

## **Bebidas fermentadas nutraceuticas elaboradas a partir del hongo Kombucha y su uso potencial en el tratamiento de Síndrome metabólico.**

S.V. González Tellez<sup>1</sup>, D.A. Olivares Vázquez<sup>1</sup>, Espinoza-Raya<sup>2</sup>, R. Ruíz-Durán<sup>1</sup>, R. Gómez-Pliego<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>*Departamento de Ciencias Biológicas Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-Universidad Nacional Autónoma de México, Campo No. 1. Av. 1 de mayo S/N, Colonia, Sta. María Las Torres, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México.*

<sup>2</sup>*C.P. 54740. <sup>4</sup>Laboratorios de Farmacología Conductual, Sección de Estudios de Posgrado e Investigación, Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional, Plan de San Luis y Díaz Mirón s/n, CP.11340, Ciudad de México. \*[ragopli@yahoo.com.mx](mailto:ragopli@yahoo.com.mx).*

### **RESUMEN:**

El hongo Kombucha es un consorcio de microorganismos compuesto por levaduras y bacterias, utilizado para fermentar bebidas hechas de té negro o té verde con azúcar, con propiedades benéficas para la salud por contener antioxidantes, flavanoles, flavonoides, catequinos y polifenoles. Por su contenido de catequinas, posee propiedades anti-inflamatorias y neuroprotectoras; puede ayudar en la regulación del apetito y por su afinidad con los receptores cannabinoides disminuir el dolor y la náusea. Existen reportes que indican que de estas bebidas fermentadas se han aislado microorganismos con características genéticas similares a las cepas probióticas, y que poseen propiedades nutricionales y funcionales mejoradas por la formación de productos bioactivos o biodisponibles. En el presente trabajo se formularon y desarrollaron tres bebidas fermentadas con Kombucha, utilizando como materia prima plantas medicinales y como sustrato sacarosa. Para establecer la metodología estandarizada se determinó el pH, acidez titulable, Brix (°B) y análisis sensorial. Datos preliminares obtenidos indican que por sus propiedades antiinflamatorias pudiera ser usado en el tratamiento de enfermedades derivadas del Síndrome metabólico (SM), tales como la obesidad y Diabetes mellitus tipo 2 (DM2). La innovación de estos productos da pauta a una alternativa para el tratamiento de estas patologías que impactan fuertemente a México.

**Palabras clave:** Kombucha, alimento nutraceutico, diabetes.

### **ABSTRACT:**

Kombucha mushroom is a consortium of microorganisms composed of yeasts and bacteria, which is used to ferment drinks made of black tea or green tea with sugar. It has beneficial properties for health by containing antioxidants, flavanols, flavonoids, catechins and polyphenols. Because of its catechin content, tea has anti-inflammatory and neuroprotective properties; helps to regulate appetite and by its affinity with cannabinoid receptors can decrease pain and nausea, also serving as a tranquilizer. The purpose of this project was to innovate fermented beverages with Kombucha mushroom, using medicinal plants as raw material. For this, it was necessary to standardize the conditions to obtain a quality drink with nutraceutical given properties. To establish the standardized methodology, it was necessary to determine pH, titratable acidity, Brix content and sensory analysis. Considering that Mexico is a country with high rates of diabetes and obesity, the innovation of these products traces a new way for the treatment of these diseases.

