



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**Facultad de Química**  
**Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

**“Desarrollo de análogos de kombucha a base de cálices y subproducto de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*) y evaluación de su efecto sobre las alteraciones metabólicas en un modelo *in vivo* de obesidad”**

**Tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

**Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

PRESENTA

**IQ. en Al. Raúl Herrera Jr.**

DIRECTORA DE TESIS

**Dra. Rosalía Reynoso Camacho**

CO-DIRECTORA DE TESIS

**Dra. Nuria E. Rocha Guzmán**

Santiago de Querétaro, Querétaro, Julio de 2025

**La presente obra está bajo la licencia:**  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



## CC BY-NC-ND 4.0 DEED

### Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

#### **Usted es libre de:**

**Compartir** — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciatario no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

#### **Bajo los siguientes términos:**

 **Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciatario.

 **NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).

 **SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

**No hay restricciones adicionales** — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

#### **Avisos:**

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



**Universidad Autónoma de Querétaro**  
Facultad de Química  
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

"Desarrollo de análogos de kombucha a base de cálices y subproducto de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y evaluación de su efecto sobre las alteraciones metabólicas en un modelo *in vivo* de obesidad"

**Protocolo de tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
Maestro en Ciencias y Tecnología de Alimentos

**Presenta:**

IQ. en Al. Raúl Herrera Jr.

**Dirigido por:**

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

**Co-Dirigido por:**

Dra. Nuria E. Rocha Guzmán

**SINODALES**

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Presidente

\_\_\_\_\_

Firma

Dra. Nuria E. Rocha Guzmán

Co-director

\_\_\_\_\_

Firma

Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez

Vocal

\_\_\_\_\_

Firma

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña

Suplente

\_\_\_\_\_

Firma

Dra. Minerva Ramos Gómez

Suplente

\_\_\_\_\_

Firma

Dr. José Santos Cruz  
Director de la Facultad de Química.

Dr. Manuel Toledano Ayala  
Director de Investigación y Posgrado

Santiago de Querétaro, Querétaro, Julio de 2025

Una prueba de inteligencia es tener dos ideas opuestas  
y seguir funcionando; saber que las cosas no tienen  
solución y seguir decidido a cambiarlas

— *F. Scott Fitzgerald*

## **DEDICATORIA**

A Dios, por ser guía y fortaleza en cada etapa de este camino.

A mi familia, por ser mi primer impulso.

A mis padres, por su ejemplo incansable y por nunca dejarme caer.

A mis hermanos, por su amor silencioso y su confianza en mí.

A mi abuelita, por enseñarme, con su vida, que el esfuerzo, la visión y el corazón abren caminos.

A la Universidad Autónoma de Querétaro, por brindarme las herramientas y el entorno para desarrollar mi vocación científica.

A mis maestras y maestros, por sembrar en mí la inquietud por comprender el mundo a través de la ciencia.

A la Dra. Rosalía, por guiarme con paciencia, exigencia y confianza en este camino.

A mis compañeros del laboratorio, por su colaboración y compromiso compartido con el conocimiento

Y a mí mismo, por no rendirme, por seguir, incluso cuando parecía más fácil detenerse.

Este trabajo es también un reconocimiento a todas las personas que, desde distintos espacios, impulsan la ciencia como motor de transformación social.

## AGRADECIMIENTOS

Al pueblo de México, por hacer posible, a través de la SECIHTI, el apoyo económico que me permitió desarrollar este proyecto.

A la Universidad Autónoma de Querétaro y a la Facultad de Química, por ser el espacio que me permitió crecer personal y profesionalmente, y por fomentar una formación científica rigurosa y comprometida con la sociedad.

A la Dra. Rosalía, por su invaluable dirección, su exigencia formativa y su acompañamiento constante a lo largo de este proyecto. Gracias por abrirme las puertas de su laboratorio y por confiar en mi capacidad de contribuir desde la ciencia.

A la Dra. Nuria, mi codirectora, por su valiosa orientación, apoyo constante y por enriquecer este trabajo con sus conocimientos y experiencia.

A la Dra. Flavia, Iza y Minerva, integrantes del comité, por sus valiosas observaciones y sugerencias. Su compromiso y dedicación fueron fundamentales para fortalecer y dar mayor profundidad a este trabajo. A todas ustedes les agradezco sinceramente el tiempo y la atención que dedicaron a mi formación.

A todo el equipo del Laboratorio de Bioquímica Molecular (Bere, Lupita e Iván) por su apoyo, colaboración y disposición para compartir conocimientos. Agradezco especialmente el impulso constante para salir de mi zona de confort, así como por motivarme a ser más ordenado y disciplinado en mi trabajo.

A mis compañeras y compañeros de generación —Paola, Paulia, Nicole, Ludy, Juan Carlos, Luis, David y Toño— por las conversaciones, las risas, las horas de estudio, las comidas, las noches de fiesta, los viajes y el apoyo constante que hicieron de esta etapa una experiencia verdaderamente enriquecedora y memorable.

A Ángel, Bety y Emilio, estudiantes de servicio social que trabajaron conmigo. Gracias a su apoyo y dedicación no solo aprendí mucho más, sino que también encontré grandes amigos con quienes compartí esta etapa de crecimiento y aprendizaje.

A Raúl Chaires, quien desde el inicio se integró al proyecto con compromiso y dedicación. Su apoyo fue fundamental para avanzar en cada etapa. Más que un colaborador, se ha convertido en un gran amigo, y hoy socios de un proyecto que confiamos tendrá un gran futuro.

A mi familia, por su amor constante, su confianza inquebrantable y por ser mi base en cada paso que doy. Gracias por su paciencia y comprensión durante este camino.

A quienes, desde sus distintas trincheras, impulsan la ciencia como una herramienta para transformar la realidad y construir un futuro más justo y sostenible.

## **DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD DEL ESTUDIANTE**

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que incluí los detalles metodológicos necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.



IQ. en Al. Raúl Herrera Jr

## Resumen

El consumo de bebidas fermentadas ha incrementado notablemente en los últimos años y la incorporación de ingredientes culturalmente aceptados, como el cálix de *Hibiscus sabdariffa* L. y sus subproductos, los cuales presentan altos contenidos de compuestos fenólicos, podría incrementar sus beneficios en el control de la obesidad. Este proyecto tuvo como objetivo desarrollar análogos de kombucha elaborados a partir de los cálices y su subproducto y evaluar sus efectos *in vivo* sobre el control de la obesidad y sus alteraciones metabólicas. Se estudió el proceso de fermentación considerando distintos métodos de extracción (infusión y decocción), concentraciones del sustrato (0.25 y 0.5 % p/v), contenido de sacarosa (6, 8 y 10%) y tiempos de fermentación (0-9 días). Las bebidas fermentadas durante 7 días al 0.5 % con 8 % de azúcar inicial resultaron en una bebida con las mejores características fisicoquímicas y el mayor contenido de compuestos bioactivos. De igual manera, el subproducto de jamaica mostró una adecuada adaptación al consorcio microbiano de la kombucha y la implementación de un proceso no convencional —con infusiones sin filtrar— no comprometió dicha adaptación; por el contrario, se observó un incremento en el contenido de compuestos fenólicos. En el estudio *in vivo*, ratas Wistar fueron alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa y suplementadas diariamente con 12.5 mL/kg durante 16 semanas con los tres análogos de kombucha, uno de jamaica (KOM-J), otro elaborado con subproducto filtrado (KOM-F) y otro sin filtrar (KOM-SF), así como con las respectivas infusiones no fermentadas (IJ y ISJ). El grupo suplementado con KOM-J presentó menor peso corporal en un 16.4 %, alcanzando niveles comparables al grupo control sano, mientras que; los grupos suplementados con KOM-SF y KOM-F mostraron una reducción del 9.7 % y 6.3 %, respectivamente en comparación con el control obeso. Asimismo, el tejido adiposo visceral se redujo significativamente: 53.0 % con KOM-J, 34.0 % con KOM-SF y 17.0 % con KOM-F. Las bebidas modularon favorablemente el perfil lipídico en comparación con el control obeso: los niveles de triglicéridos fueron menores en un 54.2 % (KOM-J), 48.0 % (KOM-SF) y 25.3 % (KOM-F); el colesterol LDL se redujo en 58.3 %, 55.7 % y 54.1 %, respectivamente; mientras que el colesterol HDL aumentó en un 78.0 % (KOM-J), 76.3 % (KOM-SF) y 55.0 % (KOM-F). También se presentaron mejoras en la sensibilidad a la insulina, reflejadas en menores valores del índice HOMA-IR de 79.7 % (KOM-J), 71.8 % (KOM-SF) y 63.0 % (KOM-F). Por el contrario, los grupos suplementados con IJ e ISJ no presentaron mejoras significativas en ninguno de los parámetros evaluados. Estos resultados sugieren que los metabolitos generados durante la fermentación producen mayores beneficios a la salud que las bebidas sin fermentar.

**Palabras clave:** Kombucha, bebidas funcionales, cálix de jamaica, obesidad

## Abstract

The consumption of fermented beverages has increased significantly in recent years. The incorporation of culturally accepted ingredients, such as *Hibiscus sabdariffa* L. calyces and their by-products—rich in phenolic compounds—may enhance their potential benefits in managing obesity. This project aimed to develop kombucha analogues using hibiscus calyces and by-products, and to evaluate their *in vivo* effects on obesity and associated metabolic alterations. The fermentation process was assessed considering various extraction methods (infusion and decoction), substrate concentrations (0.25% and 0.5% w/v), sucrose content (6%, 8%, and 10% w/v), and fermentation durations (0–9 days). Beverages fermented for 7 days using a 0.5% substrate and 8% initial sugar content exhibited the most favorable physicochemical characteristics and the highest levels of bioactive compounds. Notably, the hibiscus by-product demonstrated adequate compatibility with the kombucha microbial consortium. Moreover, the use of a non-conventional method—employing unfiltered infusions—did not hinder this adaptation; on the contrary, it led to an increased content of phenolic compounds. In the *in vivo* study, Wistar rats were fed a high-fat, high-fructose diet and supplemented daily for 16 weeks with 12.5 mL/kg of three kombucha analogues: one from hibiscus calyces (KOM-J), one from filtered by-products (KOM-F), and one from unfiltered by-products (KOM-SF), along with their respective unfermented infusions (IJ and ISJ). The group receiving KOM-J showed a 16.4% reduction in body weight, reaching levels comparable to the healthy control group. KOM-SF and KOM-F supplementation resulted in weight reductions of 9.7% and 6.3%, respectively, compared to the obese control group. Visceral adipose tissue was also significantly reduced: by 53.0% with KOM-J, 34.0% with KOM-SF, and 17.0% with KOM-F. The beverages positively modulated lipid profiles relative to the obese control: triglyceride levels were reduced by 54.2% (KOM-J), 48.0% (KOM-SF), and 25.3% (KOM-F); LDL cholesterol decreased by 58.3%, 55.7%, and 54.1%, respectively; while HDL cholesterol increased by 78.0% (KOM-J), 76.3% (KOM-SF), and 55.0% (KOM-F). Improvements in insulin sensitivity were also observed, as indicated by reductions in the HOMA-IR index of 79.7% (KOM-J), 71.8% (KOM-SF), and 63.0% (KOM-F). In contrast, the IJ and ISJ groups did not show significant improvements in any of the parameters evaluated. These findings suggest that the metabolites produced during fermentation confer greater health benefits than the unfermented beverages.

