

## Efecto de la concentración de dextrosa en la producción de películas de celulosa microbiana a partir de Kombucha de té verde

M.Z. Treviño-Garza<sup>1</sup>, B.A. Rodríguez-Romero<sup>2</sup>, J.A. Vidales-Contreras<sup>2</sup>, J.G. Báez-González<sup>1</sup>, J.M. Márquez-Reyes<sup>2\*</sup>

**1** Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Alimentos. **2** Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, Laboratorio de Remediación Ambiental y análisis de suelos, plantas y aguas. [jmmarquez23@gmail.com](mailto:jmmarquez23@gmail.com) [julia.marquezrzs@uanl.edu.mx](mailto:julia.marquezrzs@uanl.edu.mx)

**RESUMEN:** La Kombucha es una bebida fermentada producida a partir de té, azúcar y un consorcio de microorganismos que incluyen a bacterias y levaduras. Adicional a la fermentación se genera una película de celulosa bacteriana (PCB), ésta se ha empleado como ingrediente en alimentos y en la formulación de empaques. La producción de la PCB depende de la fuente de carbono empleada en la fermentación. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la concentración de dextrosa en la generación de CB obtenida a partir de té de Kombucha. Las variables de estudio fueron: dextrosa (28, 55, 110 y 138 g L<sup>-1</sup>). Las variables respuesta fueron: en la PCB, color, rendimiento (peso); en el té verde de Kombucha, % ácido acético (%AA), pH y sólidos solubles (SS). Se observaron diferencias significativas para a\*, b\*, c\* y h, peso fresco, %AA y SS. La concentración que presentó los mayores resultados en rendimiento (peso fresco) fue 55 g L<sup>-1</sup>, además de presentar tonalidades menos amarillas y rojas que las demás muestras analizadas. El %AA y los SS aumentaron conforme aumentaba la dextrosa; señalando que las bacterias al tener disponible una mayor cantidad de fuente de carbono elaboraron en mayores proporciones AA.

**Palabras clave:** Celulosa microbiana, dextrosa y Kombucha.

**ABSTRACT:** Kombucha is a fermented beverage produced from tea, sugar and a consortium of microorganisms that include bacteria and yeasts. In addition to the fermentation a bacterial cellulose film (BCF) is generated, which has been used as an ingredient in food and in the formulation of packaging. The production of BCF depends on the carbon source used in the fermentation. The objective of this study was to evaluate the effect of dextrose concentration on BCF generation obtained from Kombucha tea. The variables studied were: dextrose (28, 55, 110 and 138 g L<sup>-1</sup>). The response variables were: in the BCF, color, yield (weight); in green tea from Kombucha, % acetic acid (% AA), pH and soluble solids (SS). Significant differences were observed for a\*, b\*, C\* and h, fresh weight, % AA and SS. The concentration that presented the highest results in yield (fresh weight) was 55 g L<sup>-1</sup>, in addition to presenting less yellow and reddish tones compared to the other samples analyzed. %AA and SS increased as dextrose increased; noting that bacteria having a greater amount of available carbon source produced AA in greater proportion.

**Keywords:** Microbial cellulose, dextrose and Kombucha.

**Área:** Microbiología y biotecnología

### INTRODUCCIÓN

La “Kombucha” es una bebida no-alcohólica fermentada elaborada a partir de té (generalmente de té negro o verde) y azúcar, con cultivares simbióticos de bacterias y levaduras (SCOBY por sus siglas en inglés) (Kapp y Sumner, 2019). Es originaria de Asia y ha ganado popularidad en América en las últimas décadas debido a que presenta algunos efectos beneficiosos a la salud. Se ha reportado que la bebida posee propiedades antimicrobianas, antidiabéticas, anticancerígenas, entre otras propiedades (Chacravorty *et al.*, 2016). Adicionalmente, genera una película de celulosa bacteriana (PCB), la PCB es un polisacárido extracelular de moléculas de glucosa unidas a través de enlaces glucosídico  $\beta$ -1,4, esta es elaborada por microorganismos. Posee mayor cristalinidad y pureza que la celulosa elaborada por las plantas. Existen diversos microorganismos que generan CB, sin embargo, la producción difiere entre especies microbianas, siendo el género *Komagataeibacter* (encontrado en el té de Kombucha)

uno de los cuales genera mayor cantidad del polisacárido ( $2.5 \text{ g L}^{-1}$  en comparación con otros géneros bacterianos) (Li *et al.*, 2018).

Otro de los factores a considerar en la generación de la PCB es la fuente de carbono. Le *et al.*, (2018) reportaron diferencias en la generación de PCB al emplear *Komagataeibacter hansenii* JR-02 aislado de té de Kombucha y diferentes fuentes de carbono (glucosa, dextrosa, maltosa, sacarosa, lactosa, manitol, glicerol y jarabe de maltosa); los mejores resultados se obtuvieron al emplear glucosa, dextrosa y glicerol (alrededor de  $2 \text{ g L}^{-1}$ ).