**Keywords:** Kombucha, nutraceutical foods, Diabetes.

## INTRODUCCIÓN

Las bebidas y alimentos fermentados son básicos de la dieta humana y se han elaborado y consumido desde el desarrollo de las civilizaciones. La Kombucha es una bebida fermentada originaria de China y obtenida de una infusión de té, tradicionalmente negro o verde, utilizando azúcar como fuente de carbono. El hongo Kombucha es un cultivo simbiótico de bacterias y levaduras llamado *SCOBY* por sus siglas en inglés (*Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast*). A esta bebida también se le conoce como té de Kombucha, datos de la literatura indican que durante el crecimiento de los cultivos de Kombucha, se forma una colonia macroscópica plana en la superficie de la solución del té, incrustadas dentro de una matriz celulósica compuesta de diferentes grupos de bacterias acéticas, *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus* y levaduras que pertenecen al género *Zygosaccharomyces*, *Pichia*, *Brettanomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Sacharomycodes*, *Torulospora* y *Candida* (Sievers, M. et al., 1995). Después de siete a diez días, los cultivos originales 'madre' producen una capa secundaria de crecimiento a menudo llamada 'bebé' y es en este punto donde se inicia la fermentación. Existen evidencias que muestran que bebidas fermentadas con Kombucha, tienen diversas propiedades terapéuticas, (antiinflamatorio, antihipertensivo y anticonvulsivo).

Desde tiempos remotos las infusiones fueron consideradas las bebidas de mayor relevancia en el ámbito mundial, preparar bebidas con hierbas mediante la acción de calor para extraer sus principios activos constituyó un modo de deleite con una bebida fina o un modo de producir un efecto benéfico a la salud. Si bien es cierto que el uso de infusiones de plantas medicinales poseen propiedades benéficas a la salud del huésped también lo es el hecho de que los procesos de fermentación mejoran las propiedades funcionales de los alimentos o bebidas en donde se llevan a cabo, esto, debido a la transformación de sustratos y formación de productos finales bioactivos o biodisponibles, tales como bacteriocinas (las cuales deprimen a la microflora intestinal patógena), ácidos orgánicos (acético, láctico, tartárico, málico y en menor cantidad cítrico), además, durante la fermentación se mejora el sabor, aroma y consistencia de la bebida, y que dependiendo del tipo de té, el contenido y tipo de vitaminas y minerales puede cambiar (O'Brien M. et al., 2003; Marco M. et al., 2017). Por otro lado, considerando reportes emitidos por la Federación Internacional de Diabetes (FID, 2015), que indican que enfermedades crónicas no transmisibles tales como el SM, tradicionalmente caracterizado por la presencia de obesidad central, hiperglicemia, insulinoresistencia, dislipidemia e hipertensión arterial, se asocia a una morbilidad mayor y la DM2, día a día van en aumento; se estima que en nuestro país hay aproximadamente 12 millones de personas con diabetes y que 9 millones de personas son obesas, además se calcula que hay una cifra igual de personas próximas a manifestar la enfermedad y no lo saben (Rodríguez, R., 2015), representando un grave problema de salud no solo en la República Mexicana sino en todo el mundo.

La planta de árnica contiene flavonoides, los cuales presentan características antioxidantes y otros compuestos como la helenalina y el terpeno como el tinol, responsables de sus propiedades anti-inflamatorias y antisépticas, así como las flores son ricas en carotenos (Rodríguez-Chávez, J. et al., 2017). La planta de cúrcuma contiene en su tallo un tipo de polisacárido con actividad inmunológica, arabinosa, glucosa, fructosa y vitamina C, betacarotenos y algunos minerales como calcio, manganeso, cromo, cobalto y bromo (Brado, G. et al., 2017). La planta de cardamomo está compuesta por ácido oleico, linoleico, esteárico; vitaminas como la tiamina, riboflavina, niacina y algunos minerales, potasio, calcio, magnesio, fósforo, hierro, sodio, zinc, cromo y bromo, que son nutrientes esenciales para el cuerpo humano. El clavo contiene eugenol, que presenta propiedades analgésicas y antisépticas.

Islas et al., 2014 y Larsen et al., 2010, reportaron que la inflamación gastrointestinal puede influir en la absorción de la glucosa y de los lípidos y por lo tanto podría estar relacionada con el desarrollo de obesidad, resistencia a la insulina y a DM2.

