

# CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE UNA BEBIDA FERMENTADA TIPO KOMBUCHA ELABORADA CON JACKFRUIT (*ARTOCARPUS HETEROPHYLLUS*)

## ANTIOXIDANT CAPACITY OF A KOMBUCHA-TYPE FERMENTED BEVERAGE MADE WITH JACKFRUIT (*ARTOCARPUS HETEROPHYLLUS*)

Carolina Alicia Paz Yépez<sup>1</sup>, Ana Campuzano Vera<sup>2</sup>, Michelle Villamar<sup>3</sup>, Julio Andrés Palmay Paredes<sup>4</sup>, Grace Yanina Medina Galarza<sup>5</sup>.

{cpaz@uagraria.edu.<sup>1</sup> ecacampuzano@uagraria.edu.ec.<sup>2</sup>, michelle.villamar.mota@uagraria.edu.ec.<sup>3</sup>, ; jpalmay@uagraria.edu.ec.<sup>4</sup>, grace.medina.galarza@uagraria.edu.ec.<sup>5</sup>}

Fecha de recepción: 21/01/2025 / Fecha de aceptación: 24/01/2025 / Fecha de publicación: 03/03/2025

**RESUMEN:** El desarrollo de bebidas funcionales con beneficios potenciales para la salud ha mostrado un notable incremento debido a la creciente preferencia por productos saludables. Sin embargo, la oferta de este tipo de bebidas en el mercado sigue siendo limitada. En este contexto, el desarrollo de bebidas como la Kombucha representa una oportunidad significativa para la innovación en el sector alimentario. En esta investigación, se formularon tres tratamientos de Kombucha a partir de pulpa de jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*), combinada con diferentes concentraciones de té negro y sacarosa. Además, se empleó un inóculo del 1% de hongo SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast, conocido como hongo *Manchurian*). La fermentación aeróbica se llevó a cabo a 25 °C durante 12 días, siguiendo parámetros establecidos para garantizar la calidad del producto final. La bebida obtenida fue evaluada sensorialmente mediante una escala hedónica con la participación de 30 panelistas no entrenados. Posteriormente, se realizaron análisis fisicoquímicos, microbiológicos, pruebas de capacidad antioxidante y recuento de microorganismos probióticos. Los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza de un factor (ANOVA) y la prueba de comparación múltiple de Tukey, con un nivel de significancia del 5%. El tratamiento T3, caracterizado por un mayor contenido de té

<sup>1</sup>Instituto de Investigación "Ing. Jacobo Bucaram Ortiz, Ph.D.", Universidad Agraria del Ecuador-Ecuador, <https://orcid.org/0000-0001-9547-2817>; +593995700068.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias de la Salud y Desarrollo Humano; Universidad Tecnológica ECOTEC-Ecuador, <https://orcid.org/0000-0001-9547-2817>; +593995700068.

<sup>3</sup>Facultad de Ciencias Agrarias "Dr. Jacobo Bucaram Ortiz"; Universidad Agraria del Ecuador-Ecuador, <https://orcid.org/0000-0003-0010-4267>; +5939987860647.

<sup>4</sup>Facultad de Ciencias Agrarias "Dr. Jacobo Bucaram Ortiz"; Universidad Agraria del Ecuador-Ecuador, <https://orcid.org/0009-0002-9870-2184>.

<sup>5</sup>Facultad de Ciencias Agrarias "Dr. Jacobo Bucaram Ortiz"; Universidad Agraria del Ecuador-Ecuador, <https://orcid.org/0000-0002-7546-5211>; +593992565071.

<sup>6</sup>Instituto de Investigación "Ing. Jacobo Bucaram Ortiz, Ph.D.", Universidad Agraria del Ecuador-Ecuador, <https://orcid.org/0009-0004-8442-3760>; + 5930963313265.

negro, obtuvo la mayor aceptación sensorial. Este tratamiento presentó un pH de 2,66, un contenido alcohólico inferior al 0,05% y un contenido de azúcares totales de 38,90 g/L. Los análisis microbiológicos indicaron un recuento de  $1,9 \times 10^1$  UFC/mL para *aerobios mesófilos*, un recuento inferior a 3 NMP/mL para *Escherichia coli*, ausencia de *Salmonella* en 25 mL, un recuento inferior a  $1 \times 10^0$  UFC/mL para *Staphylococcus aureus* y  $1,85 \times 10^0$  UFC/mL para mohos y levaduras. En cuanto a los microorganismos probióticos, se registró un recuento de  $9,2 \times 10^4$  UFC/mL de bacterias viables. Por otra parte, la capacidad antioxidante, medida mediante el método DPPH, reportó 17,5 mg/L de equivalentes de ácido ascórbico y 19,1 mg/L de equivalentes de ácido gálico. Estos resultados confirman que la bebida cumple con los estándares establecidos por la normativa vigente, destacando por su notable capacidad antioxidante y un bajo contenido de probióticos debido a las condiciones de acidez propias del producto.

*Palabras clave: Capacidad antioxidante, kombucha, probióticos, jackfruit*

**ABSTRACT:** The development of functional beverages with potential health benefits has shown remarkable growth due to the increasing preference for healthy products. However, the availability of such beverages in the market remains limited. In this context, the development of beverages like Kombucha represents a significant opportunity for innovation in the food sector. In this study, three Kombucha treatments were formulated using jackfruit pulp (*Artocarpus heterophyllus*), combined with different concentrations of black tea and sucrose. Additionally, a 1% SCOBY inoculum (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast, also known as Manchurian fungus) was used. Aerobic fermentation was conducted at 25 °C for 12 days, following established parameters to ensure the quality of the final product. The resulting beverage was evaluated sensorially using a hedonic scale with the participation of 30 untrained panelists. Subsequently, physicochemical, microbiological, antioxidant capacity, and probiotic microorganism analyses were performed. The results were analyzed through one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's multiple comparison test, with a significance level of 5%. Treatment T3, characterized by a higher black tea content, achieved the highest sensory acceptance. This treatment showed a pH of 2.66, an alcohol content below 0.05%, and a total sugar content of 38.90 g/L. Microbiological analyses indicated a count of  $1.9 \times 10^1$  CFU/mL for mesophilic aerobes, a count below 3 MPN/mL for *Escherichia coli*, the absence of *Salmonella* in 25 mL, a count below  $1 \times 10^0$  CFU/mL for *Staphylococcus aureus*, and  $1.85 \times 10^0$  CFU/mL for molds and yeasts. Regarding probiotic microorganisms, a count of  $9.2 \times 10^4$  CFU/mL of viable bacteria was recorded. Additionally, antioxidant capacity, measured by the DPPH method, reported 17.5 mg/L of ascorbic acid equivalents and 19.1 mg/L of gallic acid equivalents. These results confirm that the beverage complies with the standards established by current regulations, standing out for its notable antioxidant capacity and low probiotic content due to the acidity characteristics of the product.

