

## Fermentación de té verde con dextrosa y glucosa como fuentes de carbono para producir películas de celulosa microbiana

A. S. Guerrero-Medina<sup>1</sup>, M. Z. Treviño-Garza<sup>2</sup>, J.G. Báez-González<sup>2</sup>, C. García-Gómez<sup>1</sup>, A. I. Luna-Maldonado<sup>1</sup>, J. M. Márquez-Reyes<sup>1</sup>.

**1** Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León. **2** Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León

[Julia.marquezrys@uanl.edu.mx](mailto:Julia.marquezrys@uanl.edu.mx)

### RESUMEN

La Kombucha es una bebida fermentada producida a partir de té, azúcar y un consorcio de microorganismos los cuales producen una nanopelícula de celulosa (BNC) la cual ha sido utilizada como ingrediente en la formulación de nuevos alimentos y como posible empaque y embalaje. La producción de la BNC depende de la fuente de carbono que se utiliza durante el proceso de la fermentación. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la concentración de dextrosa y glucosa en la generación de BNC obtenida a partir de té de Kombucha. Las variables de estudio fueron: las fuentes de dextrosa y glucosa (50 g/L) y como variables respuesta de la BCN fue el rendimiento (peso) y en el fermentado el % ácido acético (%AA), pH, sólidos solubles (SS), proteínas y demanda química de oxígeno (DQO). El pH, proteínas, °Brix y azúcares disminuyeron durante la fermentación; aumentó la DQO y el rendimiento fue similar entre ambas fuentes de carbono.

**Palabras clave:** Celulosa microbiana, Dextrosa y Glucosa.

### ABSTRACT

Kombucha is a fermented drink produced from tea, sugar and a consortium of microorganisms which produce a cellulose nano-film (BNC) which has been used as an ingredient in the formulation of new foods and as possible packaging. The production of BNC depends on the carbon source that is used during the fermentation process. The objective of this study was to evaluate the effect of dextrose and glucose concentration on the generation of BNC obtained from Kombucha tea. The study variables were: the sources of dextrose and glucose (50 g / L) and as response variables of the BCN was the yield (weight) and in the fermented % acetic acid (% AA), pH, soluble solids (SS), proteins and chemical oxygen demand (COD). The pH, proteins, ° Brix and sugars decreased during fermentation; COD increased and performance was similar between both carbon sources.

**Keywords:** Microbial Cellulose, Dextrose and Glucose.

**Área:** Microbiología y Biotecnología

### INTRODUCCIÓN

En la actualidad se ha comenzado a prestar un mayor interés en el daño ambiental que genera la manufactura de productos utilizados en la vida cotidiana. Esto ha conllevado a que las investigaciones realizadas a lo largo del Siglo XXI estén centradas en impulsar el desarrollo de biomateriales sostenibles obtenidos por fuentes renovables (Sederavičiūtė et al., 2019).

Dentro de las diversas fuentes renovables de las que se tiene conocimiento se encuentra el té de Kombucha. Villarreal-Soto et al. (2019), lo define como “una bebida de origen de Manchuria obtenido a partir de infusiones de té dulces que son fermentados por un mezclado consorcio microbiano compuesto de bacterias y levaduras”, siendo el té negro tradicionalmente utilizado para su preparación; aunque el uso de té verde como fuente alternativa de preparación han comenzado a cobrar buenos resultados con respecto a los beneficios que hacen tan sorprendente a esta bebida (Amarasinghe et al., 2018). Se ha encontrado que esta fermentación tiene la capacidad de formar una estructura polimérica sólida, conocida como celulosa bacteriana; la cual suele encontrarse flotando en la superficie del medio de cultivo (Ashrafi et al., 2018; Villarreal-Soto et al., 2019). Dentro de la producción de celulosa bacteriana, Villarreal-Soto et al. (2019) indican que, “su formación y la cinética de la fermentación pueden verse influenciadas por varios parámetros, como la temperatura, el pH, el oxígeno disuelto, el tipo de azúcares, el tiempo de fermentación y la geometría del recipiente”. Dentro de estos parámetros, Sharma & Bhardwaj (2019) señalan que “el principal obstáculo fiscalmente práctico en la producción de nanocelulosa bacteriana (BNC) de bajo costo a gran escala es la baja tasa de conversión de azúcares presentes en los medios a BNC”; por ende, uno de los principales factores que se debe tratar para la optimización de su producción es el tipo de azúcar a emplear.

En base a lo mencionado anteriormente, el objetivo del presente trabajo se centra en la optimización de la fuente de carbono dentro de la producción de celulosa bacteriana para la obtención de la mayor rendimiento de dicho biomaterial.