La PCB se ha empleado como biomaterial en el campo médico, en instrumentos electrónicos y como ingrediente alimenticio, adicionalmente se ha empleado como parte de la formulación de empaques biodegradables; los empaques son de gran importancia en la protección y conservación de los alimentos (Esa *et al.*, 2014). En la actualidad la generación de empaques con material biodegradables está creciendo de manera acelerada, lo que sugiere que la producción a gran escala de estos insumos se incrementará de la misma forma.

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar la concentración de dextrosa como fuente de carbono en la producción de celulosa bacteriana empleando Kombucha obtenida a partir de té verde. Se determinaron parámetros de color y rendimiento (peso fresco y seco) en la PCB obtenida de la fermentación de té verde, y adicionalmente se determinó el contenido de ácido acético, pH y sólidos solubles en el fermentado.

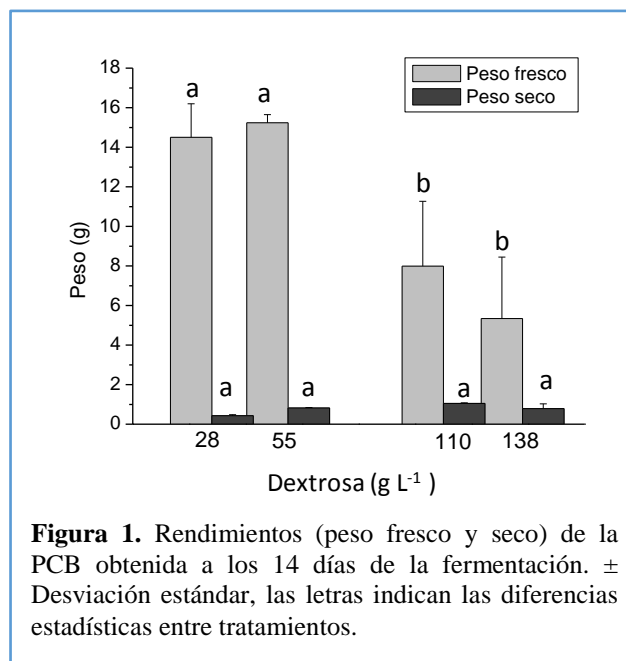
### MATERIALES Y MÉTODOS

Para la elaboración de la Kombucha madre se prepararon infusiones de té verde con  $110 \text{ g L}^{-1}$  de sacarosa y se inocularon con un trozo del SCOBY. La fermentación se dejó por 3 semanas y a partir de ese líquido fermentado se tomaron 5 mL como inóculo inicial para el resto de los experimentos. Los experimentos se establecieron en un período de 14 días de fermentación en recipientes de vidrio con un volumen de infusión de té verde de 60 mL. Se emplearon distintas concentraciones de dextrosa ( $28, 55, 110$  y  $138 \text{ g L}^{-1}$ ) con cuatro repeticiones respectivamente. Los recipientes fueron tapados y protegidos de la luz a temperatura ambiente. Al término del experimento se recuperó la PCB, se le determinó el rendimiento (peso fresco y seco; gravimétrico) y el color utilizando el sistema CEILab (Chin Spec portable model HP-2132). Mientras al líquido fermentado se le determinó el pH, se cuantificó el contenido de sólidos solubles (SS; refractómetro Abbemat 300, Anton Paar) y el porcentaje de ácido acético (%AA; titulación con NaOH 1N). Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) seguido por un análisis de comparación de medias mediante una prueba de Tukey, con un nivel de significancia de 0.05.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se observan los rendimientos de las PCB generadas en los 14 días de fermentación. Observándose que, a menores concentraciones de dextrosa ( $28$  y  $75 \text{ g L}^{-1}$ ) es mayor el rendimiento en peso fresco ( $p < 0.05$ ;  $14.50 - 15.24 \text{ g}$ ) mientras que el peso seco de todos los tratamientos es similar ( $0.43 - 1.05 \text{ g}$ ). Estos resultados concuerdan con lo reportado en estudios previos (AL-Kalifawi y Hassan, 2014), donde refieren que el uso de altos contenidos de azúcar ocasiona una disminución en la producción de celulosa; este efecto se atribuye a que cuando existe una cantidad sustancial de azúcar en el medio se producen más productos metabólicos que conducen a la inhibición del producto. De acuerdo a lo reportado por Goh *et al.*, (2012) otra posible explicación de este efecto es la desigualdad en las tasas de transporte y las tasas de uso de los nutrientes, ya que se piensa que la tasa de eliminación de sustancias potencialmente dañinas debe equilibrar la producción de celulosa bacteriana. En la Tabla 1 se muestran los resultados del análisis de color de las PCB generadas a los 14 días de fermentación. En general, se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en los parámetros de color entre los tratamientos. Las PCB presentaron una luminosidad intermedia con valores de  $58.3 - 63.8$ , siendo los discos más oscuros los obtenidos del medio con  $138 \text{ mg L}^{-1}$  de dextrosa. En relación con las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$ , valores similares fueron encontrados en las muestras con  $28, 110$  y  $138 \text{ mg L}^{-1}$  de dextrosa, indicando tonalidades rojas-amarillas. Por otro lado, las muestras de PCB obtenidas del