**Keywords:** Kombucha, Functional beverages, Calyx of hibiscus, Obesity

## ÍNDICE GENERAL

	Página
Índice general	i
Índice de cuadros	iii
Índice de figuras	iv
Resumen	
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>12</b>
<b>2. ANTECEDENTES .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1 Obesidad.....</b>	<b>15</b>
<b>2.2 Alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad.....</b>	<b>15</b>
2.2.1 Resistencia a la insulina (RI) .....	16
2.2.2 Dislipidemias.....	16
<b>2.3 Consumo de bebidas azucaradas y sus problemas asociados a la salud .....</b>	<b>18</b>
<b>2.4 Bebidas funcionales .....</b>	<b>19</b>
<b>2.5 Kombucha.....</b>	<b>21</b>
2.5.1 Producción de kombucha .....	21
2.5.2 Proceso de fermentación de la kombucha .....	22
2.5.3 Parámetros importantes en la fermentación de la kombucha .....	24
2.5.4 Incremento en el contenido de compuestos fenólicos mediante la elaboración de KOM mediante un proceso no convencional .....	25
2.5.5 Producción de análogos de kombucha a partir de subproductos agroindustriales .....	26
2.5.6 Efecto antiobesogénico de la kombucha y sus análogos .....	27
<b>2.6 <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.....</b>	<b>29</b>
2.6.1 Características generales .....	29
2.6.2 Compuestos fitoquímicos .....	29
2.6.3 Subproducto de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L .....	30
2.6.4 Beneficios a la salud del consumo de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. y su subproducto.....	31
<b>3. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>33</b>
<b>4. OBJETIVOS .....</b>	<b>34</b>
<b>4.1 Objetivo general .....</b>	<b>34</b>
<b>4.2 Objetivos específicos .....</b>	<b>34</b>
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>35</b>
<b>5.1 Materiales.....</b>	<b>36</b>
5.1.1. Material vegetal.....	36
5.1.2. Material biológico .....	36
<b>5.2 Métodos .....</b>	<b>36</b>
5.2.1 Preparación de las muestras .....	36
5.2.2 Elaboración del análogo de kombucha (KOM) .....	37
5.2.3 Propiedades fisicoquímicas de los análogos de kombucha .....	38
5.2.3.1 pH .....	38
5.2.3.2 Acidez titulable.....	38

5.2.3.3 Sólidos solubles .....	38
5.2.3.4 Azúcares reductores .....	38
5.2.3.5 Rendimiento del consorcio microbiano .....	39
5.2.4 Análisis microbiológicos en las bebidas .....	39
5.2.5 Evaluación sensorial .....	39
5.2.6 Cuantificación y caracterización de compuestos fenólicos .....	41
5.2.6.1 Compuestos fenólicos totales .....	41
5.2.6.2 Flavonoides totales .....	41
5.2.6.3 Antocianinas monoméricas .....	42
5.2.6.4 Proantocianidinas extraíbles (EPA) .....	42
5.2.6.5 Perfil de compuestos polifenólicos por UPLC-ESI-QqQ .....	43
5.2.7 Evaluación antiobesogénica <i>in vivo</i> de los KOM .....	45
5.2.7.1 Aclimatación de los animales .....	45
5.2.7.2 Tratamiento y registro de peso corporal .....	45
5.2.7.3 Eutanasia y recolección de muestras .....	47
5.2.7.4 Evaluación de las alteraciones metabólicas .....	49
5.2.7.4.1 Perfil de lípidos y estimación de aterogénica .....	49
5.2.7.4.2 Estimación de la resistencia a la insulina .....	49
5.2.8 Análisis estadístico .....	50
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>	<b>51</b>
<b>6.1 Evaluación del efecto de la fermentación en análogos de kombucha de cálices de jamaica y subproducto .....</b>	<b>51</b>
<b>6.2 Evaluación sensorial de los análogos de kombucha de cálices de jamaica y su subproducto .....</b>	<b>65</b>
<b>6.3 Efecto de la fermentación sobre el contenido de compuestos fenólicos y cambios en el perfil de polifenoles .....</b>	<b>69</b>
<b>6.4 Efecto del consumo de los análogos de kombucha de cálices de jamaica y subproducto sobre la obesidad y las alteraciones metabólicas asociadas .....</b>	<b>83</b>
5.4.1 Efectos sobre la regulación de peso corporal .....	83
5.4.2 Efectos sobre alteraciones metabólicas asociadas al metabolismo de lípidos .....	89
5.4.2 Efectos sobre alteraciones metabólicas asociadas al metabolismo de carbohidratos .....	94
<b>6.5 Perspectivas y limitaciones del estudio .....</b>	<b>99</b>
<b>7. CONCLUSIONES .....</b>	<b>101</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>104</b>
<b>9. ANEXOS .....</b>	<b>123</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Diseño para establecer condiciones de fermentación para el análogo de kombucha	33
2	Contenido nutrimental de la dieta para el estudio <i>in vivo</i>	43
3	Contenido de compuestos fenólicos en los análogos de kombucha e infusiones sin fermentar	66
4	Determinación del perfil de compuestos fenólicos en los análogos de kombucha y en las infusiones no fermentadas mediante UPLC-ESI-Q-ToF-MS	70
5	Efecto del consumo de los análogos de kombucha sobre los parámetros zoométricos	83
6	Perfil lipídico en suero de ratas alimentadas con una dieta DAGF y suplementadas con análogos de kombucha de jamaica y las infusiones sin fermentar	86
7	Parámetros en suero de ratas alimentadas con una dieta DAGF y suplementadas con análogos de kombucha de jamaica y las infusiones sin fermentar	90

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1	13
2	16
3	18
4	19
5	21
6	31
7	42
8	48
9	49
10	51
11	54
12	56

13	Efecto de la fermentación sobre el porcentaje de rendimiento del SCOBY (A) y los grados brix (B) en análogos de kombucha de subproducto de jamaica elaboradas a partir de infusiones filtradas y sin filtrar.	57
14	Efecto de la fermentación sobre el contenido de compuestos fenólicos totales (A) y antocianinas (B) en análogos de kombucha de subproducto de jamaica elaboradas a partir de infusiones filtradas y sin filtrar.	59
15	Resultados de la evaluación del perfil sensorial de los análogos de kombucha de calices de jamaica (KOM-J) mediante una prueba afectiva de aceptación (A) y preferencia (B).	62
16	Resultados de la evaluación del perfil sensorial de análogos de kombucha desarrollados a partir de subproducto de jamaica mediante infusiones filtradas (KOM-F) y sin filtrar (KOM-SF) mediante una prueba afectiva de aceptación (A) y preferencia (B).	63
17	Ánalisis de componentes principales (PCA) del perfil de compuestos fenólicos de los análogos de kombucha y bebidas control	77
18	Peso corporal de ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa y suplementadas con los análogos de kombucha de cálices de jamaica y subproducto	79
19	Efecto de la suplementación con análogos de kombucha elaborados a partir de cálices de jamaica y subproducto sobre los índices aterogénicos en ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa. Se presentan el índice de Castelli I (A), el índice de Castelli II (B) y el índice de riesgo cardiometabólico (C).	88
20	Efecto de la suplementación con análogos de kombucha elaborados a partir de cálices de jamaica y subproducto sobre la estimación de la resistencia a la insulina mediante los índices HOMA-IR (A), HOMA-β (B), QUICKI (C), y el índice TyG (D).	92

## 1. INTRODUCCIÓN

México ocupa el primer lugar a nivel mundial en el consumo de bebidas azucaradas, las cuales no son recomendables para su consumo diario por la población en general, debido a que se han asociado con problemas de sobrepeso y obesidad (Chatelan *et al.*, 2024). En consideración el elevado consumo de estos productos, se torna imperativo el desarrollo de bebidas funcionales que, además de ser aceptadas sensorialmente por la población, aporten beneficios a la salud.

A lo largo de los años se ha producido un desarrollo significativo en el ámbito de los productos fermentados, motivado por su notable potencial funcional. Este atributo puede ser conferido a las características químicas inherentes a las materias primas utilizadas, así como, a las biotransformaciones que tienen lugar durante el proceso de fermentación. Este fenómeno, a su vez, propicia intervenciones meticulosamente dirigidas a alteraciones metabólicas específicas (Paramithiotis *et al.*, 2024).

Por otro lado, desde tiempos ancestrales, el consumo de infusiones herbales ha sido utilizado para el control y tratamiento de diversas patologías. Estos beneficios se han relacionado principalmente con los compuestos fenólicos y, recientemente, se ha reportado que la fermentación de las infusiones aumenta la cantidad de estos fitoquímicos, así como la formación de ácidos orgánicos y bacterias probióticas, lo que mejora su potencial funcional (Sanwal *et al.*, 2023).

Entre las bebidas fermentadas a base de infusiones, la kombucha ha despertado especial interés por su potencial antioxidante, antidiabético, antiobesogénico, hipocolesterolemianta, hepatoprotector y probiótico (Leonarski *et al.*, 2021). Tradicionalmente esta bebida es obtenida a partir de una infusión azucarada de *Camellia sinensis* fermentada de forma aeróbica mediante un consorcio simbiótico de bacterias y levaduras (SCOBY) (Laavanya *et al.*, 2021).