En el presente trabajo se formularon y desarrollaron tres nuevas bebidas a partir de hierbas con propiedades medicinales, las cuales al ser fermentadas con Kombucha y bacterias lácticas, se espera se potencie su efecto antiinflamatorio y antihipertensivo, y que estas puedan ser consideradas como una alternativa para el control de enfermedades como obesidad y DM2, padecimientos muy comunes y de gran impacto económico en México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Hongo Kombucha.** El hongo Kombucha utilizado fue obtenido de Pachuca, Hidalgo. Se inoculó con 12 g de Scoby con una infusión de un litro de agua con 60 g de sacarosa, 7.2 g de té negro.

*Microscopía.* Para conocer la morfología microscópica del hongo Kombucha se utilizó un microscopio de barrido JEOL JSM- 6010LA, a 19 Kv a una distancia de trabajo de 16 mm y un haz de 26. Barra de 10  $\mu$ m X 1500 A.

*Plantas medicinales.* Se utilizaron tres plantas medicinales diferentes, árnica, cúrcuma y cardamomo, las cuales fueron adquiridas en el mercado de Sonora de la Ciudad de México.

*Preparación de las infusiones.* De las hierbas medicinales se separaron las hojas de los tallos, se lavaron con agua y jabón neutro para retirar cualquier cantidad de tierra o partícula extraña, se desinfectaron por inmersión en una solución de agua clorada a 50 ppm, durante 5 minutos a temperatura ambiente, se escurrieron en un colador y se pesaron 100 g de hierba/L agua. Para seleccionar las concentraciones de hierbas medicinales a la que se elabora la bebida con las mejores características de sabor, aroma, color y consistencia, se realizaron ensayos a diferentes concentraciones (los datos no son mostrados). Finalmente se seleccionaron tres sistemas, con las siguientes concentraciones: Sistema 1, (cardamomo 0.6g/L, cúrcuma 0.25g/L); Sistema 2, (cardamomo y árnica 0.6 g/L); Sistema 3, (cardamomo y árnica 0.6 g/L, clavo 0.05g/L). A cada sistema se le agregaron 30 g de sacarosa, Los sistemas se esterilizaron a 10 lb/in<sup>2</sup> durante 10 minutos e inmediatamente se enfriaron en un baño de hielo a temperatura ambiente, se inocularon con  $12 \pm 0.5$  g del hongo Kombucha en condiciones de esterilidad.

*Fermentación.* La fermentación se realizó durante 4 días a temperatura ambiente y se muestreo cada 24 horas, cuidando que no les diera la luz directa. En cada muestreo se tomaron 50 mL del caldo de fermentación, se midió el pH, la acidez titulable y los Brix. La fermentación se dio por terminada cuando las bebidas presentaban un pH de 3.8-4.0 (El equipo usado para este análisis fue un Potenciómetro marca HANNA, modelo pH 213), y una acidez titulable de 0.3-0.45%, un Brix de 12-13 (esto se realizó con un refractómetro de mano marca Senna, Modelo:8-643). Una vez concluida la fermentación, el Scoby se retiró de los sistemas en condiciones de esterilidad y se colocó en un medio fresco que contenía 30 g de sacarosa (para ser reutilizado). En cuanto a las bebidas, se filtraron con papel filtro de poro mediano para eliminar cualquier resto de Scoby o planta medicinal o cualquier sólido en suspensión que pudiera existir y así poder tener una bebida traslúcida y brillante, posteriormente se pasteurizaron en autoclave 10 lb/in<sup>2</sup> 10 min.

*Análisis Microbiológicos.* Para evaluar la inocuidad de las bebidas se realizaron los análisis microbiológicos establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994 Bienes y servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. Especificaciones nutrimentales y microbiológica.