*Keywords: Antioxidant capacity, kombucha, probiotics, jackfruit*

## INTRODUCCIÓN

El cuerpo humano es un organismo complejo y maravillosos, capaz de crear su propia comunidad de células benéficas o microbiota, cuyo papel fundamental es regular las actividades fisiológicas compatibles con la vida. En este contexto, y en pro de potenciar su funcionamiento, el mercado ha desarrollado diversos productos denominados probióticos, moléculas que en cantidades adecuadas son capaces de interactuar con la microbiota y mejorar su funcionamiento normal (1). Debido al interés en esta clase de productos, se ha visto un incremento en la tendencia al consumo de alimentos naturales, entre ellos la Kombucha, una bebida ancestral fermentada en base a la simbiosis entre levaduras y bacterias acéticas (2).

El término "Kombucha" se remonta al noreste de China, alrededor del año 220 a.C., el cual combina el nombre del médico "Kombu" con la palabra "Chal", que en varios idiomas de Asia significa té, debido al uso y mezcla ancestral de té verde con té negro (3). Esta bebida fermentada combina un cultivo simbiótico de levaduras y bacterias beneficiosas conocido como SCOBY (Colonia simbiótica de bacterias y levaduras, por sus siglas en inglés) (4). El SCOBY es una estructura similar a una "capa gelatinosa" que actúa como un medio ideal para la producción de polifenoles y otros compuestos orgánicos. Dicho cultivo se forma gracias al proceso de fermentación de la kombucha, el cual toma alrededor de 15 días con una temperatura constante de 23 °C, lo que le confiere su característica acida y el desarrollo de ácidos terapéuticos (8). Estos elementos desempeñan un papel clave al inhibir el crecimiento de microorganismos perjudiciales y mejorar la salud, por lo cual, comenzó a emplearse como un remedio natural para trastornos digestivos (5).

Debido a la tendencia global en el consumo de bebidas funcionales, diversos autores investigan el uso y beneficio del uso de microorganismo en la elaboración de bebidas fermentadas, entre ellos, González Tellez, Olivares, Espinoza y Ruiz (6) quienes resaltan el uso del hongo *Manchurian fungus* en bebidas fermentadas similares a la kombucha y cuyos efectos beneficios se reflejan en el sistema digestivo minimizando síntomas como el reflujo y dolor por constipación, a más de ello ayudan a reducir los radicales libres en el organismo.

Esta tendencia enmarcada al consumo de alimentos con mayor valor nutricional marca la tendencia en la innovación y redescubrimiento de productos ancestrales con oportunidad de mejora y en el mercado. Entre estos desarrollos destaca el uso de nuevas matrices como el jackfruit, fruta que ha sido subestimada por el mercado y que, incluida en la formulación de bebidas y jugos, aporta una cantidad considerable de minerales como el magnesio, potasio y calcio, además de vitamina C y A en formulaciones de 250 mL (7).

Gracias a estas características y la marcada tendencia al consumo de productos funcionales, el redescubrimiento e innovación en la formulación de la kombucha como producto con mayor palatabilidad, brinda un puente entre en el estudio de nuevos procesamientos en bebidas ancestrales que sean accesibles a distintas zonas geográficas. por ello, en pro del desarrollo responsable de productos alimenticios con carácter benéfico y rico nutricionalmente, se formula la siguiente bebida kombucha con el uso de jackfruit como enriquecedor de su capacidad antioxidante y presentación de una bebida funcional.

## MATERIALES Y MÉTODOS

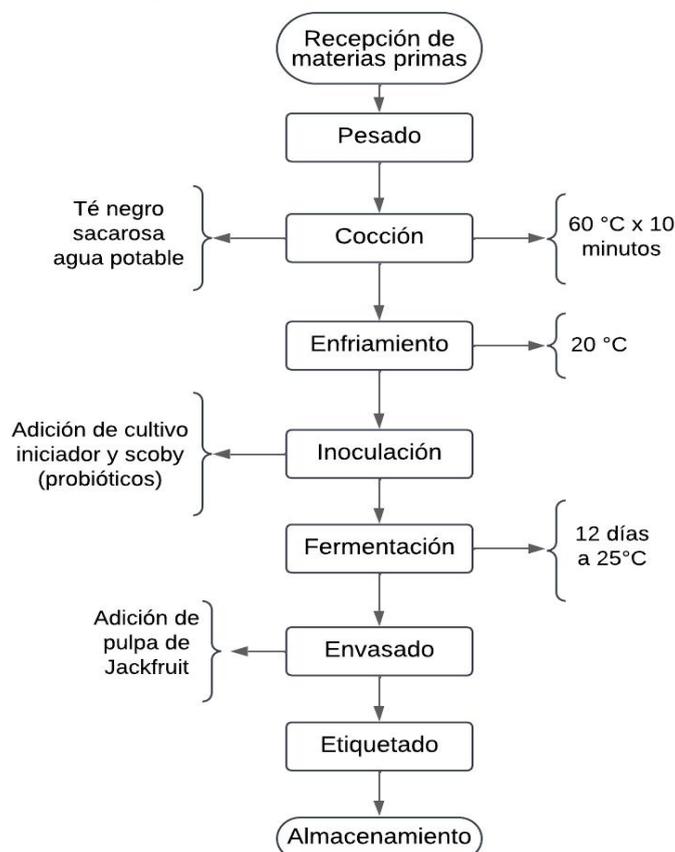
la metodología empleada en la presente investigación se enfocó en el estudio del perfil fisicoquímico biológico y capacidad antioxidante de la bebida Kombucha elaborada con jackfruit; Para ello, se emplearon variaciones de concentraciones de té negro y sacarosa como seudónimos de kombucha, a los cuales se les añadió concentraciones fijas de organismos probióticos como se presenta en la Tabla 1.