Recientemente se ha explorado la incorporación de otros sustratos para la elaboración de kombucha, con el propósito de optimizar el perfil sensorial y potenciar el contenido de compuestos bioactivos y sus beneficios para la salud. Se ha observado que los cálices de jamaica, pertenecientes a la familia de las plantas

Asteraceae, exhiben características distintivas en comparación con su análogo de kombucha. Este último, según lo reportado por Emam & Ashour en 2022, mostró un incremento significativo en el contenido de compuestos fénolics (31 %) y una notable mejora en su capacidad antioxidante (51 %) en comparación con la bebida sin fermentar. Este hallazgo resalta la importancia de considerar el análisis de los materiales vegetales en el contexto de la investigación científica, ya que puede proporcionar información valiosa sobre las propiedades bioactivas de las plantas y su potencial para la salud humana. En otro estudio, se evaluó la calidad de análogos de kombucha elaborados con diferentes extractos vegetales, utilizando parámetros como el pH, el grosor de la biopelícula, la acidez titulable y su efecto antibacteriano contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Se observó que el tipo de extracto utilizado ejerció un impacto notable en los parámetros previamente mencionados, siendo el té verde y los cálices de jamaica los más eficaces (Primiani *et al.*, 2018). Hasta el momento no existen reportes de los beneficios metabólicos asociados a la obesidad de los análogos de kombucha de decoccciones de cálices de jamaica o su subproducto. Sin embargo, se ha demostrado en ratas alimentadas con una dieta alta en grasas y fructosa (DAGF) que las decoccciones de jamaica de las variedades criolla (roja) y alma blanca al 3 % (p/v) disminuyeron significativamente el peso corporal en un 8.9% y 11.2%, respectivamente. Otro estudio evaluó los extractos de las variedades alma blanca y cuarenteña (3 % p/v) en ratas alimentadas con DAGF, encontrando una disminución en el peso corporal (11% y 9%, respectivamente) y una mejora en la resistencia a la insulina (Morales-Luna *et al.*, 2018; Rangel-García *et al.*, 2022). Respecto al subproducto de la decocción de los cálices de jamaica (4 %) este ha sido evaluado en ratas alimentadas con DAGF, encontrando una reducción del 14 % en el peso corporal, una disminución del 13% de la hipertrofia de los adipocitos y, 59 % de la resistencia a la insulina comparado con los valores de los animales alimentados con la DAGF (Amaya-Cruz *et al.*, 2019).

Como se ha puesto de manifiesto en investigaciones previas, las bebidas de tipo kombucha elaboradas con *Hibiscus sabdariffa* L., una vez cometidas a un proceso de fermentación, exhiben un incremento en el contenido de compuestos fenólicos y una capacidad antioxidante más pronunciada. Estos hallazgos apuntan a la

posibilidad de que dichos productos puedan proporcionar beneficios significativos para la salud. En este proyecto, se propone la elaboración de análogos de kombucha mediante la utilización de un extracto acuoso de *Hibiscus sabdariffa* L. y su subproducto, con el propósito de evaluar su eficacia en el control de la obesidad y sus alteraciones metabólicas, tales como la resistencia a la insulina y las dislipidemias.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Obesidad.

La obesidad se define como una enfermedad crónica, multifactorial y mórbida, que se manifiesta cuando hay una acumulación desproporcionada de grasa, principalmente en el tejido adiposo visceral, extendiéndose gradualmente a órganos como el hígado, el músculo y el páncreas, alterando sus funciones normales y contribuyendo a diversas patologías asociadas a esta enfermedad (Choi *et al.*, 2023). El tejido adiposo puede incrementar su volumen de dos maneras principales: mediante hipertrofia, que implica el crecimiento de los adipocitos existentes, o mediante hiperplasia, que implica la formación de nuevos adipocitos a partir de la diferenciación de preadipocitos, lo que contribuye a la expansión del tejido adiposo (Carrasco-Pozo *et al.*, 2019).

El consumo de dietas altas en grasas y carbohidratos puede alterar el metabolismo de oxígeno, ya que la grasa al ser oxidada en la mitocondria, un porcentaje de los electrones puede reducir al oxígeno, formando especies reactivas de oxígeno (EROS). La presencia de EROS activa diversas vías de señalización celular, como la vía del factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) y la vía de las MAPK quinasas, que promueven la expresión de genes proinflamatorios, incrementando el riesgo de la resistencia a la insulina, la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), las dislipidemias y las enfermedades cardiovasculares (Rimessi *et al.*, 2016; Costa *et al.*, 2017).

### 2.2 Alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad

Entre las distintas alteraciones metabólicas vinculadas con la obesidad se encuentran la resistencia a la insulina y las dislipidemias. Estas condiciones son la principal causa del desarrollo de DM2 y problemas cardiovasculares, respectivamente. En nuestro país la DM2 es la segunda causa de muerte, representando aproximadamente el 30 % de todas las muertes en personas mayores de 35 años y es también una de las principales causas de muerte prematura (INEGI, 2022; Rojas-Martínez *et al.*, 2024). Por otro lado, una de las principales causa de muerte en México son las enfermedades cardiovasculares siendo las alteraciones lipídicas uno de los factores de riesgo de esta patología y alrededor del 30 % de la

población presentan hipertrigliceridemia; mientras que, más del 45 % padece hipercolesterolemia. De ahí la importancia de abordar estos dos trastornos metabólicos, ya que están estrechamente asociados al sobrepeso y la obesidad (ENSANUT, 2022).

### **2.2.1 Resistencia a la insulina (RI)**

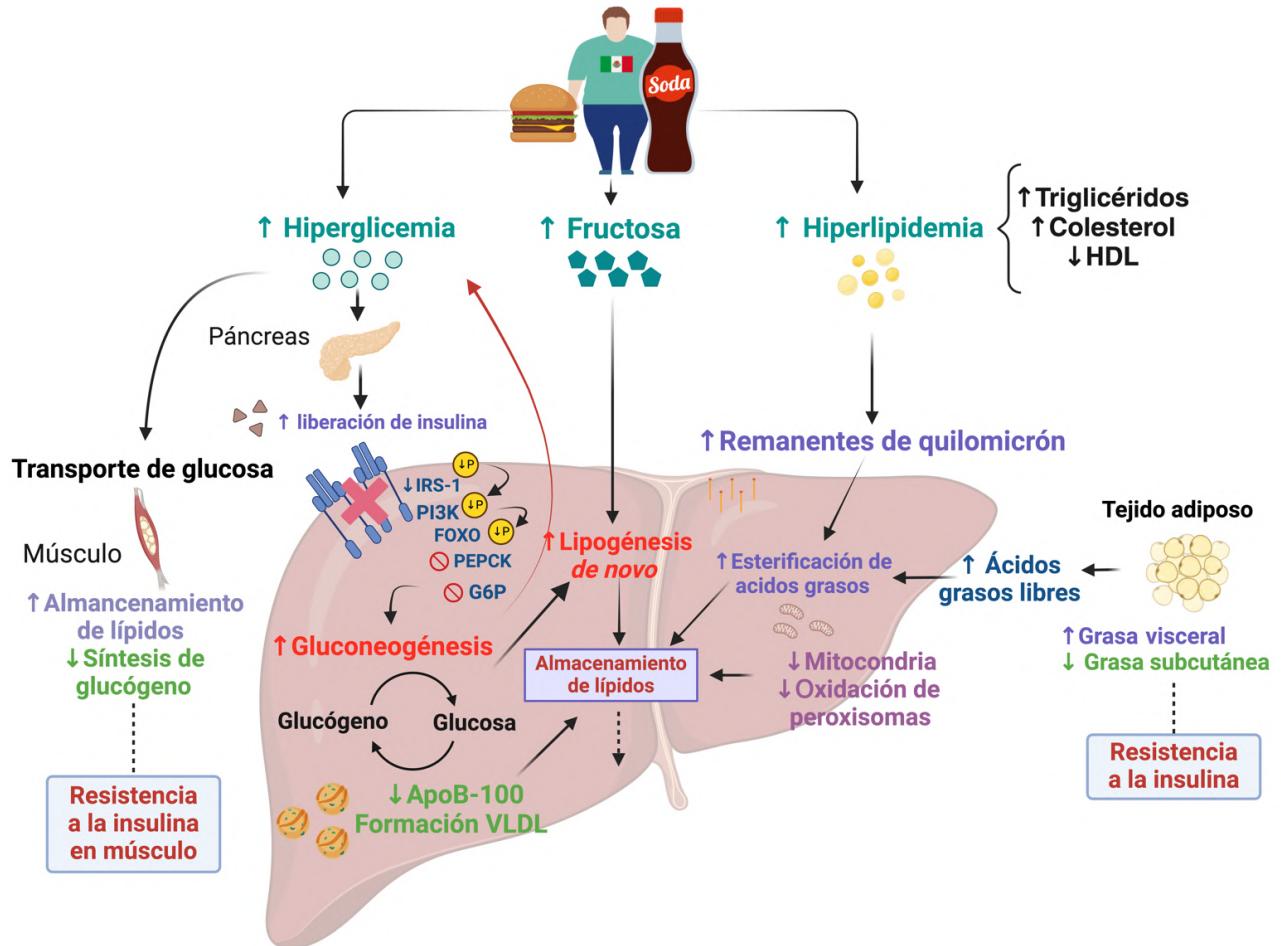
La insulina es una hormona de naturaleza anabólica, secretada por las células  $\beta$  de los islotes de Langerhans en el páncreas, cuya función principal es mantener la homeostasis de la glucosa en el organismo. En los tejidos adiposo y el músculo esquelético, la insulina aumenta la captación de glucosa estimulando la translocación de los transportadores GLUT4 desde las vesículas intracelulares a la membrana celular (Calderón-DuPont *et al.*, 2023). Además en el hígado induce la síntesis de glucógeno e inhibe enzimas clave de la gluconeogénesis como la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK) y la glucosa-6-fosfatasa (Figura 1). Una pérdida en la homeostasis de la glucosa puede llegar a originar enfermedades como la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) o enfermedades cardiovasculares. Los pacientes con (DM2) 10 años antes de su diagnóstico pueden llegar a presentar RI (Davids *et al.*, 2020).

La RI se caracteriza por una disminución en la sensibilidad a esta hormona en los principales órganos diana, como el tejido adiposo y el músculo esquelético. Como respuesta compensatoria, las células  $\beta$  del páncreas incrementan la secreción de insulina, lo que conduce a un estado de hiperinsulinemia. Si bien este mecanismo permite mantener niveles normales de glucosa en sangre en las etapas iniciales, con el tiempo las células  $\beta$  comienzan a sufrir apoptosis, comprometiendo la capacidad de regulación glucémica. (Akhtar *et al.*, 2019).