fermentado con 55 g L<sup>-1</sup> presentaron las tonalidades menos amarillas y rojas, con valores de 12.8 y 38.1 en a\* y b\*, respectivamente, así como también presentaron los valores más altos de cromaticidad y en el ángulo de tonalidad (40.3 y 71.5, respectivamente). En general, las características de color de las PCB están asociadas al medio utilizado para la producción de la película; el caldo de té verde presenta coloraciones más claras respecto a PCB generadas en té negro (tonalidad marrón; AL-Kalifawi y Hassan, 2014). Por otro lado, las tonalidades más claras encontradas en el medio con 55 g L<sup>-1</sup> de dextrosa pueden estar asociadas a los cambios que sufren los polifenoles durante el desarrollo microbiano debido a las enzimas liberadas por las bacterias y las levaduras en el medio ambiente ácido durante la producción de celulosa (Jayabalan *et al.*, 2014).



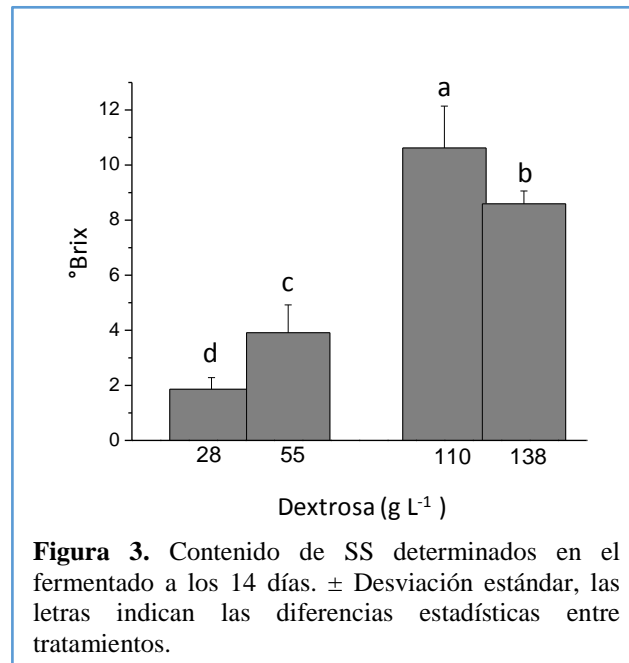
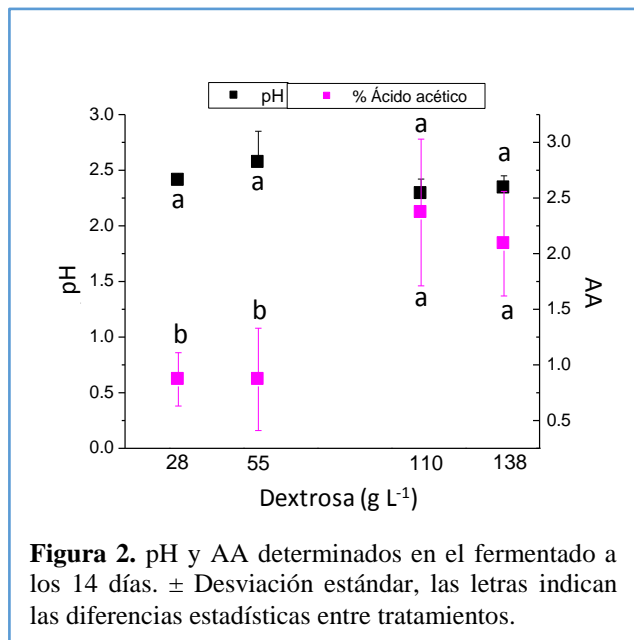
Dextrosa (g L <sup>-1</sup> )	L*	a*	b*	C*	h
28	59.2±4.5 <sup>a</sup>	35.3±11.7 <sup>a</sup>	60.1±15.6 <sup>a</sup>	26.7±15 <sup>b</sup>	48.3±11.1 <sup>b</sup>
55	62.4±4.4 <sup>a</sup>	12.8±2.5 <sup>b</sup>	38.1±3.1 <sup>b</sup>	40.3±3.7 <sup>a</sup>	71.5±2.2 <sup>a</sup>
110	63.8±8.3 <sup>a</sup>	32.5±2.9 <sup>a</sup>	73.4±6.4 <sup>a</sup>	9.9±4.3 <sup>c</sup>	31.9±2.4 <sup>c</sup>
138	58.3±8.5 <sup>a</sup>	33.1±5.1 <sup>a</sup>	71.2±8.5 <sup>a</sup>	9.8±3.2 <sup>c</sup>	30.0±5.5 <sup>c</sup>

L= luminosidad; a= coordenadas rojo/verde; b=coordenadas amarillo/azul; c=cromaticidad; h= ángulo de tonalidad

Nota: Media ± desviaciones estándar. Las letras indican la diferencia entre los tratamientos.