**Tabla 1. Formulaciones de los tratamientos de Kombucha.**

<b>Ingredientes (%)</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>
Té Negro	20	25	30
Sacarosa	20	15	10
Pulpa de Jackfruit	10	10	10
Jugo de limón	4	4	4
Agua Potable	40	40	40
Cultivo iniciador	5	5	5
Scoby	1	1	1
Total	100	100	100

Porcentajes de ingredientes para los distintos tratamientos en la formulación de la Kombucha.

El desarrollo de los tratamientos con kombucha se realizó utilizando el hongo SCOBY (Cultivo Simbiótico de Bacterias y Levaduras) como cultivo iniciador. Este fue almacenado en condiciones óptimas, empleando un líquido de cobertura y manteniéndolo refrigerado. El proceso general de elaboración, incluyendo los distintos tratamientos, se presenta en la Figura 1 a través de un diagrama de flujo.



**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE UNA BEBIDA FERMENTADA TIPO KOMBUCHA ELABORADA CON JACKFRUIT (ARTOCARPUS HETEROPHYLLUS)**

**Figura 1. Diagrama de flujo de la bebida kombucha elaborada con Jackfruit.**

**Elaboración de la bebida**

El proceso de elaboración de la bebida kombucha con jackfruit se llevó a cabo en etapas claramente definidas. En primer lugar, se realizó la recepción y validación de la materia prima, asegurando su calidad, seguida de un pesaje preciso según las formulaciones establecidas. Posteriormente, se llevó a cabo la cocción del té bajo parámetros controlados, con el fin de evitar la pérdida de compuestos bioactivos presentes en las hojas, como polifenoles, alcaloides y compuestos volátiles, así como caracteres desagradables como el sabor amargo debido a la presencia de taninos procedentes de una cocción prolongada. Culminado este proceso, se aplicó un tamizado para eliminar posibles impurezas.

En la segunda fase, la mezcla se dejó enfriar hasta alcanzar la temperatura óptima para la inoculación del cultivo establecido. Tras la inoculación, la mezcla pasó a la etapa de fermentación, en la cual se permitió el reposo bajo condiciones específicas con el objetivo de alcanzar las características deseadas de la bebida.

En la etapa final, se realizó un nuevo tamizado, seguido de la incorporación de la fruta jackfruit, permitiendo un reposo adicional para la integración homogénea del sabor. Finalmente, el producto fue envasado de acuerdo con las formulaciones planteadas, hasta su uso en los análisis requeridos y evaluación sensorial, como se detalla en la Tabla 2.

**Tabla 2. Parámetros en la elaboración de la Kombucha.**

<b>Etapas</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Condicionantes</b>
Recepción	Receptar materias primas de calidad	Proveedores de calidad
Pesado	Pesaje de los ingredientes acorde a los tratamientos.	T1: (Té Negro 20 gr; Sacarosa 20 gr; pulpa de jackfruit 10 gr); T2: (Té Negro 25 gr; Sacarosa 15 gr; pulpa de jackfruit 10 gr); T3: (Té Negro 30 gr; Sacarosa 10 gr; pulpa de jackfruit 10 gr)
Cocción	Acción de calor bajo parámetros controlados	60° C por 10 minutos
Tamizado	Eliminar partículas residuales	-
Enfriamiento	Llevar la solución a una temperatura estable	20 °C
Inoculación	Siembra de cultivo SCOBY (cultivo simbiótico de bacterias y levaduras).	1% de cultivo <i>Manchurian fungus</i>
Tamizado	Evitar una fermentación excesiva	-
Fermentación	1. Transformación de azúcares en alcohol 2. Acción de las bacterias convirtiendo el alcohol en ácido acético Multiplicación de bacterias probióticas	12 días a 25 °C 1–3 % grado alcohólico
Envasado	Adición de trozos de Jackfruit	Reposos de 5 horas a 25 °C Cubos de 1x1 cm

## CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE UNA BEBIDA FERMENTADA TIPO KOMBUCHA ELABORADA CON JACKFRUIT (ARTOCARPUS HETEROPHYLLUS)

Etiquetado

Presentación de 250 MI

4 °C

Condicionantes en las etapas de elaboración de la kombucha.

### Análisis sensorial

Dada la formulación y tipo de producto, se programó la evaluación sensorial a los 4 días luego de su elaboración, siguiendo los parámetros establecidos por Palmay-Paredes et al (9) para la evaluación de consistencia y textura en determinados productos, un panel conformado por 30 personas no entrenadas evaluaron el perfil sensorial de color, olor, sabor y consistencia mediante una escala hedónica de 5 puntos para la estimar la aceptabilidad de los tratamientos, como se observa en la Tabla 3.

**Tabla 3. Escala hedónica de aceptabilidad sensorial.**

Nivel de aceptación	Valor
Me disgusta mucho	1
Me disgusta poco	2
Ni me gusta, ni me disgusta	3
Me gusta poco	4
Me gusta mucho	5

Valores de ponderación para las diferentes escalas.

### Parámetros fisicoquímicos

Una vez establecida la bebida con mayor aceptabilidad por el panel, se realizó diversos análisis fisicoquímicos como pH, contenido alcohólico y azúcares totales enmarcados en la Norma DUS 2037:2018. Así como estudios microbiológicos como recuento de aerobios totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, mohos y levaduras, por último, se cuantificó la capacidad antioxidante mediante el método DPPH y el recuento de probióticos.

#### **Determinación del grado alcohólico**

Empleando como base legal la norma NTE INEN 340:2016, se determinó la concentración de alcohol etílico mediante destilación simple con el uso de un alcoholímetro al I método empleado se basó en un proceso de destilación simple (10).