### **2.2.2 Dislipidemias**

Las dislipidemias son alteraciones en los niveles de lípidos sanguíneos, como el colesterol, sus fracciones o los triglicéridos (TAG) (Mach *et al.*, 2019). Entre los tipos de dislipidemias se encuentran la hipercolesterolemia, la hipertrigliceridemia, la dislipemia mixta (niveles elevados de colesterol, LDL y TAG) y la dislipidemia aterogénica que se caracteriza por niveles elevados de TAG y niveles reducidos de

lipoproteínas de alta densidad (HDL); esta última dislipidemia produce RI asociada a la obesidad (Lorenzatti & Tóth, 2020; Vekić *et al.*, 2022).



**Figura 1.** Resistencia a la insulina y alteración del metabolismo de carbohidratos y producción de la hipertrigliceridemia (Adaptado de Ormazábal *et al.*, 2018). P: fósforo; **IRS-1:** Sustrato del Receptor de Insulina 1; **PI3K:** fosfatidilinositol 3-cinasa; **FOXO:** Caja Forkhead tipo O; **PEPCK:** fosfoenolpiruvato carboxiquinasa; **G6P:** Glucosa-6-fosfato; **ApoB-100:** Apolipoproteína B-100

La hipertrigliceridemia es el mecanismo principal en el desarrollo de la dislipidemia en la obesidad, ya que conlleva a un aumento de los niveles de TAG después de las comidas. La lipasa pancreática promueve la degradación de TAG provenientes de los alimentos en el intestino y posteriormente los ácidos grasos son absorbidos, reesterificados en las células epiteliales intestinales y transportados como quilomicrones en el torrente sanguíneo (Jellinger *et al.*, 2017). Adicionalmente,

durante el ayuno se produce un aumento de la lipólisis en el tejido adiposo inducido por la lipasa sensible a la hormona, lo que conduce al transporte de ácidos grasos al hígado, aumentando su oxidación en este órgano. En un estado de obesidad se incrementa la acumulación de TAG en el tejido adiposo. Durante la RI, la lipólisis se encuentra aumentada debido a la disminución del efecto antilipolítico de la insulina, lo que provoca una liberación excesiva de ácidos grasos libres hacia el torrente sanguíneo. Estos ácidos grasos libres son captados por el hígado, donde promueven la síntesis de TAG y la formación de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), contribuyendo así a la hipertrigliceridemia (Li *et al.*, 2022).

Por lo tanto, en la obesidad se producen alteraciones en el metabolismo de las lipoproteínas, principalmente atribuibles a la resistencia a la insulina (Vekić *et al.*, 2019). Uno de los principales factores asociados a la RI y a la hipertrigliceridemia es la dieta y entre los cuales se encuentran las bebidas azucaradas.

### **2.3 Consumo de bebidas azucaradas y sus problemas asociados a la salud**

Según los datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) de 2018, el 85.8 % de personas mayores a 20 años consumieron al menos una bebida azucarada diariamente. Esta ingesta se mantiene homogénea en todos los sectores de la población, independientemente del nivel socioeconómico, la región o el entorno rural o urbano. El consumo de estas bebidas y su estrecha asociación con problemas de salud se ha convertido en una cuestión de creciente preocupación en los últimos años para el sistema de salud de nuestro país. Una parte significativa del aumento de peso generalizado se atribuye al aumento en el consumo de alimentos ricos en calorías, como barras hipercalóricas, comida rápida y bebidas azucaradas (Hall *et al.*, 2020).

Estos productos poco saludables representan aproximadamente el 30 % de la ingesta energética total. Las bebidas azucaradas por sí solas aportan en promedio el 9.8 % de la ingesta total de energía y constituyen la principal fuente (69 %) de azúcares añadidos (Rivera-Dommarco *et al.*, 2024). En esta línea, la Organización Mundial de la Salud ha recomendado disminuir el consumo de azúcares libres a menos del 10 % de la ingesta calórica diaria y, de manera ideal, reducirlo hasta un 5

% (OMS, 2015). Esto equivale a un máximo de 50 g de azúcares al día para un adulto con una dieta de 2000 kcal. Sin embargo, una bebida azucarada en botella estándar de 600 mL contiene aproximadamente 60 g de azúcar, superando el límite máximo recomendado por la OMS, lo cual representa un desafío significativo para el sector salud de nuestro país.

México ocupa el primer lugar a nivel mundial en el consumo de bebidas azucaradas y, para el año 2019, el promedio de consumo por persona en nuestro país fue de 163 litros, superando en un 40 % la cifra de Estados Unidos y otros países latinoamericanos (Delgado, 2019). De acuerdo con ENSANUT 2022, el 75.2 % de la población mexicana presenta sobrepeso u obesidad y aproximadamente 1 de cada 10 individuos padece DM2. Sin embargo, hasta la fecha no se han establecido cifras específicas de la carga de enfermedad atribuible a la ingesta de estas bebidas en México.

Estudios de intervención sugieren que la ingesta de bebidas endulzadas podría desempeñar un papel fundamental en el desarrollo de la DM2 y enfermedades cardiovasculares, no solamente a través del aumento de peso, sino también debido a su influencia en la acumulación de grasa visceral, RI y el desarrollo de dislipidemias (Micha *et al.*, 2017). De ahí la necesidad del desarrollo de bebidas que puedan ser una alternativa al consumo de las bebidas endulzadas y que adicionalmente presenten propiedades funcionales.

## **2.4 Bebidas funcionales**

Las bebidas funcionales son aquellas que, además de cubrir las necesidades nutricionales básicas, ofrecen beneficios adicionales sobre funciones fisiológicas específicas del organismo. Según el International Food Information Council (IFIC), un alimento funcional se define como “cualquier alimento o ingrediente que proporcione beneficios para la salud además de la nutrición básica”; esta definición puede extenderse a las bebidas funcionales, siempre y cuando sus efectos positivos estén respaldados por evidencia científica. Es importante señalar que, en México, el término “alimento funcional” o “bebida funcional” no cuenta con un reconocimiento normativo específico dentro de la Ley General de Salud ni en las Normas Oficiales

Mexicanas (NOM). Por ello, para fines de este estudio, se adopta la definición internacionalmente aceptada, fundamentada en el diseño y evaluación de productos con potencial funcional y efectos benéficos comprobables para la salud.

En este sentido, el consumo de bebidas es una parte fundamental de la dieta y se han convertido en uno de los alimentos funcionales más atractivos y deseables para los consumidores debido a su conveniencia y versatilidad. Según Corbo *et al.*, (2014), las bebidas ofrecen la ventaja de adaptarse fácilmente a las preferencias de los consumidores en función de contenido, apariencia, forma, tamaño y forma, lo que las convierte en una elección popular en la vida diaria.

Dentro de la categoría de bebidas funcionales se incluyen diversos tipos de productos como las bebidas energéticas, las bebidas deportivas, las bebidas probióticas, las infusiones herbales y las bebidas fermentadas (Figura 2). El mercado de las bebidas funcionales ha crecido constantemente y ha sido uno de los segmentos más dinámicos del sector de alimentos funcionales. Esto se debe a la tendencia de los consumidores a reducir la ingesta de bebidas carbonatadas con alto contenido calórico (Maleš *et al.*, 2022).



**Figura 2.** Ejemplo de bebidas funcionales de venta en el mercado global (Adaptado de Gupta *et al.*, 2023)

De manera particular, existe un interés creciente en bebidas basadas en extractos vegetales, ya que presentan beneficios para la salud, como la prevención de enfermedades cardiovasculares, hipertensión, obesidad y DM2 (Gupta *et al.*, 2023). Según Tolun & Altintas (2019), estas bebidas son una valiosa fuente de nutrientes y moléculas bioactivas, entre las que se incluyen vitaminas, minerales, compuestos fenólicos, fitoesteroles, ácidos grasos, fibra, prebióticos y probióticos. Dentro de estas bebidas se encuentran las bebidas fermentadas como la kombucha.

## 2.5 Kombucha

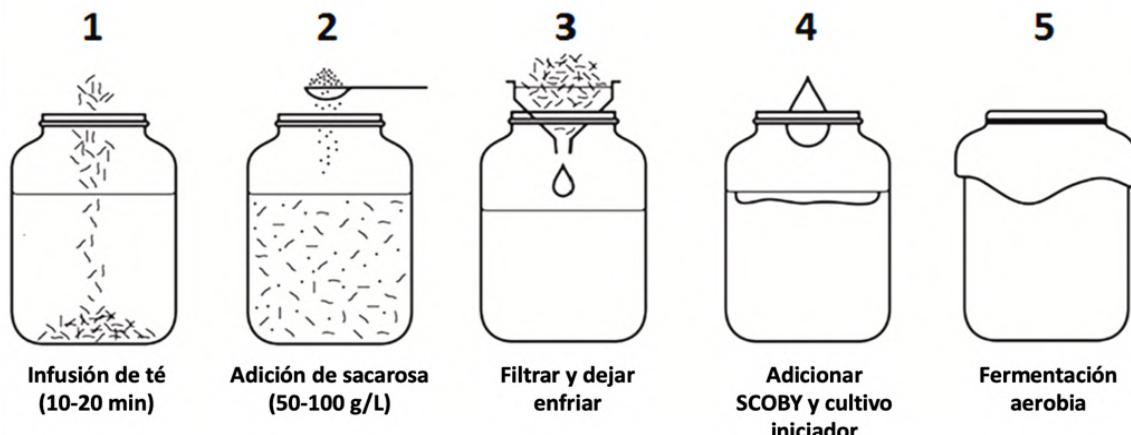
La kombucha (KOM) es una bebida fermentada que se elabora a partir de un consorcio simbiótico de bacterias y levaduras (SCOBY) (Leal *et al.*, 2018). Después de la fermentación, la KOM es una mezcla de compuestos bioactivos que incluyen azúcares, polifenoles, ácidos orgánicos, fibra, aminoácidos, vitaminas del complejo B, vitamina C y algunos mineral como Cu, Fe, Mn, Ni y Zn, así como compuestos antibióticas y enzimas hidrolíticas (Jayabalan *et al.*, 2014).

La KOM es popular en diferentes países, incluido México. En 2019 el valor de mercado global de KOM fue de 1670 millones de dólares y para el 2027 se estima que incremente en un 19.7 % (GVR, 2020), siendo ésta el producto de más rápido crecimiento en el mercado de bebidas funcionales y fermentadas más populares del mundo (Leonarski *et al.*, 2021).