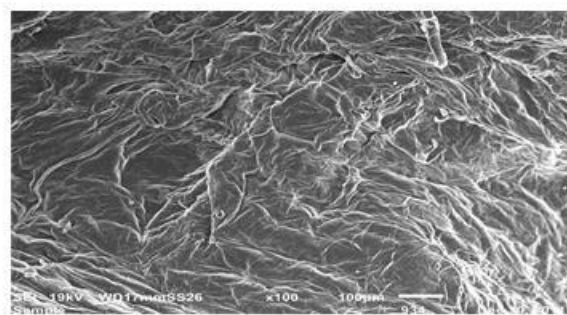
La prueba sensorial fue aplicada a 32 panelistas seleccionados al azar no entrenados de la FESC-1, UNAM, de edades entre 18 a 57 años, la escala de evaluación hedónica fue de 1-7 (donde la máxima puntuación era 7 y la mínima 1). Los aspectos que se evaluaron a las bebidas fueron sabor, aroma, color y consistencia, tomando en cuenta la escala hedónica del valor 1 al 7, donde cada valor hace referencia a las siguientes observaciones: 7: Me gusta mucho; 6: Me gusta moderadamente; 5: Me gusta poco; 4: No me gusta ni me disgusta; 3: Me disgusta poco; 2: Me disgusta moderadamente; 1: Me disgusta mucho. A continuación se ilustran las gráficas de pruebas sensoriales para cada bebida.

*Toxicidad aguda.* El protocolo empleado para determinar la dosis letal 50 (DL<sub>50</sub>) de las tres bebidas, control, sistema 1, sistema 2 y sistema 3, fue el propuesto por el método de Lorke. Para lo cual se emplearon ratones macho de la cepa CF1 con un peso aproximado de 25-30 g y de seis a ocho semanas de edad. Los animales se mantuvieron en un cuarto bajo temperatura regulada de  $22 \pm 2$  °C, humedad relativa de  $50 \pm 10$  % y ciclos de luz/oscuridad de 12 horas cada uno, con agua y alimento *ad libitum*. Se agruparon los ratones en 4 lotes, con una n=5 y posteriormente se privó a los animales de alimento por 12 h (aproximadamente) antes del estudio. Se administraron las bebidas por vía oral y se observaron durante 3 horas continuas y cada 24 horas posteriores a la administración, durante 1 semana.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de toxicidad aguda utilizando como modelo experimental ratones mostraron que las bebidas fermentadas no son tóxicas.

En la **Figura 1** se presenta la morfología del cultivo del hongo Kombucha inmerso en una matriz celulósica. En la **Tabla I**, se presentan los resultados de pH y en la **Tabla II**, los de acidez titulable porcentual a lo largo de las fermentaciones. Como podemos notar, cada fermentación se detuvo al estar próximo el valor de pH 3.8-4.0 y acidez titulable en un calor de 0.30-0.45.



**Figura 1.** Fotografía del hongo Kombucha, tomada por microscopía de barrido JEOL JSM- 6010LA, a 19 Kv a una distancia de trabajo de 17 mm y un haz de 26. Barra de 100  $\mu$ m X 1500 A.

<b>Tabla I.</b> Cambios en el pH a lo largo del proceso de fermentación para cada bebida.			
Tiempo (h)	Cardamomo con árnica	Cardamomo con cúrcuma	Cardamomo, clavo y árnica
0	6.29	6.79	6.30
24	4.80	4.76	4.71
48	4.80	4.78	4.71
72	4.25	3.91	3.98
96	3.78	3.71	3.76

<b>Tabla II.</b> Porcentaje de acidez titulable de cada bebida a lo largo del proceso de fermentación.			
Tiempo (h)	Cardamomo con árnica	Cardamomo con cúrcuma	Cardamomo, clavo y árnica
0	0.025	0.03	0.04
24	0.05	0.09	0.08
48	0.08	0.10	0.11
72	0.20	0.27	0.45
96	0.30	0.29	0.46

<b>Tabla III.</b> Brix de cada bebida a lo largo del proceso de fermentación.			
Tiempo (h)	Cardamomo con árnica	Cardamomo con cúrcuma	Cardamomo, clavo y árnica
0	25.0	25.5	25.2
24	20.0	21.6	20.8
48	18	18.5	17.8
72	14	14.6	14.8
96	12.0	12.5	13.0

Cuando las bebidas alcanzaron estas condiciones, el sabor, aroma y sensación en la boca eran muy agradables. En la **Figura 2** se presentan las bebidas al final de la fermentación. Se recomienda mantenerlas en refrigeración para una mejor conservación.