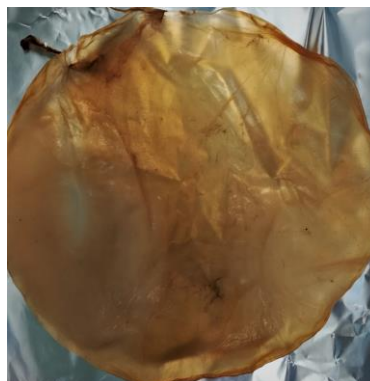
### MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron dos diferentes fuentes de carbono: glucosa y dextrosa. La infusión de la Kombucha madre la cual sirvió de fuente de inóculo para los posteriores experimentos, fue preparada con 3.6 g/L de té verde y 50g/L de cada azúcar más un trozo de BCN y se dejó fermentar por 3 semanas a temperatura ambiente en completa oscuridad. Para los experimentos se utilizaron frascos cilíndricos que contenían 60 mL de la infusión de té verde con 50 g/L de glucosa o dextrosa y 10 % (V/V) del inóculo. Los frascos fueron tapados con gasas y fueron mantenidos dentro de la incubadora microbiológica compacta bajo una temperatura de 25 °C por 15 días. El experimento se estableció con tres replicas para cada fuente de carbono utilizada.

Al inicio y después de haber transcurrido el tiempo de fermentación del experimento, se recuperó la PCB. Se eliminó el exceso de humedad para determinar el rendimiento considerando la diferencia del peso húmedo y el peso seco de manera gravimétrica. Mientras al líquido fermentado se le tomaron distintas alícuotas para realizar la determinación del pH, se cuantificó el contenido de sólidos solubles (SS; refractómetro Abbemat 300, Anton Paar), el porcentaje de ácido acético (%AA; titulación con NaOH 1N) utilizando fenolftaleína como indicador, la concentración de proteínas (método Bradford) y azúcares totales (método H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) con fenol. Cada determinación y cuantificación se realizó por triplicado. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de t-student seguido por un análisis de comparación de medias mediante una prueba de Tukey, con un nivel de significancia de 0.05.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó un decremento significativo ( $p < 0.05$ ) en los valores de pH al final del experimento y los valores fueron similares entre las dos fuentes de carbono evaluadas. La disminución en los valores de pH (2.0) en el medio de cultivo es un indicador de la actividad de los cultivos microbianos de kombucha sobre los sustratos durante el proceso de fermentación (Vita et al, 2020). El contenido de SST presento el mismo comportamiento, un decremento al final pero sin diferencias (3.8 – 3.4) significativas entre las fuentes de carbono. Se han reportado comportamientos similares durante la fermentación lo cual se atribuye al consumo de la fuente de carbono por los microorganismos. (Jakubczyk et al., 2020) De igual manera, la concentración de proteína en el medio disminuyo significativamente ( $p < 0.05$ ), la causa posible puede atribuirse a que puede ser utilizada como fuente de nitrógeno para el crecimiento microbiano (Khosravi et al., 2018).



**Figura 1.** Celulosa microbiana seca producida en la fermentación de té verde en presencia de dextrosa.

El parámetro de acidez total (AT), se incrementó considerablemente para ambos sustratos presentando un mayor porcentaje sobre el consumo de glucosa. El incremento en los valores de la AT se asocia con el metabolismo de consumo de azúcares que generan diversos ácidos orgánicos durante la fermentación (Tu et al., 2019). La demanda química de oxígeno (DQO) aumentó significativamente ( $p < 0.05$ ) en el medio en presencia de dextrosa, debido a una mayor concentración celular en el medio y posiblemente a que al momento de tomar la muestra se pudieron atrapar fragmentos pequeños de celulosa microbiana. Mientras que en presencia de glucosa se mantuvo una concentración similar. Las concentraciones iniciales que se utilizaron para inocular cada fermentación pudieron impactar directamente la respuesta de la DQO durante el experimento.

<b>Tabla 1.</b> Parámetros evaluados al inicio y final de la fermentación de té verde y distintas fuentes de carbono						
Inicio						
Fuente de carbono	pH	° Brix	% Acidez	Proteína (mg/mL)	DQO (mg/L)	Azúcar (mg/L)
Glucosa	3.0±0.01 <sup>aA</sup>	4.9±0.07 <sup>aA</sup>	0.12±0.03 <sup>aB</sup>	335±0.02 <sup>aA</sup>	608 ±30 <sup>aA</sup>	26±0.06 <sup>a</sup>
Dextrosa	3.0±0.04 <sup>aA</sup>	4.7±0.14 <sup>aA</sup>	0.10±0.03 <sup>aB</sup>	352±0.02 <sup>aA</sup>	176±10 <sup>bB</sup>	351±0.59 <sup>a</sup>
Final						
Glucosa	2.2±0.01 <sup>aB</sup>	3.8±0.17 <sup>aB</sup>	1.6±0.03 <sup>aA</sup>	43±0.02 <sup>aB</sup>	544 ± 16 <sup>bB</sup>	LCN
Dextrosa	2.2±0.01 <sup>aB</sup>	3.4±0.35 <sup>aB</sup>	1.2±0.03 <sup>bA</sup>	72±0.02 <sup>aB</sup>	700 ± 56 <sup>aA</sup>	LDN
Nota: Media ± desviación estándar. Las letras indican la diferencia entre los tratamientos. LCN concentración por el límite de cuantificación del equipo						