### 2.5.1 Producción de kombucha

En la Figura 3 se muestra la elaboración de esta bebida fermentada, que consiste en un proceso estandarizado y ampliamente reportado. Se prepara a partir de una infusión de té o sustrato (5-10 g/L) elaborado a 80-90 °C (1) y con la adición de 50-100 g/L de sacarosa (2). La bebida resultante es filtrada y enfriada a temperatura ambiente (3) y, posteriormente es inoculada con el consorcio o SCOBY (alrededor del 3 % p/v) junto con un 10-15 % v/v de un lote previo de KOM, conocido como líquido iniciador (4) para promover la fermentación (5) y reducir el pH del medio (Jayabalan *et al.*, 2014; Watawana *et al.*, 2015). Las materias primas, la concentración de hojas de té y azúcar, la duración de la fermentación y la temperatura pueden variar en función de las prácticas de elaboración. Aunque los

sustratos principales son el té negro y el té verde (*Camellia sinensis*), también se utilizan otros sutratos como zumos o jugos de frutas, leches vegetales, café, hierbas medicinales entre otros (Vázquez-Cabral *et al.*, 2017; Yavari *et al.*, 2017).

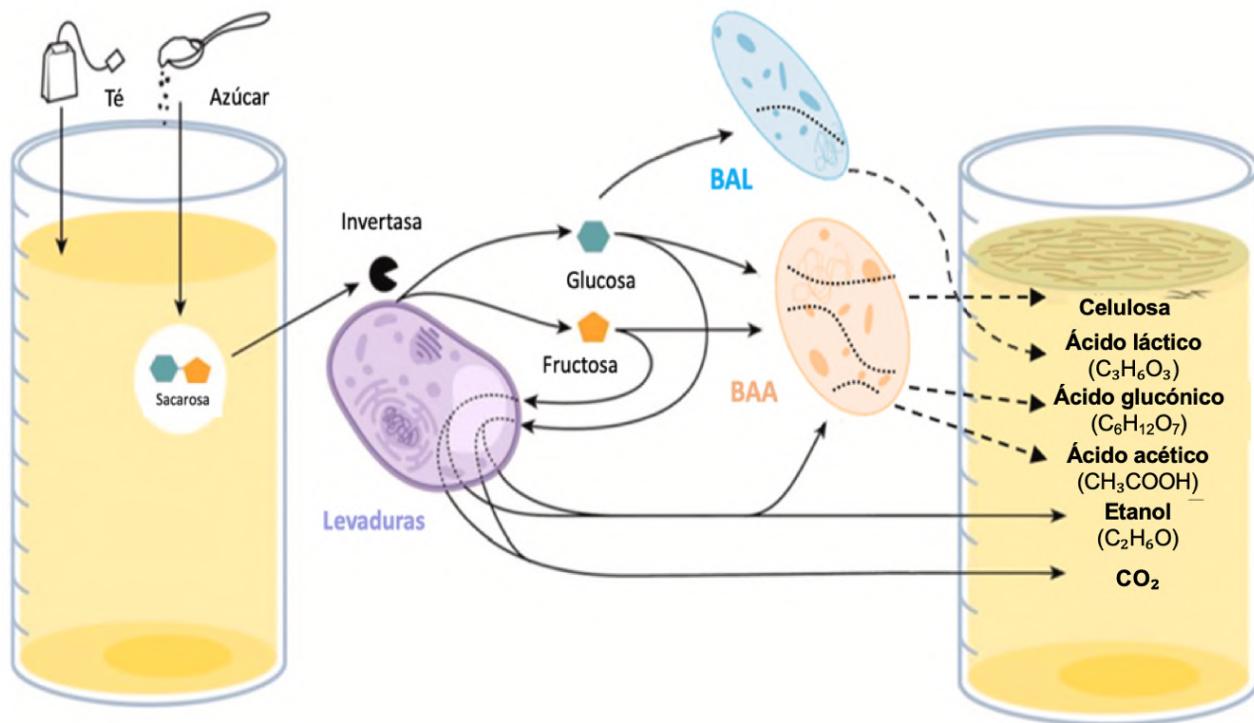


**Figura 3.** Esquema general del proceso de producción de KOM (Adaptado de Diez-Ozaeta & Astiazaran, 2022).

### 2.5.2 Proceso de fermentación de la kombucha

El cultivo simbiótico responsable del proceso de fermentación está compuesto por una variedad de microorganismos, incluyendo bacterias ácido lácticas (BAL) como *Lactobacillus* spp., *Oenococcus oeni*., *Lactococcus* spp., entre otros; bacterias ácido acéticas (BAA) como *Komagataeibacter* spp., *Acetobacter* spp., *Gluconobacter* spp., y levaduras como *Zygosaccharomyces* spp., *Saccharomyces* spp., *Schizosaccharomyces* spp., *Brettanomyces* spp., *Candida* spp., *Pichia* spp., *Torulaspora* spp., entre otras (Coton *et al.*, 2017; De Roos & De Vuyst, 2018). Las comunidades microbianas involucradas son notoriamente complejas y pueden variar significativamente dependiendo de factores como las materias primas utilizadas, la fuente de azúcar y las condiciones de fermentación (Vitas *et al.*, 2013).

Durante el proceso de fermentación simbiótica coexisten las fermentaciones láctica, acética y alcohólica, como se muestra en la Figura 4.



**Figura 4.** Interacción de los microorganismos y los principales metabolitos generados durante el proceso de producción de KOM (Adaptado de Diez-Ozaeta & Astiazaran, 2022).

En resumen, las especies de levaduras que poseen actividad invertasa hidrolizan la sacarosa produciendo fructosa y glucosa. Luego, las levaduras continúan el proceso metabolizando la glucosa para generar dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y etanol. Cuando la glucosa y la fructosa se encuentran disponibles para las BAL y las BAA, las BAL las convierten principalmente en ácido láctico mediante la ruta metabólica de Embden-Meyerhof. Por su parte, las BAA utilizan la glucosa a través de procesos oxidativos que dan lugar a varios ácidos orgánicos, como el glucónico, glucurónico y acético. Además, estas bacterias pueden transformar la fructosa en ácido acético y también oxidar el etanol producido por las levaduras, generando así más ácido acético (May et al., 2019). La oxidación del etanol a ácido acético por parte de las bacterias ácido acéticas (BAA) asegura que la bebida final tenga un bajo contenido de etanol.

Otro aspecto importante en la elaboración de kombucha es la producción de biocelulosa, biofilm o biopelícula. Aunque se reconoce que la principal especie

productora es *Komagataeibacter xylinum*, se han identificado varias especies adicionales de BAA como productoras de celulosa (Villarreal-Soto *et al.*, 2020). Las especies de *K. xylinum* convierten la glucosa en glucosa-6-fosfato, lo que finalmente da lugar a la producción de uridina difosfo-glucosa (UDPGlc). Despues mediante la acción de la celulosa sintasa, la UDPGlc se transforma en celulosa (Laavanya *et al.*, 2021). La formación de fibrillas de celulosa y su ensamblaje en estructuras más elaboradas conduce a la creación de una nueva biopelícula en la superficie. A medida que avanza el período de fermentación, el espesor de esta biopelícula aumenta. Este fenómeno se relaciona con la adaptación del consorcio al sustrato y al medio de fermentación (Esa *et al.*, 2014).

### **2.5.3 Parámetros importantes en la fermentación de la kombucha**

La relevancia del tiempo durante el proceso de fermentación radica en que algunos compuestos son generados a través del tiempo, mientras que otros pueden degradarse. Consecuentemente, como resultado del tiempo de fermentación, el pH resultante puede variar entre 2.5 y 4.2 y tiende a descender de manera más rápida durante los tres primeros días debido a la producción de ácidos a través del metabolismo del cultivo inicial. Luego, los cambios en el pH se vuelven menos considerables de forma gradual (Muhialdin *et al.*, 2019). Un pH bajo presenta diversas ventajas después de la fermentación, entre ellas se incluyen la preservación de la bioactividad de los compuestos fenólicos y la protección de las bebidas fermentadas contra patógenos a los cuales es susceptible (Rahmani *et al.*, 2019). El proceso de fermentación generalmente tiene una duración de 7 a 10 días. Durante este período se logra obtener una bebida con un sabor afrutado y refrescante, así como ligeramente ácido, a diferencia del sabor a vinagre que se obtiene cuando la fermentación se extiende hasta los 14 días (Chakravorty *et al.*, 2019).

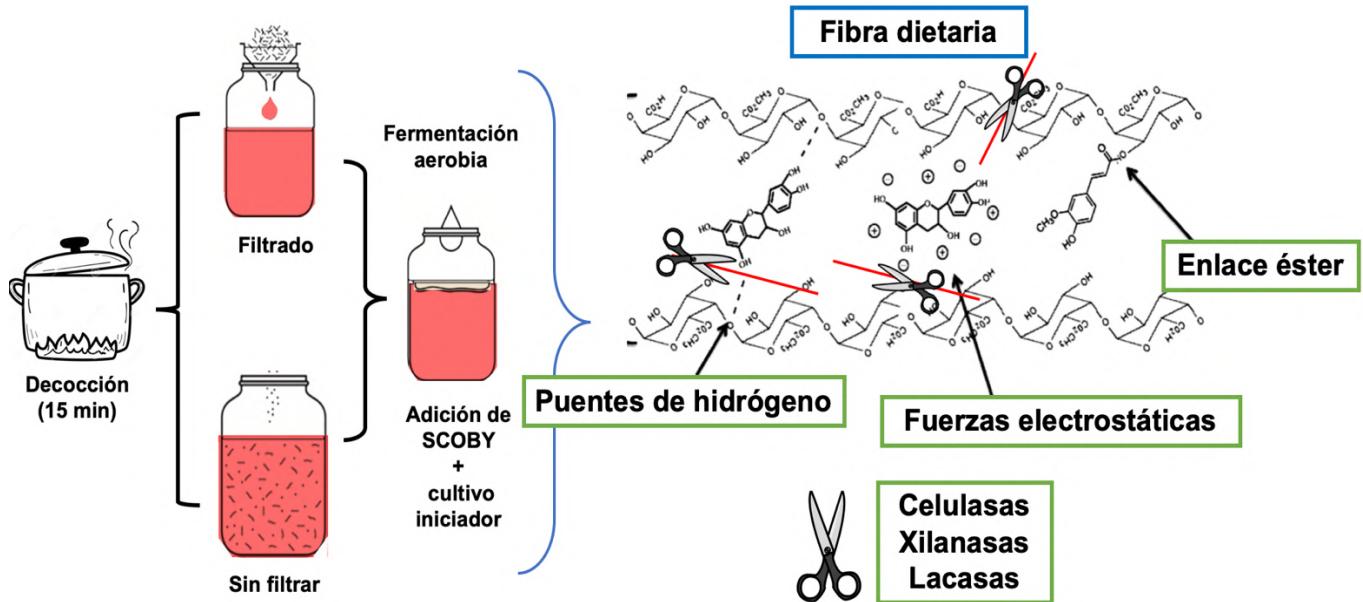
La temperatura es otro factor crítico a tener en cuenta en este proceso, recomendando mantenerla entre 20 y 30 °C para favorecer el crecimiento microbiano. Vitas *et al* (2013) señalaron que un intervalo de temperatura de 37 a 42 °C desempeña un papel fundamental en la mejora de la capacidad antioxidante de la bebida, lo que mejora el potencial funcional de la KOM. No obstante, es importante

tener en cuenta que una temperatura excesivamente alta puede propiciar el rápido crecimiento de levaduras en detrimento del crecimiento de bacterias, lo que resultaría en una bebida con problemas de calidad organoléptica (Tran *et al.*, 2020).

