensory properties of kombucha tea beverage (en línea). *Journal of Food Science and Technology* 2019 57:5 57(5):1840-1846. DOI: <https://doi.org/10.1007/S13197-019-04217-3>.

Jayabalan, R; Malbaša, R v.; Lončar, ES; Vitas, JS; Sathishkumar, M. 2014. A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. s.l., Blackwell Publishing Inc., vol.13. p. 538-550 DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>.

Jayabalan, R; Malbaša, R v.; Sathishkumar, M. 2016. Kombucha. Reference Module in Food Science . DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03032-8>.

Jayabalan, R; Malini, K; Sathishkumar, M; Swaminathan, K; Yun, S-E. 2010. Biochemical characteristics of tea fungus produced during kombucha fermentation (en línea). Food Science and Biotechnology 19(3):843-847. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0119-6>.

Jayabalan, R; Subathradevi, P; Marimuthu, S; Sathishkumar, M; Swaminathan, K. 2008. Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. Food Chemistry 109(1):227-234. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2007.12.037>.

Kalaiappan, K; Rengapillai, S; Marimuthu, S; Murugan, R; Thiru, P. 2020. Kombucha SCOBY-based carbon and graphene oxide wrapped sulfur/polyacrylonitrile as a high-capacity cathode in lithium-sulfur batteries (en línea). Frontiers of Chemical Science and Engineering 2020 14:6 14(6):976-987. DOI: <https://doi.org/10.1007/S11705-019-1897-X>.

Kovacevic, Z; Davidovic, G; Vuckovic-Filipovic, J; Janicijevic-Petrovic, MA; Janicijevic, K; Popovic, A. 2014. A toxic hepatitis caused the kombucha tea – case report. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences 2(1):128-131. DOI: <https://doi.org/10.3889/oamjms.2014.023>.

Laavanya, D; Shirkole, S; Balasubramanian, P. 2021. Current challenges, applications and future perspectives of SCOBY cellulose of Kombucha fermentation. Journal of Cleaner Production 295:126454. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2021.126454>.

Leal, JM; Suárez, LV; Jayabalan, R; Oros, JH; Escalante-Aburto, A. 2018. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites (en línea). <http://mc.manuscriptcentral.com/tcyt> 16(1):390-399. DOI: <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>.

Liria, M. 2007. Guía para la evaluación sensorial de alimentos (en línea, sitio web).

Consultado 19 abr. 2022. Disponible en <https://lac.harvestplus.org/wp-content/uploads/2008/02/Guia-para-la-evaluacion-sensorial-de-alimentos.pdf>.

MarketsandMarkets. 2021. Probiotics Market Growth Analysis, Trends, and Forecasts to 2026 | MarketsandMarkets (en línea, sitio web). Consultado 12 abr. 2022. Disponible en <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/probiotic-market-advanced-technologies-and-global-market-69.html>.

Medina, E. 2020. Guía para uso de cloro como desinfectante en establecimientos (en línea, sitio web). Consultado 13 oct. 2022. Disponible en <https://www.oirsa.org/contenido/2020/Guia%20para%20uso%20de%20cloro%20como%20desinfectante%20en%20establecimientos%2023.06.2020.pdf>.

de Miranda, JF; Ruiz, LF; Silva, CB; Uekane, TM; Silva, KA; Gonzalez, AGM; Fernandes, FF; Lima, AR. 2022. Kombucha: A review of substrates, regulations, composition, and biological properties (en línea). *Journal of Food Science* 87(2):503-527. DOI: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16029>.

Moreira, G v.; Araujo, LCC; Murata, GM; Matos, SL; Carvalho, CRO. 2022. Kombucha tea improves glucose tolerance and reduces hepatic steatosis in obese mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 155:113660. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2022.113660>.

Mousavi, SM; Hashemi, SA; Amani, AM; Esmaeili, H; Ghasemi, Y; Babapoor, A; Mojoudi, F; Arjomand, O. 2018. Pb (II) Removal from Synthetic Wastewater Using Kombucha Scoby and Graphene Oxide/Fe₃O₄ (en línea). *Phys. Chem. Res* 6(4):759-771. DOI: <https://doi.org/10.22036/pcr.2018.133392.1490>.