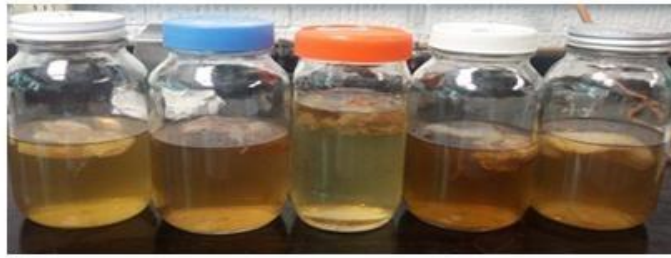
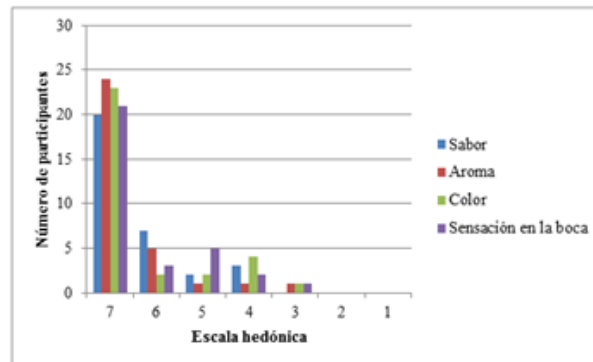
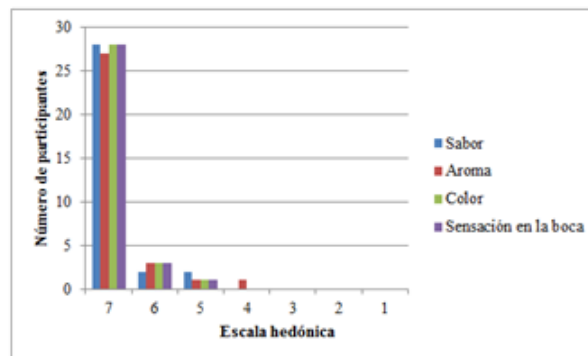


Figura 2. Sistemas durante el proceso de fermentación.

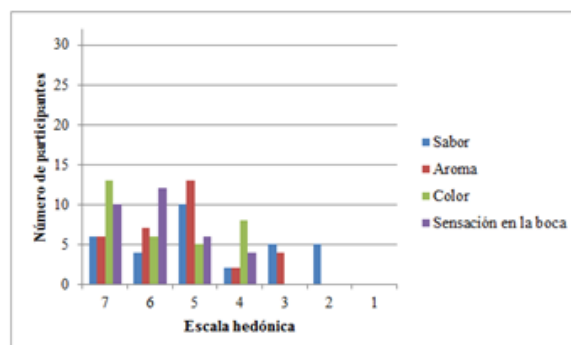
En las Gráficas 1, 2y3 se muestran los resultados de las evaluaciones sensoriales realizadas a cada bebida.



Gráfica 1. Pruebas sensoriales para la bebida sabor cúrcuma con cardamomo.



Gráfica 2. Pruebas sensoriales para la bebida sabor ámica con cardamomo.



Gráfica 3. Pruebas sensoriales para la bebida sabor ámica, cardamomo y clavo.

De acuerdo con los resultados de estas pruebas, la bebida de cardamomo con árnica es la más agradable a los sentidos, obteniendo valores entre 7 y 5 para el sabor, el aroma y el color, cabe señalar que la mayoría calificó con 7 estas características; mientras que solo una persona calificó con una puntuación de 4 al aroma de la bebida (**Gráfica 1**). Los evaluadores comentaron que esta bebida tenía un sabor y un aroma bastante fresco y resaltaron que el aroma era muy bueno. La bebida que obtuvo puntuaciones más bajas fue la de árnica, cardamomo y clavo, los evaluadores señalaron que la bebida tenía un sabor astringente y el aroma a clavo era muy penetrante (**Gráfica 2**). La bebida de cúrcuma y cardamomo también tuvo en su mayoría buenos resultados en la evaluación; sin embargo, los participantes señalaron que presentaba cierto picor al gusto (**Gráfica 3**).