#### 2.5.4 Incremento en el contenido de compuestos fenólicos mediante la elaboración de KOM mediante un proceso no convencional

Durante la fermentación, el consorcio microbiano compuesto por BAL, BAA, bifidobacterias y levaduras puede aumentar las concentraciones de compuestos fenólicos como los ácidos gálico, vanílico, siringico, cafeico y ferúlico, así como compuestos como la catequina, la epicatequina y proantocianidinas, los cuales son producidos por hidrólisis de compuestos más complejos (Gaur & Gänzle, 2023). Adicionalmente, el aumento de la fracción de estos compuestos fenólicos extraíbles podría proceder de la hidrólisis de la fracción de compuestos fenólicos no extraíbles, los cuales se encuentran asociados a la fibra dietaria (Cerda-Cejudo *et al.*, 2023).

Esta fibra dietaria es otro componente de los subproductos y está compuesta principalmente por celulosa, hemicelulosa, lignina y pectina. En el proceso de fermentación el consorcio produce enzimas que pueden degradar la pared celular del



**Figura 5.** Liberación de los compuestos fenólicos en la KOM mediante el proceso de fermentación

Entre las enzimas biológicamente activas se incluyen las celulasas, las xilanases y las lacasas, las cuales tiene un efecto sobre la degradación de la fibra dietaria, obteniendo una estructura de red con un mayor número de poros y grietas (Chen *et al.*, 2020; Qin *et al.*, 2023). Estas modificaciones facilitan la extracción y difusión de los compuestos fenólicos a través de su liberación de vacuolas o paredes celulares y también pueden generar una mayor cantidad de fibra soluble (Cerda-Cejudo *et al.*, 2023).

De acuerdo con lo mencionado anteriormente, la elaboración de la KOM mediante un proceso no convencional —es decir, a partir de infusiones sin filtrar (Figura 5)— podría incrementar el contenido de compuestos fenólicos en la bebida resultante en comparación de cuado se parte de infusiones filtradas. Este efecto podría explicarse a través de tres mecanismos principales: (i) la descomposición estructural de la pared celular vegetal por acción de microorganismos presentes en el consorcio microbiano; (ii) la liberación de compuestos bioactivos ligados (compuestos fenólicos no extraíbles), mediada por enzimas hidrolíticas producidas durante la fermentación y, (iii) la síntesis de nuevos compuestos por parte de los propios microorganismos (Cano y Postigo *et al.*, 2021)

#### **2.5.5 Producción de análogos de kombucha a partir de subproductos agroindustriales**

En la industria de alimentos son generadas cantidades importantes de subproductos y residuos que tienen el potencial de convertirse en contaminantes ambientales (Sadh *et al.*, 2018). La biotransformación de estos subproductos en compuestos bioactivos y productos con valor agregado sigue siendo un desafío importante en la actualidad. En este contexto, la fermentación ha sido un enfoque histórico para la producción de alimentos funcionales de valor agregado utilizando microorganismos. Un ejemplo es el estudio realizado por Pure *et al.*, (2016), quienes evaluaron la cáscara de plátano (*Musa sapientum*) como sustrato para la preparación de análogos de KOM. Esta bebida fermentada presenta un contenido de compuestos fenólicos

más alto y una capacidad antioxidante significativamente mayor en comparación con la infusión de cáscara de plátano sin fermentar. Esto demostró el potencial de la fermentación para mejorar la calidad nutracéutica de los subproductos agrícolas.

Por otro lado, también se ha estudiado el uso del suero de soya (*Glycine max L.*), un subproducto del procesamiento de la soya, que contiene isoflavonas, proteínas, oligosacáridos y ácidos orgánicos. Tu *et al.*, (2019) reportaron que la fermentación de suero de soya proporciona tanto un sabor afrutado y floral, así como un aumento en la capacidad antioxidante y la actividad antimicrobiana en comparación con el suero no fermentado. La seda de maíz (*Stigmata maydis*), un subproducto agrícola, también se ha explorado como un sustrato alternativo. Wang *et al.*, (2021) desarrollaron una bebida con una alta capacidad antioxidante y valor nutricional al optimizar varios parámetros de fermentación, como el contenido inicial de azúcar, la inoculación del cultivo y la temperatura.

Por otro lado, se ha investigado el uso de efluentes de bodega de la producción de vino como sustrato de fermentación. Vukmanović *et al.*, (2020) utilizaron este efluente y obtuvieron un análogo de KOM con un sabor a vino. Esta bebida también presentó una alta capacidad antioxidante en comparación con la KOM a base de *C. sinensis*. Estudios complementarios de Vukmanović *et al.*, (2022) exploraron las propiedades antimicrobianas de este análogo de KOM, demostrando su efectividad contra bacterias Gram positivas y Gram negativas. Esta actividad antimicrobiana se intensificó a altas temperaturas y con un contenido de azúcar elevado.

Las hojas de *Ribes nigrum L.*, *Vaccinium myrtillus L.* , *Rubus fruticosus L.*, y *Fragaria vesca L.* son subproductos agroindustriales de las bayas y constituyen una fuente de valiosos compuestos bioactivos. Ziemlewska *et al.*, (2022) evaluaron los beneficios de la fermentación de los subproductos de bayas, encontrando una mayor capacidad antioxidante mediante los ensayos de ABTS y DPPH en comparación con las infusiones sin fermentar, mejorando el potencial funcional de la bebida.

#### **2.5.6 Efecto antibesogénico de la kombucha y sus análogos**

El potencial efecto antibesogénico de las bebidas tipo KOM es un tema de interés en la investigación sobre salud, alimentos y nutrición. Diversos estudios han sugerido

que ciertos componentes de la KOM, como los ácidos orgánicos y los compuestos fénolics, podrían ejercer propiedades beneficiosas para la salud, incluyendo efectos sobre el metabolismo de lípidos y la regulación del peso corporal (De Campos Costa *et al.*, 2021).

En un estudio preventivo se evaluó el efecto del consumo de la KOM en el control de la obesidad en ratones alimentados con una dieta hipercolesterolémica y, se observó una reducción del 14.6 % en el peso corporal de los animales que consumieron una KOM de té negro (5 g/L) después de 12 semanas de intervención. Además, en los animales disminuyó la proporción de tejido adiposo retroperitoneal en relación al peso corporal. Estos resultados indican un potencial efecto antiobesogénico asociado con el consumo de KOM, atribuido a una menor ingesta de alimentos por efecto de saciedad en los animales tratados con la bebida en comparación con aquellos que solo recibieron la dieta alta en colesterol (Yang *et al.*, 2009). En otro modelo experimental de dislipidemia inducida por una dieta alta en colesterol se encontraron resultados similares después de la administración de 5 mL/kg de peso corporal de KOM de té negro, observándose una reducción significativa en los niveles de colesterol total (26 %), TAG (27 %), LDL (36 %), VLDL (28 %) y un incremento de las concentraciones de HDL (Bellassoued *et al.* 2015).

Mientras que, Permatasari *et al* (2022) evaluaron los efectos de un análogo de KOM a base de uva de mar (*Caulerpa racemosa*) (25 g/L) en ratones alimentados con una dieta alta en grasa y colesterol (DAGC). El grupo que consumió la bebida preparada con uva de mar a una dosis de 150 mg/kg de peso corporal administrada durante 4 semanas mostró aumentos significativos en el colesterol HDL (63 %) y reducciones significativas en los niveles de colesterol total (65 %) y TAG (26 %), aunque no se observó mejora en los niveles de LDL. Dosis más altas de esta bebida, 300 mg/kg, intensificaron aún más los efectos sobre los niveles de triglicéridos, HDL y LDL. Además, se registró una reducción significativa del peso corporal (30 %) en comparación con el peso de los ratones alimentados con DAGC, lo que se asoció con la inhibición de la lipasa.

En un estudio bioinformático se examinaron los efectos de un análogo de KOM elaborado a partir de *Clitoria ternatea* (12 g/L), con el objetivo de identificar los

compuestos con potencial antibesogénico. Se identificaron un total de 79 compuestos, de los cuales se seleccionaron 13 para simular su interacción en el estudio de acoplamiento molecular *in silico* con enzimas como la lipasa pancreática humana, la  $\alpha$ -amilasa humana, la  $\alpha$ -glucosidasa humana y lipasa pancreática porcina. Compuestos como el kaempferol, la quercetina-3-O- $\beta$ -D-glucósido, la quercetina, la dibencilamina y la  $\alpha$ -pirrolidinopropiofenona fueron identificados con potencial antibesogénico (Hardinsyah *et al.*, 2023).

## **2.6 *Hibiscus sabdariffa* L.**

### **2.6.1 Características generales**

*Hibiscus sabdariffa* L., también conocida como roselle o jamaica en México, es una planta perenne perteneciente al género *Hibiscus* de la familia Malvaceae (Rodríguez-Romero *et al.*, 2023).

En nuestro país, los cálices de jamaica se emplean principalmente para elaborar una bebida refrescante de amplio consumo entre la población; por lo tanto, este es un cultivo de relevancia económica y cultural (Cauich *et al.*, 2020). Esta bebida se destaca por su distintivo sabor, así como por sus potenciales beneficios para la salud, ya que constituye una fuente fundamental de compuestos bioactivos (Rodríguez-Romero *et al.*, 2023).

### **2.6.2 Compuestos fitoquímicos**

Diversos estudios han explorado la presencia de compuestos fenólicos en diversos extractos de jamaica, evaluando los contenidos totales y estableciendo perfiles detallados de polifenoles. Se ha reportado un contenido total de polifenoles de 14 mg/g en los cálices de jamaica, 10 mg/g de flavonoides y de 5 mg/g de antocianinas en base seca (Herranz-López *et al.*, 2012).