Mukadam, TA; Punjabi, K; Deshpande, SD; Vaidya, SP; Chowdhary, AS. 2016. Isolation and Characterization of Bacteria and Yeast from Kombucha Tea. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 5(6):32-41. DOI: <https://doi.org/10.20546/IJCMAS.2016.506.004>.

Novillo, J. 2021. ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FERMENTADA CON TRES VARIEDADES DE TÉ DE PULPA DE CAFÉ (typica, sarchymor y bourbón sydra), UTILIZANDO NIVELES DEL 1, 1.5 Y 2% (en línea). Riobamba, ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO. . Consultado 22 nov. 2022. Disponible en <http://dspace.esoch.edu.ec/bitstream/123456789/15517/1/27T00469.pdf>.

Radice, M; Vidari, G. 2007. Caracterización fitoquímica de la especie Ilex guayusa Loes. y elaboración de un prototipo de fitofármaco de interés comercial (en línea). La Granja 6(2). Consultado 13 oct. 2022. Disponible en <https://lagranja.ups.edu.ec/index.php/granja/article/view/6.2007.01>.

ResearchandMarkets. 2021. Kombucha Market - Growth, Trends, COVID-19 Impact, and Forecasts (2021 - 2026) (en línea, sitio web). Consultado 13 abr. 2022. Disponible en <https://www.researchandmarkets.com/reports/4602385/kombucha-market-growth-trends-covid-19>.

Salazar, C; Castillo, S. 2018. FUNDAMENTOS BÁSICOS DE ESTADÍSTICA. Primera edición. s.l., s.e. 59-71 p.

Santos, MJ. (2016). KOMBUCHA: CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA E DESENVOLVIMENTO DE NOVOS PRODUTOS ALIMENTARES PARA USO EM RESTAURAÇÃO (en línea). Lisboa, s.e. Consultado 10 abr. 2022. Disponible en https://run.unl.pt/bitstream/10362/19346/1/Santos_2016.pdf.

Sharma, C; Bhardwaj, NK. 2019. Biotransformation of fermented black tea into bacterial nanocellulose via symbiotic interplay of microorganisms. International Journal of Biological Macromolecules 132:166-177. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.03.202>.

Villarreal-Soto, SA; Beaufort, S; Bouajila, J; Souchard, JP; Taillandier, P. 2018. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review (en línea). Journal of Food Science 83(3):580-588. DOI: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14068>.

Wahab, SMA; Jantan, I; Haque, MA; Arshad, L. 2018. Exploring the Leaves of *Annona muricata* L. as a Source of Potential Anti-inflammatory and Anticancer Agents (en línea). *Frontiers in Pharmacology* 9(JUN):661. DOI: <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2018.00661>.

Wang, X; Wang, D; Wang, H; Jiao, S; Wu, J; Hou, Y; Sun, J; Yuan, J. 2022. Chemical Profile and Antioxidant Capacity of Kombucha Tea by the Pure Cultured Kombucha (en línea). *LWT* 168:113931. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113931>.

Yeager, SE; Batali, ME; Guinard, JX; Ristenpart, WD. 2021. Acids in coffee: A review of sensory measurements and meta-analysis of chemical composition (en línea). DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1957767>.

7.2. Anexos

7.2.1. Kombucha comercial utilizada como iniciador de la fermentación



7.2.2. SCOBY y té resultante del tratamiento 1



7.2.3. SCOBY y té resultante del tratamiento 2



7.2.4. SCOBY y té resultante del tratamiento 3



7.2.5. SCOBY y té resultante del C+



7.2.6. Hoja de análisis sensorial entregada a los panelistas

30/11/22, 11:22

Evaluación sensorial Kombucha

Evaluación sensorial Kombucha

¡Hola! Por favor ayúdame respondiendo las siguientes preguntas. Recuerda seguir las instrucciones recibidas por la persona a cargo.

***Obligatorio**

Acerca del producto que vas a degustar

Vas a degustar cuatro productos realizados con el cultivo SCOBY que se utiliza para elaborar la kombucha. Estos productos se realizaron con diferentes infusiones herbales y queremos conocer tu percepción de cada uno.

Datos generales

1. Género *

Marca solo un óvalo.