#### **Determinación de azúcares totales por inversión**

De acuerdo con los preceptos establecidos por la norma NTE INEN 358-04, se analizaron las muestras siguiendo un procedimiento para eliminar residuos de anhídrido carbónico en un volumen total de 250 cm<sup>3</sup>. Posteriormente, se añadieron 50 cm<sup>3</sup> de la muestra a 25 cm<sup>3</sup> de solución de sulfato de cobre, llevando la mezcla a ebullición durante dos minutos. La solución resultante fue filtrada, y el precipitado de óxido cuproso se lavó con agua destilada enfriada a 60 °C. A continuación, se tituló utilizando una solución de permanganato de potasio, con fenantrolina ferrosa como indicador. Finalmente, se determinó volumétricamente la cantidad de óxido cuproso generado por la reducción del complejo de cobre empleado como reactivo (11).

### Requisitos microbiológicos

Con el fin de asegurar la calidad e inocuidad de la bebida kombucha, se realiza el análisis microbiológico de microorganismos como *aerobios mesófilos* (12), *Escherichia coli* (13), *mohos* y *levaduras* (14), *Staphylococcus aureus* (15) y *Salmonella* (16), de acuerdo a los límites establecidos por la Norma Técnica Ecuatoriana NTE y la Norma DUS 2037:2018 de acuerdo a la naturaleza del producto. Los métodos microbiológicos se muestran en la Tabla 4.

**Tabla 4. Técnicas de análisis microbiológico empleados.**

Microorganismo	Unidad	Límites	Norma Técnica Ecuatoriana
aerobios mesófilos	UFC/mL	Máx. 100	NTE INEN 1529-7
<i>Escherichia coli</i>	NMP/mL	<3	NTE INEN 1529-8:2016
<i>S. aureus</i>	UFC/mL	<1x10 <sup>0</sup>	INEN 1529-14: 2013
<i>Salmonella</i>	/25 mL	Ausencia	NTE INEN 1529-15:2013
Mohos y levaduras	UP/mL UFC/MI	Máx. 100	INEN 1529-10:2013

Normas y parámetros de control empleadas en el análisis microbiológico

El control microbiológico se realizó siguiendo las especificaciones correspondientes a cada análisis. Para la detección de *Salmonella*, se verificó únicamente la presencia o ausencia como indicador. En el caso de los *aerobios mesófilos*, se empleó el medio de cultivo Plate Count Agar para su cuantificación. El análisis de *Escherichia coli* se llevó a cabo utilizando el test de Mackenzie, complementado con pruebas bioquímicas IMViC (Indol, Rojo de Metilo, Voges-Proskauer y Citrato) para su identificación. Por su parte, la detección de *Staphylococcus aureus* incluyó pruebas adicionales de coagulasa y termonucleasa para cuantificar la carga microbiana.

Finalmente, para el recuento de mohos y levaduras, las muestras fueron diluidas y cultivadas en agar rosa bengala suplementado con cloranfenicol y Dicloran, garantizando condiciones óptimas para su aislamiento y recuento.

### Análisis de la viabilidad de crecimiento de probióticos

Para determinar la viabilidad de crecimiento de probióticos se tomó una muestra y se colocaron 10 g del producto en 90 mL de buffer fosfato estéril (pH 7,2); luego se homogenizó (2 min) en un Stomacher Lab (homogeneizador Masticator IUL S.A. modelo Basic,19K). Posteriormente se efectuaron diluciones decimales (10<sup>5</sup> - 10<sup>8</sup>) con buffer fosfato y se utilizó la técnica de siembra en superficie en los diferentes medios (17). Para los diferentes organismos se emplearon las técnicas descritas en la Tabla 5.

**Tabla 5. Condicionantes para el crecimiento de probióticos.**

Microorganismo	Medio	Condiciones de incubación
<i>Lactobacillus casei</i> 01	Agar MRS (Man, Rogosa y Sharpe) con glucosa	72 horas a 36 °C
<i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5	Agar MRS con maltosa	72 horas a 43 °C en anaerobiosis
<i>Bifidobacterium</i> BB-12	Agar MRS modificado con cloruro de litio y L-cisteína con adición de glucosa	36 °C en anaerobiosis

Parámetros de incubación en el crecimiento de probióticos detectables

### **Análisis de la capacidad antioxidante.**

Dado que a nivel nacional no se dispone de una normativa de referencia para otras bebidas fermentadas (no lácteas), la presente investigación empleo la norma INEN 2395 para leches fermentadas, y el método del 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) mediante espectrofotometría para capacidad antioxidante (18).

## **RESULTADOS**

### **Análisis sensorial**

Los resultados obtenidos a partir de las muestras de la bebida kombucha, se establecen partiendo del tratamiento T3 formulado con 30 gr de té Negro, 10 gr de sacarosa y 10 gr de pulpa, seleccionado por los panelistas como el de mayor aceptabilidad. El mismo cuyos resultados se observan en la Tabla 6.

**Tabla 6. Análisis de varianza de los parámetros sensoriales de las formulaciones de Kombucha.**

Tratamiento	Color		Olor		Sabor		Consistencia	
	Media	E.E.	Media	E.E.	Media	E.E.	Media	E.E.
T1	2,37 <sup>b</sup>	0,11	2,20 <sup>c</sup>	0,11	2,43 <sup>c</sup>	0,08	2,20 <sup>c</sup>	0,08
T2	2,30 <sup>b</sup>	0,11	2,73 <sup>b</sup>	0,11	3,17 <sup>b</sup>	0,08	2,50 <sup>b</sup>	0,08
T3	4,47 <sup>a</sup>	0,11	4,33 <sup>a</sup>	0,11	4,87 <sup>a</sup>	0,08	4,73 <sup>a</sup>	0,08

Medias con letras minúsculas similares indican grupos homogéneos de los datos según la prueba de Tukey ( $p>0,05$ ).

E.E.: error estándar de la media; n= 30.