Considerando que los reportes presentados solo consideran trabajos donde utilizan infusiones de té negro y té verde, el hecho de utilizar otro tipo de materia prima representa un avance en el desarrollo de nuevos productos que utilicen hongo Kombucha. Además, estas nuevas infusiones aportan propiedades diferentes a las elaboradas con el té negro y verde; sin embargo, es importante realizar más estudios acerca de los efectos benéficos que estas bebidas confieren en la salud de los consumidores.

**Perspectivas.** Evaluar en un modelo de rata con SM y DM2, el efecto de estas bebidas sobre variables bioquímicas asociadas con estas patologías (peso corporal, presión arterial, perfil glucémico, perfil de lípidos, insulina, leptina, incretinas y adipoleptinas plasmáticas).

## BIBLIOGRAFÍA

- Brado, G., Dias, F., Silva, N., Andreia de Souza, D., Peralta, R., Brugnari, C., Mallman, C., Alves de Abreu, B., Graton, J. & Machinski, M. 2017. Curcuma longa L. essential oil composition, antioxidant effect, and effect on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. *Food Control*, 73, 806-813.
- Dufresne, C. & E. Farnworth 2000. Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Research International*, 33, 409-421.
- Korte G., Dreiseitel A., Schreier P., Oehmke A., Locher S., Geiger S., Heilmann J., Sand P. 2010. Tea catechins' affinity for human cannabinoid receptors. *Phytomedicine* 17.
- Larsen, N., Vogensen F.K., Van den Berg F.W., Nielsen D.S., Andreassen A.S., Pedersen B.K., Al-Soud W.A., Sorensen S.J., Hansen L.H., Jakobsen M. 2010. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLOS One*. Disponible online: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009085>
- Lorke, D. (1983). A new approach to practical acute toxicity testing. *Archives of Toxicology* 54, 275-287.
- Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligne, B., Ganzle, M., Kort, R., Gonca, P., Pihlanto, A. 2017. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Current opinion in Biotechnology*. *Current Opinion in Biotechnology* 44, 94-102.
- O'Brien, M., Roberts, A. y Subak-Sharpe, G. 2003. Nutricéuticos: suplementos nutricionales, vitaminas, minerales, oligoelementos y alimentos curativos. Ed. Robinbook. Págs. 15-34; 53-82; 305-309.
- Rodríguez-Chávez, J. L., Egas, V., Linares, E., Bye, R., Hernández, T., Espinosa-García, F. J & Delgado, G. (2017). Mexican Arnica (*Heterotheca inuloides* Cass. Asteraceae: Astereae): Ethnomedical uses, chemical constituents and biological properties. *Journal of Ethnopharmacology* 195 39-63.
- Rodríguez R. 2015. "En México, Tsunami de diabetes y obesidad". Disponible online: <http://www.eluniversal.com.mx/articulo/nacion/sociedad/2015/10/4/en-mexico-tsunami-de-diabetes-y-obesidad>. Última fecha de consulta: 21 de abril del 2017.
- Shimizu, M., Kubota, M., Tanaka, T., Moriwaki H. 2012. Nutraceutical approach for preventing obesity-related colorectal and liver carcinogenesis. *International Journal of Molecular Sciences* 13(1), 579-95.
- Sievers M., Lanini C., Weber A., Schuler-Schmid U., Teuber M. 1995. Microbiology and Fermentation Balance in a Kombucha Beverage Obtained from a Tea Fungus Fermentation. *Systematic and Applied Microbiology* 18, 590-594.