- Masculino
- Femenino
- Otro: _____

2. Edad *

Marca solo un óvalo.

- Menor de 20 años
- De 21 a 30 años
- De 31 a 40 años
- De 41 a 50 años
- De 50 en adelante

3. ¿Es consumido de kombucha? *

Marca solo un óvalo.

SI

No

Instrucciones
para el
análisis
sensorial

Frente a usted tiene cinco muestras, cuatro rotuladas con una serie de tres dígitos en vasos transparentes y una con agua en un vaso blanco.

Por favor proceda a degustar de izquierda a derecha enjuagando el paladar con agua entre muestra y muestra.

Usted debe contestar una serie de preguntas para cada muestra rotulada, por lo que debe finalizar una evaluación para continuar a la siguiente muestra.

Recuerde puede enjuagar el paladar las veces que sea necesario, sin embargo debe tomar al menos la mitad de la muestra codificada.

Comportamiento a seguir antes, durante y después de la evaluación sensorial

Antes	Durante	Después
-No consumir alimentos o lavarse los dientes, al menos una hora antes de la evaluación. -No tomar café, mascar chicle o fumar antes de la evaluación	-Leer atentamente las instrucciones y seguir las indicaciones dadas -Evitar juicios y prejuicios -Evitar conversar entre panelistas -Preguntar al encargado ante cualquier duda	-No discutir impresiones personales de la evaluación con otros panelistas

Análisis
sensorial
muestra
954

Por favor señale las respuestas que describan cada atributo de evaluación sensorial de acuerdo con la siguiente escala de 1 al 5.

1. Me disgusta mucho
2. Me disgusta
3. No me gusta ni me disgusta
4. Me gusta
5. Me gusta mucho

30/11/22, 11:22

Evaluación sensorial Kombucha

4. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Aroma	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

5. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Color	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

6. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Textura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

7. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Sabor	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

8. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Dulzor	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

30/11/22, 11:22

Evaluación sensorial Kombucha

9. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Residual de sabor	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

10. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Percepción global	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

11. Comentario

<p>Análisis sensorial muestra 431</p>	<p>Por favor señale las respuestas que describan cada atributo de evaluación sensorial de acuerdo con la siguiente escala de 1 al 5.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Me disgusta mucho 2. Me disgusta 3. No me gusta ni me disgusta 4. Me gusta 5. Me gusta mucho
---------------------------------------	--

12. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Aroma	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

30/11/22, 11:22

Evaluación sensorial Kombucha

13. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Color	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

14. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Textura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

15. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Sabor	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

16. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Dulzor	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

17. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Residual de sabor	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

30/11/22, 11:22

Evaluación sensorial Kombucha

18. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Percepción global	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

19. Comentario

<p>Análisis sensorial muestra 576</p>	<p>Por favor señale las respuestas que describan cada atributo de evaluación sensorial de acuerdo con la siguiente escala de 1 al 5.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Me disgusta mucho 2. Me disgusta 3. No me gusta ni me disgusta 4. Me gusta 5. Me gusta mucho
---------------------------------------	--

20. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Aroma	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

21. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Color	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

30/11/22, 11:22

Evaluación sensorial Kombucha

22. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Textura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

23. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Sabor	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

24. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Dulzor	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

25. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Residual de sabor	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

26. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Percepción global	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

30/11/22, 11:22

Evaluación sensorial Kombucha

27. Comentario

Análisis
sensorial
muestra
723

Por favor señale las respuestas que describan cada atributo de evaluación sensorial de acuerdo con la siguiente escala de 1 al 5.

1. Me disgusta mucho
2. Me disgusta
3. No me gusta ni me disgusta
4. Me gusta
5. Me gusta mucho

28. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Aroma	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

29. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Color	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

30. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Textura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

30/11/22, 11:22

Evaluación sensorial Kombucha

31. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Sabor	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

32. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Dulzor	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

33. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Residual de sabor	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

34. Atributo *

Marca solo un óvalo por fila.

	5	4	3	2	1
Percepción global	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

35. Comentario

¡Muchas gracias por tu ayuda!
 Recuerda retirar tu premio por tu ayuda.

Este contenido no ha sido creado ni aprobado por Google.

Google Formularios