Acorde a los resultados evidenciados en la tabla 6, el tratamiento 3 (T3) evidenció una alta aceptabilidad, superando los 4 puntos en todos los parámetros evaluados. En cuanto al parámetro de color, el T3 se destacó como el de mayor aceptación, con una media de 4.47, mostrando diferencias estadísticamente significativas con respecto a las demás formulaciones. Respecto al parámetro de olor, el T3 alcanzó un valor de 4.33, lo que se aproxima a la categoría "me gusta mucho" en la escala utilizada. En lo que refiere al sabor, el T3 mostró una predominancia destacada con un valor de 4.87, presentando una diferencia estadísticamente significativa ( $p>0,05$ ) en comparación con los otros tratamientos. Por último, en el parámetro de consistencia, relacionado con la textura en boca, el T3 también lideró con un valor de 4.73, lo que equivale a un nivel de aceptación entre "me gusta poco" y "me gusta mucho" en la escala de 5 niveles.

Estos resultados posicionan al tratamiento 3 como el de mayor aceptabilidad por parte de los panelistas, razón por la cual se realizaron los análisis complementarios correspondientes.

### **Análisis físicos y químicos**

En base al análisis físico químico realizado al tratamiento 3, se determinó que la bebida kombucha cumple con los parámetros establecidos por la normativa nacional, así como la normativa Norma DUS 2037:2018 para la bebida de Kombucha, en la cual reflejo valores de

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE UNA BEBIDA FERMENTADA TIPO KOMBUCHA ELABORADA CON JACKFRUIT (ARTOCARPUS HETEROPHYLLUS)**

2.66 en pH, un contenido alcohólico de 0.5 % (V/V) y un contenido de azúcares totales de 38.9 g/L, como se refleja en la Tabla 7.

**Tabla 7. Resultados de análisis físico químico al tratamiento de mejor aceptación - T3.**

Parámetro	Unidad	Resultado	Requisito*
pH	-	2,66	No es requisito
Contenido alcohólico a 20°C	g/L	38,90	Máximo 50
Azúcares totales por inversión	% v/v	<0,50	Máximo 0,5

Requisitos químicos según la Norma DUS 2037:2018 Draft Uganda Standard Kombucha – Specification.

### Calidad microbiológica

Por otra parte, el estudio de calidad microbiológica reflejo que la formulación 3 cumple con los parámetros de inocuidad y garantía de un producto final, demostrado por los valores obtenidos, reflejados en la tabla 8 y que están bajo los límites permitidos para este tipo de bebidas.

**Tabla 8. Resultados microbiológicos del tratamiento de mejor aceptación según panel sensorial - T3.**

Parámetro	Unidad	Resultado	Requisito*
Aerobios mesófilos	UFC/mL	1,9x10 <sup>1</sup>	Máx. 100
<i>E. coli</i>	NMP/mL	< 3	<3
<i>S. aureus</i>	UFC/mL	<1x10 <sup>0</sup>	<1x10 <sup>0</sup>
Salmonella	/25 mL	No detectado	No detectado
Mohos y levaduras	UP/mL	1,85x10 <sup>0</sup>	Máx. 100

\*Requisitos microbiológicos según la Norma DUS 2037:2018 Draft Uganda Standard Kombucha – Specification.

### Conteo de probióticos y la capacidad antioxidante de la bebida “Kombucha”

Referente al conteo de probióticas y capacidad antioxidante demostrada por la formulación 3 con mayor aceptabilidad, se obtuvo que el recuento de microorganismos probióticos fue inferior al requisito establecido por la norma NTE INEN 2395 (19).

Mientras que la capacidad antioxidante presento valores de 17,5 mg de EAA/L (EEA = Equivalente de ácido ascórbico) y 19,1 mg de EEG/L (EEG = Equivalente de ácido gálico), observados en la Tabla 9.

**Tabla 9. Resultados del recuento de microorganismos probióticos y capacidad antioxidante del tratamiento de mejor aceptación sensorial - T3.**

Parámetro	Unidad	Resultado	Requisito
Microorganismos probióticos	UFC/mL	9,2x10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup> UFC/mL*
Capacidad antioxidante	mg EAA/L <sup>&amp;</sup> mg EEG/L <sup>^</sup>	17,5 19,1	No es requisito

\*Requisito según la Norma NTE INEN 2395:2011 - Leches Fermentadas. Requisitos. <sup>&</sup>EAA = Equivalente de ácido ascórbico. <sup>^</sup>EEG = Equivalente de ácido gálico.

## DISCUSIÓN

La elaboración de bebidas fermentadas como la Kombucha, establece etapas críticas y condiciones específicas para el óptimo desarrollo de los procesos críticos como la cocción y fermentación, dichos procesos realizados en la presente investigación son similares a las presentadas por Laureys et al. , (2) y Vargas (20), quien utilizó condiciones aeróbicas a una temperatura de 20 °C durante 12 días en la etapa de fermentación de la Kombucha. Además, algunas etapas y condiciones también son similares a las desarrolladas por Lescano (21) y Mousavi et al. (22), quienes obtuvieron una bebida de Kombucha mediante la infusión de 3 g de té negro y 3 g de té verde en 400 mL de agua durante 20 minutos, y realizó la fermentación durante siete días en condiciones aeróbicas a una temperatura de 25 °C.

En cuanto a los resultados obtenidos en el parámetro físico químico del T3, referente al pH (2,66), contenido alcohólico (<0,05 % (V/V)) y azúcares totales (38,90 g/L), muestran un grado de similitud con los resultados obtenidos por Laureys et al. (2) y Morales (23) quienes elaboraron y optimizaron una bebida de té negro utilizando Manchurian fungus (Kombucha). En su estudio, se encontró un pH de 3,17, un contenido alcohólico inferior al 0,05 % (V/V) y un contenido de azúcares totales de 72,7 g/L, valor notablemente más alto que el encontrado en la presente investigación. Estas diferencias pueden explicarse por la variación en las formulaciones empleadas en estos estudios. Por ejemplo, Morales (23) empleó un rango de 1,2 a 2,5 % de inóculo, una concentración de té negro de 0,06 a 0,25 %, una cantidad de sacarosa de hasta 17,11 % y un tiempo de fermentación de 7 a 15 días, todos estos valores difieren de los utilizados en la presente investigación. Específicamente, al comparar la cantidad de sacarosa utilizada en la presente investigación con el estudio de Morales (23) se evidencia una diferencia notable. En el tratamiento T3 analizado en este estudio, se empleó un 10 % de sacarosa, valor que se encuentra por debajo de lo reportado por Morales (23) en su formulación. Esta discrepancia en los resultados puede explicarse según lo mencionado por Kumar y Joshi (24), donde las diferencias en las propiedades fisicoquímicas de productos similares pueden atribuirse a las características del proceso de producción y las condiciones empleadas en cada etapa, como la formulación de ingredientes y sus cantidades, la concentración y tipo de inóculo utilizado, la temperatura y el tiempo de fermentación, entre otros factores.