La concentración de azúcares disminuyó drásticamente al término del experimento ya no fue posible cuantificarla debido a que se encontraba por debajo del límite de cuantificación del método analítico utilizado. Debido al comportamiento observado no hay diferencias significativas entre la afinidad al consumo de ambos sustratos, lo que indica una afinidad alta a ambos sustratos por los microorganismos presentes en el medio de cultivo (Amarasinghe et al., 2018).

<b>Tabla II.</b> Rendimiento y pesos obtenidos de cada fuente de carbono		
Fuente de carbono	Peso seco (g)	Rendimiento (%)
Glucosa	0.67 ± 0.09 <sup>a</sup>	22.37 ± 1.43 <sup>a</sup>
Dextrosa	0.54 ± 0.17 <sup>a</sup>	18 ± 2.81 <sup>a</sup>
Nota: Media ± desviación estándar. Las letras indican la diferencia entre los tratamientos.		

Las películas de celulosa microbiana obtenidas (Figura 1) presentaron una tonalidad amarilla característica que la obtienen por la coloración del medio de cultivo utilizado a base de té verde. Al tacto son de consistencia flexibles, delgadas y ligeramente adhesivas, esta última característica se puede deber a la concentración de azúcares utilizada en la fermentación. Los rendimientos obtenidos fueron similares entre los sustratos, lo que indica que ambos sustratos son adecuados para consumirse por los microorganismos presentes en el medio de cultivo. En fermentaciones con té verde se han reportado rendimientos similares (Nguyen et al., 2008).

## CONCLUSIÓN

El medio de cultivo después de la fermentación disminuye su valor de pH y la concentración de proteína. Sin embargo, los sólidos solubles, porcentaje de acidez y demanda química de oxígeno aumentan con el crecimiento microbiano. La concentración de dextrosa y glucosa disminuye considerablemente al final debido a su consumo por los microorganismos del medio los cuales generan celulosa microbiana. No se encontraron diferencias estadísticas en la utilización de glucosa o dextrosa como fuente de carbono de acuerdo a los rendimientos de celulosa microbiana cuantificados.

## BIBLIOGRAFÍA

- Amarasinghe, H., Weerakkody, N. S., & Waisundara, V. Y. (2018). Evaluation of physicochemical properties and antioxidant activities of kombucha “Tea Fungus” during extended periods of fermentation. *Food Science and Nutrition*, 6(3), 659–665.
- Ashrafi, A., Jokar, M., & Mohammadi Nafchi, A. (2018). Preparation and characterization of biocomposite film based on chitosan and kombucha tea as active food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 108, 444–454.
- Khosravi, S.; Safari, M.; Emam-Djomeh, Z.; Golmakani, M.T. Development of fermented date syrup using Kombucha starter culture. *J. Food Process. Preserv.* 2018, 43, 2, e13872
- Jakubczyk, K.; Ladunska, J.; Kochman, J.; Janda, K. Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. *Antioxidants*. 2020, 9, 5, 447.
- Nguyen, V.T.; Flanagan, B.; Gidley, M. J.; Dykes, G. A. Characterization of cellulose production by a *Gluconacetobacter xylinus* strain from kombucha. *Curr. Microbiol.* 2008, 57, 5, 449.

- Sharma, C., & Bhardwaj, N. K. (2019). Biotransformation of fermented black tea into bacterial nanocellulose via symbiotic interplay of microorganisms. *International Journal of Biological Macromolecules*, 132, 166–177.
- Sederavičiūtė, F., Bekampienė, P., & Domskienė, J. (2019). Effect of pretreatment procedure on properties of Kombucha fermented bacterial cellulose membrane. *Polymer Testing*, 78(February).
- Tu, C.; Tang, S.; Azi, F.; Hu, W.; Dong, M. Use of Kombucha consortium to transform soy whey into a novel functional beverage. *J. Funct. Foods*. 2019, 52, 81-89.
- Villarreal-soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J., & Taillandier, P. (2018). Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of Food Science*, 83(3), 580–588.
- Vitas, J.; Vukmanovic, S.; Cakarevic, J.; Popovic, L.; Malbasa, R. Kombucha fermentation of six medicinal herbs: chemical profile and biological activity. *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.* 2020, 26, 2, 157-170.