Se ha comprobado que los extractos de cálices de jamaica contienen ácido protocatecoico (7.0 %), catequinas (9.9 %), epigalocatequina (10.2 %), epigalocatequina-3-galato (20.0 %) y ácido cafeico (18.0 %) en base seca (Alegbe *et al.*, 2019). Mediante el uso de técnicas avanzadas como la cromatografía líquida de ultra alta resolución acoplada a espectrometría de masas (UPLC-MS), se lograron identificar un total de 104 compuestos fenólicos, clasificados en distintas familias:

ácidos fenólicos (tanto hidroxibenzoicos como hidroxicinámicos), flavonoides (incluyendo flavonoles, flavanoles, flavonas, flavanonas y antocianinas), así como otros tipos de compuestos (Amaya-Cruz et al., 2017).

Las antocianinas son pigmentos solubles en agua en formas glicosiladas pertenecientes al grupo de los flavonoides, que confieren el color característicos a la flor de jamaica. La hibiscina, también conocida como cianidina-3-glucósido, fue la primera antocianina extraída de esta planta. Otra antocianina importante, la delfinidina-3-sambubiósido, es principalmente responsable de la capacidad antioxidante; además, se le atribuyen efectos hipocolesterolémicos y antihipertensivos a esta antocianina (Izquierdo-Vega et al., 2020).

### **2.6.3 Subproducto de *Hibiscus sabdariffa* L.**

El aumento en la producción y consumo de bebidas de cálices de jamaica genera una cantidad considerable de subproductos, así como, grandes cantidades de cálices rotos sin valor comercial (Solangi et al., 2017).

De acuerdo a Sáyago-Ayerdi et al., (2013), los residuos de decocción de diferentes cultivares de jamaica son ricos en fibra dietética (40.0 - 45.7 g) y proteínas (4.9 - 12.3 g), con un contenido especialmente significativo de polifenoles (50 - 130 mg) por cada 100 g de subproducto en base seca.

En el perfil específico de compuestos fenólicos de este subproducto se identificaron un total de 31 compuestos, incluyendo 10 ácidos hidroxicinámicos, como el ácido elágico, y varios derivados del ácido cafeico y ácido ferúlico; 1 ácido hidroxibenzoico, ácido gálico; 9 flavonoles como los aglicones de miricetina, quercetina y kaempferol, así como varios glucósidos de estos compuestos y 11 antocianinas derivados de cianidina, pelargonidina y delfinidina (Amaya-Cruz et al., 2019)

Al cuantificar las antocianinas en el subproducto se reportó que la cianidina-3-O-rutinósido y la delfinidina-3-O-sambubiósido representan el 95 % del contenido total de antocianinas, un valor similar al encontrado en los cálices. Al comparar el contenido individual de las antocianinas de los cálices de jamaica con su subproducto se observó una disminución del 62 % para la cianidina-3-O-rutinósido y del 60 % para la delfinidina-3-O-sambubiósido (Amaya-Cruz et al., 2017)

En otro estudio también se identificó que alrededor del 58 % de los compuestos fenólicos quedan retenidos en los cálices de jamaica tras el proceso de decocción. Se encontró que en los cálices y en el subproducto existe una concentración de compuestos fenólicos de 25.05 y 14.82 mg equivalentes de ácido gálico/g, flavonoides totales de 10.87 y 7.91 mg equivalentes de rutina/g, antocianinas de 2.24 y 1.29 mg equivalentes de cianidina 3-O-glucósido/g y proantocianidinas de 2.41 y 2.60 mg proantocianidinas/g, respectivamente (Serna-Tenorio *et al.*, 2023)

#### **2.6.4 Beneficios a la salud del consumo de *Hibiscus sabdariffa* L. y su subproducto**

Se ha reportado que los extractos acuosos de cálices de jamaica tiene acción diurética, antiinflamatoria, además disminuye la hipertensión, el colesterol y el peso corporal (Rodríguez-Romero *et al.*, 2023).

La decocción de los cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. de la variedad criolla fue evaluada al 3 % (p/v) en un modelo preventivo de ratas alimentadas con una dieta alta en grasas y fructosa (DAGF). La suplementación con la bebida disminuyó la ganancia de peso corporal en un 8.9 % en comparación con los animales alimentados con la dieta DAGF (Morales-Luna *et al.*, 2018).

Otro estudio también evaluó el efecto del consumo de los extractos acuosos al 3 % (p/v) de cálices de jamaica cuarenteña color púrpura en ratas alimentadas con una DAGF. Después de dieciséis semanas de tratamiento preventivo, se reportó que disminuyó el peso corporal en un 9 %. Además, se observó un menor valor del índice HOMA-IR, el cual estima la RI, con reducciones del 33.4 % comparado con el grupo alimentado con la DAGF (Rangel-García *et al.*, 2022).

Por otro lado, los beneficios a la salud de los cálices de jamaica y su subproducto fueron evaluado en ratas alimentadas con una dieta hipercalórica y suplementadas con 10.1 g de cálices de jamaica y 6.2 g de subproducto de cálices de jamaica (equivalente a 4 % de fibra dietaria) por cada 100 g de DAGF. El consumo de subproducto de jamaica produjo resultados similares a los del cáliz de jamaica en la

reducción del peso corporal (10 % y 14 %) , la hipertrofia de adipocitos (17 % y 13 %) y la RI (48 % y 59 %), respectivamente (Amaya-Cruz *et al.*, 2019).

Finalmente, en un estudio de intervención, triple ciego, aleatorizado y controlado con placebo se asignaron de forma aleatoria 90 adolescentes obesos de 12 a 18 años con dislipidemia. Durante un mes, un grupo recibió 2 g de polvo fino de cálices de jamaica al día; mientras que, el otro grupo recibió un placebo en polvo. Los resultados mostraron una disminución estadísticamente significativa del 10 % en los niveles de colesterol y TAG en el grupo que recibió suplementación con cálix de jamaica, en comparación con los niveles al inicio del estudio clínico (Sabzghabaee *et al.*, 2013).

La literatura existente no reporta estudios que evalúen el efecto antiobesogénico o los problemas asociados con la suplementación de análogos de kombucha elaborados a partir de cálices de jamaica y su subprodcto. Esta información destaca una clara oportunidad para desarrollar bebidas fermentadas a partir de los cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. y evaluar sus posibles beneficios relacionados con la obesidad.

### 3. JUSTIFICACIÓN

México enfrenta una preocupante prevalencia de sobrepeso y obesidad, afectando a más del 70 % de los adultos y al 30 % de la población joven. Anualmente, se vinculan aproximadamente 200 mil muertes a estas condiciones, que incrementan el riesgo de DM2 y enfermedades cardiovasculares. Ante los efectos adversos del consumo de bebidas altamente calóricas ha surgido un interés en alternativas más saludables, destacando el incremento en el consumo de bebidas fermentadas como la KOM, conocida por sus múltiples beneficios para la salud.

A pesar de la popularidad de las bebidas fermentadas, la falta de opciones específicas con propiedades antiobesogénicas representa una oportunidad de innovación. En base a lo anterior, existe un creciente interés en explorar plantas alternativas al té negro para producir análogos de KOM con diferentes perfiles fitoquímicos, lo que podría resultar en la producción de bebidas funcionales con propiedades sensoriales aceptables. En este contexto, tanto los cálices de jamaica y su subproducto emergen como una opción prometedora, ya que poseen un alto contenido de compuestos bioactivos, en particular compuestos fenólicos y ácidos orgánicos, que han mostrado beneficios para la salud, incluyendo la capacidad de controlar la obesidad, además de ser una matriz culturalmente aceptable.

La elaboración de un análogo de KOM a partir de jamaica y su subproducto permite comparar el efecto del contenido del sustrato sobre la liberación y biotransformación de compuestos fenólicos durante la fermentación. Además, el uso de infusiones sin filtrar puede favorecer la disponibilidad de compuestos fenólicos no extraíbles mediante mecanismos enzimáticos microbianos.

Con base a lo anterior, este proyecto plantea desarrollar análogos de KOM con potencial para el control de la obesidad a partir de cálices de jamaica y su subproducto, ofreciendo a los consumidores una bebida alternativa saludable. Finalmente, el objetivo del desarrollo de estos productos podría contribuir al Pronace de Salud y alinearse con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), específicamente Salud y Bienestar (ODS 3), así como Producción y Consumo Responsables (ODS 12).

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general.

Desarrollar un análogo de kombucha utilizando un extracto acuoso de *Hibiscus sabdariffa* L. y su subproducto y evaluar su efecto preclínico en el control de la obesidad y sus alteraciones metabólicas asociadas.

### 4.2 Objetivos específicos.

1. Evaluar el efecto del proceso de fermentación sobre las propiedades fisicoquímicas y fitoquímicas de bebidas tipo kombucha a base de un extracto acuoso de *Hibiscus sabdariffa* L. y su subproducto.
2. Determinar la inocuidad y aceptabilidad sensorial de las bebidas que cumplan con los criterios de una kombucha.
3. Caracterizar el contenido de compuestos fenólicos de las bebidas aceptadas sensorialmente.
4. Evaluar el efecto de las bebidas con mayor aceptabilidad en el control de la obesidad y alteraciones metabólicas utilizando un modelo *in vivo*.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

A continuación se presenta la estrategia experimental de forma general que se empleó para abordar el presente proyecto de investigación (Figura 8). Esta estrategia fue diseñada para responder a cada uno de los objetivos específicos y se encuentra estructurada en seis fases distintas.