Por otra parte, los resultados positivos obtenidos del análisis microbiológico al mismo tratamiento cumplen con los requisitos establecidos por la norma de referencia y la Norma DUS 2037:2018, la cual establece un contenido máximo de  $1 \times 10^2$  UFC/mL para microorganismos aerobios mesófilos, un valor inferior a 3 NMP/mL para E. coli, una presencia inferior a  $1 \times 10^0$  UFC/mL para S. aureus, la ausencia de Salmonella y un valor máximo de  $1 \times 10^2$  UP/mL para mohos y levaduras (25). Lo cual, garantiza la inocuidad del producto elaborado.

En relación a la determinación de la cantidad de microorganismos probióticos viables y la actividad antioxidante utilizando el método DPPH en la bebida de Kombucha que obtuvo la mayor aceptación sensorial, para la capacidad antioxidante los valores obtenidos se expresaron como IC50. El IC50 es un indicador cuantitativo de la potencia de una sustancia para inhibir el 50 % de un proceso biológico o componente biológico (26).

En función a los resultados obtenidos en la capacidad antioxidante medida como  $IC_{50}$ , difieren significativamente de los obtenidos por Gramza-Michalowska, Kulczynski, Xindi y Gumienna (27) quienes reportaron valores de 115 mg EAA/L y 105 mg EAA/L para la infusión de té negro sin fermentar y la infusión de té negro fermentado con *Manchurian fungus* (Kombucha), respectivamente. Estos estudios buscaban analizar la interacción e incidencia de la fermentación en el potencial antioxidante. Es importante destacar que cuanto menor sea el valor de  $IC_{50}$  de una molécula, mayor será su capacidad para ceder un electrón al radical libre, lo que indica una mayor capacidad antioxidante (28). En este caso, los resultados de la presente investigación muestran una mayor capacidad antioxidante en comparación con los hallazgos previos de Gramza-Michalowska, Kulczynski, Xindi y Gumienna (27). La diferencia observada en la capacidad antioxidante entre los resultados de la presente investigación y los reportados por Gramza-Michalowska, Kulczynski, Xindi y Gumienna (27) podría atribuirse a varios factores. Uno de ellos es la incorporación de los cubos de Jackfruit en la bebida, ya que esta fruta se caracteriza por su notable capacidad antioxidante debido a su composición química rica en constituyentes con propiedades antioxidantes, como se ha demostrado en estudios previos (29). Además, la cantidad de hojas de té negro utilizada en la elaboración de las bebidas también puede influir en el contenido de compuestos antioxidantes (30). En la presente investigación, se utilizó una relación de 500 g de hojas por cada litro de agua, mientras que en el estudio de Gramza-Michalowska, Kulczynski, Xindi (27) emplearon 4 g de hojas de té negro por cada litro de agua. Esta diferencia en la proporción de hojas de té negro puede afectar la capacidad antioxidante de la bebida. Esta idea encuentra respaldo en lo mencionado por Pokorna et al. (31) quienes destacan que la actividad antioxidante está relacionada con la presencia de compuestos fenólicos en la matriz alimentaria, y que la cantidad y tipo de estos compuestos pueden verse afectados por diversos factores.

La cantidad de microorganismos probióticos obtenidos en el tratamiento T3 fue de  $9,2 \times 10^4$  UFC/mL, valor que se encuentra por debajo de lo establecido en la norma NTE INEN 2395 para leches fermentadas (18), que establece un mínimo de  $10^6$  UFC/mL. De manera similar, otros estudios realizados por autores como Rice y O'Sullivan (32) y Nazzaro et al. (32) indican que los alimentos con propiedades probióticas deben contener entre  $10^6$  y  $10^9$  UFC/mL de microorganismos viables. Rango que refleja que el consumo de este producto representa un potencial beneficio para la salud gastrointestinal, sin embargo, debido al resultado determinado microbiológicamente y bajo normativas nacionales, no puede ser comercializado como un producto denominado prebiótico. Según las múltiples referencias mencionadas. En relación a esto, se ha observado que el número de microorganismos probióticos en la Kombucha tiende a disminuir a medida que pasa el tiempo luego de la fermentación. Un estudio realizado por Fu, Yan, Cao, Xie y Lin (34) encontró que en el día cero, justo después de la fermentación, se detectaron  $2,49 \times 10^7$  UFC/mL de microorganismos probióticos, mientras que en el día 14 de almacenamiento refrigerado a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , este número disminuyó a  $1,0 \times 10^5$  UFC/mL, un valor similar al encontrado en la presente investigación ( $9,2 \times 10^4$  UFC/mL) en el día 10 de almacenamiento. Dichos resultados reflejan una relación directamente proporcional al método de fermentación, ya que, durante la fermentación, se producen varios ácidos orgánicos, como el láctico, acético y glucónico, que contribuyen al aumento de la acidez de la bebida, así como al tiempo de almacenamiento, lo que contribuye al aumento de la acidez del producto y disminuye

significativamente la cantidad de microorganismos probióticos viables. Esta característica ha sido previamente reportada por Sreeramulu, Zhu y Knol (35), quienes observaron que el pH inicial de su bebida de Kombucha varió de 5.0 a 2.5 después de la fermentación. Como explican Tripathi y Giri (36) los bajos valores de pH restringen el crecimiento y la estabilidad de los microorganismos probióticos. Asimismo, componentes como el oxígeno diatómico representan un elemento adicional que influye de forma adversa en la proliferación y viabilidad de los microorganismos probióticos, particularmente durante el periodo de almacenamiento de los alimentos. Esta afirmación está respaldada por lo señalado por Sahadeva et al. (37), quienes señalan que los microorganismos probióticos pueden tolerar valores de pH cercanos a 3.0, pero su número disminuye cuando se exponen a pH más bajos.