Por otro lado, en la Figura 2 se observa el comportamiento del pH y el %AA en el fermentado. Observándose que, a mayor concentración de dextrosa, se presentó un pH ligeramente menor (2.29 - 2.34; 110 y 138 g L<sup>-1</sup>) y una mayor acidez (2.09 - 2.37; 110 y 138 g L<sup>-1</sup>). Este efecto puede ser atribuido a la producción de AA durante el desarrollo del consorcio microbiano simbiótico, compuesto principalmente por bacterias ácido-acéticas y levaduras osmofílicas (Gaggia *et al.*, 2019). Valores superiores en el contenido de AA han sido reportados en fermentados de kombucha de té verde con el mismo tiempo de fermentación (4.22%; Gaggia *et al.*, 2019); las diferencias detectadas pueden estar correlacionadas con la abundancia de las cepas productoras del ácido. En la Figura 3 se observa que, al incrementarse la concentración de dextrosa, se incrementa el contenido de SS en el medio. Los valores de SS disminuyeron ligeramente para el día 14 de fermentación (1.86 - 10.62 °Brix), respecto a su

valor inicial (3.02 -12.27 °Brix para 28 y 138 g L<sup>-1</sup>, respectivamente, datos no mostrados) indicando que los microorganismos no consumieron la fuente de carbono en su totalidad; esta fuente es empleada en la producción de AA y del subproducto PCB. Morales *et al.*, (2014) refieren que la oxigenación en el medio de cultivo influye en el contenido de SS puesto que el oxígeno inhibe la fermentación anaerobia; este efecto influye en la disminución de la cantidad de azúcar en el sistema.



## CONCLUSIONES

Se lograron obtener PCB a partir de Kombucha de té verde con diferentes concentraciones de dextrosa. Se observaron diferencias en las variables de color (a\*, b\*, c\* y h) y en rendimiento (peso fresco) de la PCB, obteniendo los mejores resultados la concentración de dextrosa de 55 g L<sup>-1</sup>. En el fermentado se encontró que al aumentar la concentración de dextrosa se incrementa el contenido de SS, se incrementa la producción de AA y disminuye el pH. En adición, los microorganismos no consumieron la fuente de carbono en su totalidad y se encontraron trazas en el medio; esta fuente es empleada en la producción de AA y del subproducto PCB. En general, la dependencia de la generación de PCB no es lineal al aumento de la concentración de dextrosa las rutas metabólicas enfocadas en la producción de PCB se ven afectadas por el aumento en la fuente de carbono, adicionalmente se favorece la generación de AA.

## BIBLIOGRAFÍA

- AL-Kalifawi E.J., & Hassan I.A. (2014). Factors Influence on the yield of Bacterial Cellulose of Kombucha (Khubdat Humza). Baghdad Science Journal. 11(3), 1420-1428.
- Chacravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biocheical dynamics. International Journal of Food Microbiology. 220, 63-72.
- Esa, F., Tasirin, S.M., & Rahman, N.A. (2014). Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. Agriculture and Agricultural Science Procedia 2, 113-119.
- Gaggia, F., Baffoni, L., Galiano, M., Nielsen, D.S., Jakobsen, R.R., Castro-Mejía, J.S., Bosi, S., Truzzi, F., Musumeci, F., Dinelli, G. & Gioia D.D. (2019). Kombucha Beverage from Green, Black and Rooibos Teas: A Comparative Study Looking at Microbiology, Chemistry and Antioxidant Activity. Nutrients. 11(1), 1-22.
- Goh, W.N., Rosma A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim A.A. & 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.

- Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea—microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 13(4), 538–550.
- Kapp, J.M., and Sumner, W. (2019). Kombucha: a systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Annals of Epidemiology*. 30, 66-70.
- Li, J., Chen, G., Zhang, R., Wu, H., Zeng, W., & Liang, Z. (2018). Production of high crystallinity type-I cellulose from *Komagataeibacter hansenii* JR-02 isolated from Kombucha tea. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 108-118.
- Morales-Chicaiza, L.E. (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 Licenciatura. Riobamba, Ecuador. Disponible: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3918/1/56T00513%20UDCTFC.pdf>. Revisado: 05.Abril.19.