## CONCLUSIONES

Se llevaron a cabo tres tratamientos de Kombucha para evaluar la aceptación sensorial y determinar la calidad fisicoquímica, microbiológica y funcional del producto. Estableciendo mediante aceptabilidad sensorial a la formulación 3, destacándose por sus características organolépticas de olor, color, sabor y consistencia.

Los análisis fisicoquímicos confirmaron un pH de 2,66, un contenido alcohólico menor al 0,5% (V/V) y 38,90 g/L de azúcares totales, cumpliendo con la norma DUS 2037:2018 para Kombucha. Asimismo, los parámetros microbiológicos, incluyendo mesófilos aerobios, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* y mohos/levaduras, estuvieron dentro de los límites normativos establecidos. Aunque el recuento de bacterias probióticas viables fue bajo debido a la acidez característica de la Kombucha, el producto ofrece beneficios probióticos comparables a otras bebidas comerciales que carecen de este valor agregado.

Finalmente, el análisis de actividad antioxidante mediante el método DPPH evidenció un alto potencial antioxidante (IC<sub>50</sub> de 17,5 mg EAA/mL y 19,1 mg EAG/mL), resaltando el valor funcional del producto y su capacidad para aportar beneficios adicionales al consumidor. Estos resultados posicionan a la Kombucha desarrollada como una bebida con atributos sensoriales, funcionales y de calidad que cumplen con los estándares normativos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Santosa, S., Farnworth, E., & Jones, P. (2006). Probiotics and Their Potential Health Claims. *Nutrition Reviews*, 64(6), 265-274. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2006.tb00209.x>
2. Laureys, D., Britton, S. J., & De Clippeleer, J. (2020). Kombucha tea fermentation: A review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 78(3), 165-174.
3. Coelho, R. M., De Almeida, A., Do Amaral, R., Da Mota, R., & De Sousa, P. (2020). Kombucha. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 22, 100272.
4. Ballesteros, M., & González, E. (2018). Papel de los prebióticos y los probióticos en la funcionalidad de la microbiota del paciente con nutrición enteral. *Nutrición Hospitalaria*, 35(2), 18-26. Obtenido de <http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v35nspe2/1699-5198-nh-35-nspe2-00018.pdf>

5. 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.
6. González Tellez, S., Olivares, D., Espinoza, R., & Ruiz, R. (2018). Bebidas fermentadas nutraceuticas elaboradas a partir del hongo Kombucha y su uso. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 3, 338-343. Obtenido de <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume3/4/4/56.pdf>
7. Fuentes, L., & Acevedo, S. (2015). Alimentos funcionales: impacto y reto para el desarrollo y bienestar de la sociedad colombiana. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 13(2), 140-149. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/bs>
8. Soares, M. G., De Lima, M., & Schmidt, V. C. (2021). Technological aspects of kombucha, its applications and the symbiotic culture (SCOBY), and extraction of compounds of interest: A literature review. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 539-550.
9. Palmay-Paredes, J., Paz-Yépez, C., Medina-Galarza, G., Guerra, R., Campuzano, A., & Hernandez, C. (2023). Training of A sensory panel and its correlation with instrumental methods: Texture of a pseudo plastic. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 11(3), 1374–1385. doi:<https://doi.org/10.12944/crnfsj.11.3.36>
10. NTE INEN 340. (2016). Bebidas alcohólicas determinación del contenido de alcohol etílico método del alcoholímetro de vidrio *Norma Técnica Ecuatoriana*. Obtenido de [https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\\_inen\\_340-2.pdf](https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_340-2.pdf)
11. NTE INEN 358-04. (1978). Bebidas alcohólicas: Determinación de azúcares totales por inversión. *Norma Técnica Ecuatoriana*. Obtenido de [https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\\_inen\\_358.pdf](https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_358.pdf)
12. NTE INEN 1529-7 . (1990). Determinación de microorganismos coliformes por la técnica de recuento en placa. *Norma Técnica Ecuatoriana*. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-7.pdf>
13. NTE INEN 1529-8. (2016). Control microbiológico de los alimentos. Detección y recuento de escherichia coli presuntiva por la técnica del número más probable. *Norma Técnica Ecuatoriana*. Obtenido de [https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\\_inen\\_1529-8-1.pdf](https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1529-8-1.pdf)
14. NTE INEN 1529-10. (2013). Control microbiológico de los alimentos. Mohos y levaduras viables. Recuentos en placa por siembra en profundidad. *Norma Técnica Ecuatoriana*. Obtenido de [https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\\_inen\\_1529-10-1.pdf](https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1529-10-1.pdf)
15. NTE INEN 1529-14. (2013). *Control microbiológico de los alimentos. Staphylococcus aureus. Recuento en placa de siembra por extensión en superficie*. Normativa Técnica Ecuatoriana. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-14-1R.pdf>
16. NTE INEN 1529-15. (2013). Control microbiológico de los alimentos. Salmonella: método de detección. *Norma Técnica Ecuatoriana*. Obtenido de [https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\\_inen\\_1529-15-1.pdf](https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1529-15-1.pdf)
17. Obando, M., Brito, C., & Baez, L. (2010). Viabilidad de los microorganismos probióticos lactobacillus casei 01, lactobacillus acidophilus la-5, bifidobacterium bb12 durante el almacenamiento de queso cottage. *Vitae*, 17(2), 141-148. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169815396005.pdf>

18. Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J., & Čanadanović-Brunet, J. M. (2011). Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. *Food chemistry*, 127(4), 1727-1731.
19. NTE INEN 2395. (2011). *Leches fermentados: Requisitos*. Normativa Técnica Ecuatoriana. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte-inen-2395-2r.pdf>
20. Vargas, F. (2011). Elaboración de una bebida refrescante fermentando la simbiosis kombucha con el objeto de mejorar la calidad de vida de los consumidores de bebidas no alcohólicas. (Tesis de pregrado). *Universidad Técnica de Ambato*. Obtenido de <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/1759/1/SBQ5%20Ref3399.pdf>
21. Lescano, J. A. (2015). Características fisicoquímicas y capacidad antioxidante de Kombucha (Tesis de pregrado). Obtenido de <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/8783/Lescano%20Daniel.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
22. Mousavi, S. M., Hashemi, S. A., Zarei, M., Gholami, A., Lai, C. W., Chiang, W. H., . . . Mazraedoost, S. (2020). Recent progress in chemical composition, production, and pharmaceutical effects of kombucha beverage: A complementary and alternative medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. doi:<https://doi.org/10.1155/2020/4397543>
23. Morales, L. (2014). Desarrollo, elaboración y optimización bromatológica de una bebida de té negro fermentada a base de manchurian fungus (kombucha) y evaluación de su actividad como potencial alimento funcional. (Tesis de pregrado). *Escuela Superior Politécnica de Chimborazo*. Obtenido de <http://dspace.espe.edu.ec/bitstream/123456789/3422/1/56T00441.pdf>
24. Kumar, V., & Joshi, V. K. (2016). Kombucha: Technology, microbiology, production, composition and therapeutic value. *International journal of food and fermentation technology*, 6(1), 13. Obtenido de [https://www.researchgate.net/profile/Vikas\\_Kumar91/publication/309632876\\_Kombucha\\_Technology\\_Microbiology\\_Production\\_Composition\\_and\\_Therapeutic\\_Value/links/581ab50b08aed2439386c9f5.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Vikas_Kumar91/publication/309632876_Kombucha_Technology_Microbiology_Production_Composition_and_Therapeutic_Value/links/581ab50b08aed2439386c9f5.pdf)
25. DUS 2037. (2018). *Kombucha - specification: Requirements and methods of sampling and test for Kombucha drinks*. [https://members.wto.org/crnattachments/2018/SPS/UGA/18\\_5342\\_00\\_e.pdf](https://members.wto.org/crnattachments/2018/SPS/UGA/18_5342_00_e.pdf): Draft Uganda Standard.
26. Hoetelmans, R. (2011). Pharmacology of Antiretroviral drugs. *International Medical Press*. doi:<https://doi.org/10.1177/135965359900403S01>
27. Gramza-Michałowska, A., Kulczynski, B., Xindi, Y., & Gumienna, M. (2016). Research on the effect of culture time on the kombucha tea beverage's antiradical capacity and sensory value. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 15(4). Obtenido de [https://www.food.actapol.net/pub/10\\_4\\_2016.pdf](https://www.food.actapol.net/pub/10_4_2016.pdf)
28. Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. P., & Taillandier, P. (2018). Understanding kombucha tea fermentation: a review. *Journal of food science*, 83(3), 580-588. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14068>.
29. Ramos, E., & Udeo, A. (2019). Polifenoles totales y actividad antioxidante del extracto acuoso y metanólico de la pulpa de jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam). (Tesis de pregrado). *Universidad de Guayaquil*, 454-460. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/43778>

30. Rodríguez, M. (2017). Evaluación del efecto antimicrobiano y antioxidante de las especias: culantro de coyote, (*Eryngium foetidum*), jengibre (*Zingiber officinale*) y orégano (*Origanum vulgare* L.) para ser usados como una alternativa natural en la elaboración del chorizo cocido. (Tesis de pregrado). Universidad de Costa Rica. Obtenido de <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/xmlui/handle/123456789/4343>
31. Pokorna, J., Venskutonis, P. R., Kraujalyte, V., Kraujalis, P., Dvořák, P., Tremlova, B., & Ošťádalová, M. (2015). Comparison of different methods of antioxidant activity evaluation of green and roast *C. Arabica* and *C. Robus coffe* beans. *Acta Alimentaria*, 44(3), 454-460. Obtenido de <http://real.mtak.hu/36170/1/066.2015.44.0017.pdf>
32. Rice, B. T., & O'Sullivan, T. (2018). *Dairy Products*. Basilea, Suiza: MDPI Publications. Obtenido de [https://mdpires.com/bookfiles/book/1041/Dairy\\_Products.pdf?v=1736906476](https://mdpires.com/bookfiles/book/1041/Dairy_Products.pdf?v=1736906476)
33. Nazzaro, F., Fratianni, F., Nicolaus, B., Poli, A., & Orlando, P. (2012). The prebiotic source influences the growth, biochemical features and survival under simulated gastrointestinal conditions of the probiotic *Lactobacillus acidophilus*. *Anaerobe*, 18(3), 280-285. Obtenido de [https://www.academia.edu/download/45091104/The\\_prebiotic\\_source\\_influences\\_the\\_grow20160426-29528-6zlpwd.pdf](https://www.academia.edu/download/45091104/The_prebiotic_source_influences_the_grow20160426-29528-6zlpwd.pdf)
34. Fu, C., Yan, F., Cao, Z., Xie, F., & Lin, J. (2014). Antioxidant activities of kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotics during storage. *Food Science and Technology*, 34, 123-126. doi:<https://doi.org/10.1590/S0101-20612014005000012>
35. Sreeramulu, G., Zhu, Y., & Knol, W. (2001). Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2589-2594. Obtenido de <https://research.kombuchabrewers.org/wp-content/uploads/kk-research-files/kombucha-fermentation-and-its-antimicrobial-activity.pdf>
36. Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9, 225-241. Obtenido de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1756464614001716>. *Journal of Functional Foods*, 9, 225-241. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1756464614001716>
37. Sahadeva, R. P., Leong, S. F., Chua, K. H., Tan, C. H., Chan, H. Y., Tong, E. V., & Chan, H. K. (2011). Survival of commercial probiotic strains to pH and bile. *International Food Research Journal*, 18(4), 1515-1522. Obtenido de [http://www.ifrj.upm.edu.my/18%20\(04\)%202011/\(44\)IFRJ-2011-285](http://www.ifrj.upm.edu.my/18%20(04)%202011/(44)IFRJ-2011-285)