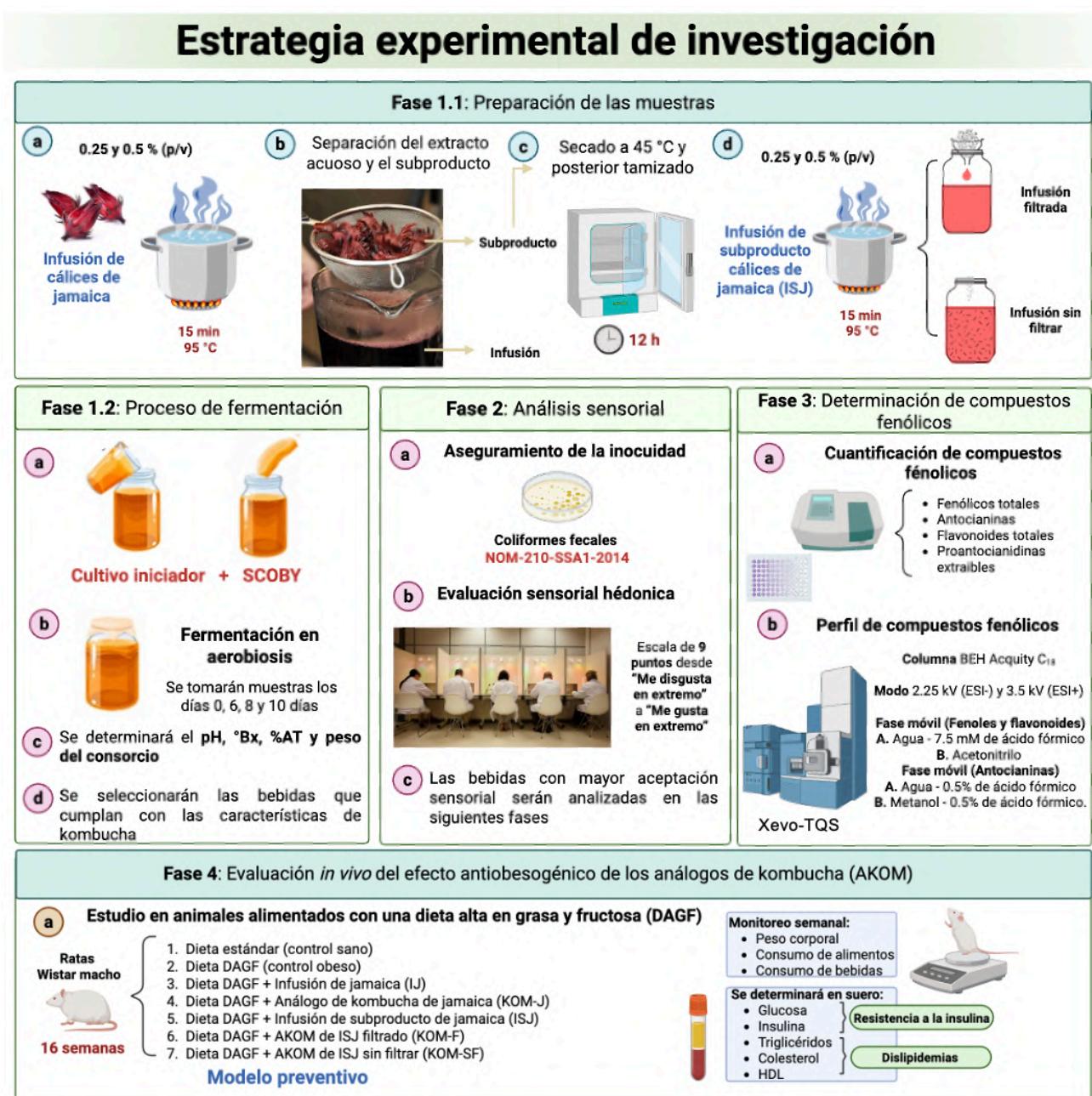


Figura 6. Estrategia experimental del proyecto de investigación.

## 5.1 Materiales

### 5.1.1. Material vegetal

Los cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. de la variedad criolla se obtuvieron de productores locales de Amuco, Guerrero.

### 5.1.2. Material biológico

El SCOPY fue donado por el Laboratorio Nacional Conahcyt de Apoyo a la Evaluación de Productos Bióticos del Tecnológico Nacional de México *campus* Instituto Tecnológico de Durango (LaNAEPBi-TecNM/ITD) a cargo de la Dra. Nuria Elizabeth Rocha Guzmán.

Para el experimento *in vivo* se adquirieron 56 ratas Wistar macho con un peso corporal de  $160 \pm 20$  g, provenientes del bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM, Campus Juriquilla. Las ratas se distribuyeron en 7 grupos, cada uno integrado por 8 animales, siguiendo las recomendaciones de Zhang & Hartmann (2023). Este tamaño de muestra garantizó un valor estadístico suficiente, respetó las consideraciones éticas al minimizar el número de animales utilizados, mantuvo la replicabilidad y la fiabilidad de los resultados y redujo la variabilidad para obtener estimaciones más precisas. Las ratas fueron alojadas individualmente en jaulas de acero inoxidable de  $258 \text{ cm}^2$ , con entrada de luz y ventilación, dentro del bioterio del Posgrado en Alimentos de la Facultad de Química. Durante todo el experimento, se mantuvieron bajo condiciones ambientales controladas: humedad relativa del  $50 \pm 10$  %, temperatura de  $23 \pm 2$  °C y ciclos de luz-oscuridad de 12 horas. Durante una semana de aclimatación, los animales recibieron libre acceso a agua potable y una dieta estándar (Rodent Diet 5001, Purina®, St. Louis, MO, EE. UU.), de acuerdo con lo estipulado en la NOM-062-ZOO-1999. La limpieza de bebederos y comederos se realizó cada tres días, mientras que las jaulas fueron aseadas semanalmente.

## 5.2 Métodos

### 5.2.1 Preparación de las muestras

Se siguió la técnica descrita por Serna-Tenorio *et al.*, (2023) con algunas modificaciones. Los cálices secos de *Hibiscus sabdariffa* L. se desinfectaron con

hipoclorito de sodio (100 ppm) por inmersión durante 10 min y después se filtraron por decantación. Posteriormente, se preparó el primer extracto acuoso al 0.25 y 0.5 % (p/v) de los cálices de jamaica durante 10 min. Después, se separó por filtración el extracto acuoso (infusión o decocción) de los cálices utilizados (subproducto). El subproducto se secó a 45 °C durante 48 h en un horno de circulación forzada (BF 400, Binder, Alemania). El subproducto obtenido se utilizó para preparar el extracto acuoso 2, como se describió anteriormente. De cada uno de los extractos del subproducto se prepararon dos lotes: uno filtrado y el otro sin filtrar.

### 5.2.2 Elaboración del análogo de kombucha (KOM)

La preparación de la KOM siguió el procedimiento de Sariñana-Núñez *et al.*, (2024), con ciertas adaptaciones. Para los extractos preparados se utilizaron tres concentraciones de sacarosa (6 %, 8 % y 10 % p/v), como se indica en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Diseño para establecer condiciones de fermentación para la producción de análogos de KOM

Ensayo	Sustrato (cálix de jamaica o subproducto) <sup>1</sup>	Sacarosa (g)	SCOBY (g)	Cultivo Iniciador (mL)	Temperatura (°C)
1	2.5 g	60	25	100	25
2		80			
3		100			
4	5 g	60			
5		80			
6		100			

<sup>1</sup>La decocción o infusión se preparó en 1 L de agua

Se agregaron 100 mL de cultivo iniciador (proveniente de una fermentación previa de 7 días de té negro) y 25 g del consorcio de bacterias y levaduras (SCOBY) por cada litro de decocción. La fermentación se realizó en aerobiosis a 25 °C utilizando recipientes de vidrio y, se tomaron muestras para análisis en los días 0, 1, 3, 5, 7 y 9 para cada ensayo experimental. Las variables respuesta fueron el pH, la acidez titulable, °Brix, el rendimiento de la biopelícula y la concentración de azúcares reductores.

### 5.2.3 Propiedades fisicoquímicas de los análogos de kombucha

#### 5.2.3.1 pH

La determinación del pH se llevó a cabo siguiendo los lineamientos establecidos en la norma NMX-F-317-S-1978, correspondiente a la medición de pH en alimentos. Para ello, se utilizó un potenciómetro equipado con electrodo de vidrio (Horiba F-74BW, Kyoto, Japón).

#### 5.2.3.2 Acidez titulable

La acidez titulable se determinó siguiendo el método potenciométrico descrito en la norma AOAC 942.15. Para ello, se titularon 10 mL de cada muestra con una solución de hidróxido de sodio (0.1 M) hasta alcanzar un pH final de 8.1. El porcentaje de acidez titulable se obtuvo aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Acidez titulable} = \frac{(V_{NaOH}) \times (M_{NaOH}) \times (F_{\text{ácido acético}})}{(C_{NaOH}) \times (V_{\text{muestra}})} \times 100\%$$

Donde:

$V_{NaOH}$  = Volumen de gasto de la solución de  $NaOH$  estandarizada (mL)

$M_{NaOH}$  = Concentración molar de la solución de  $NaOH$  estandarizada

$F_{\text{ácido acético}}$  = Equivalencia del ácido mayoritario (0.060 para ácido acético)

$C_{NaOH}$  = Concentración molar ideal de la solución de  $NaOH$  (0.1M)

$V_{\text{muestra}}$  = volumen de la muestra (mL)

#### 5.2.3.3 Sólidos solubles

La cuantificación de los sólidos solubles totales se llevó a cabo conforme al procedimiento establecido en la norma AOAC 932.12, aplicable a frutas y sus derivados. Se utilizó un refractómetro digital (Hanna Instruments HI 96801, Woonsocket, RI, EE. UU.) para realizar las mediciones.

#### 5.2.3.4 Azúcares reductores

Para el análisis, se mezclaron 0.5 mL del reactivo de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) con 0.5 mL de cada muestra de bebida en tubos de ensayo. Posteriormente, los tubos fueron calentados en un baño maría en ebullición durante 10 minutos y enfriados durante 10 minutos adicionales a 4 °C utilizando un baño de agua con hielo. Una vez alcanzada la temperatura adecuada, se registró la absorbancia a 540 nm empleando un espectrofotómetro de microplacas (Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific,

Waltham, MA, EE. UU.). Los resultados se obtuvieron a partir de una curva estándar de glucosa (rango de 0.5 a 2.5 g/L) y se expresaron como miligramos de glucosa por mililitro de muestra (Miller, 1959).

#### **5.2.3.5 Rendimiento del consorcio microbiano**

La biopelícula de celulosa flotante en la superficie del líquido fermentado se retiró y se secó con papel filtro para su pesado. El rendimiento de la celulosa microbiana obtenida se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Rendimiento} = (\text{Peso}_{\text{final}} \text{ de la biopelícula} \times 100) / (\text{Peso}_{\text{inicial}} \text{ de la biopelícula})$$

#### **5.2.4 Análisis microbiológicos en las bebidas**

Se llevó a cabo un análisis microbiológico de las bebidas que cumplieron con los parámetros fisicoquímicos definidos para una bebida tipo KOM. Esto incluyó un pH cercano a 3, una acidez titulable de alrededor de 4 g/L, grados Brix entre 8 y 9, un contenido de azúcares reductores entre 5 y 7 mg/mL y un rendimiento del consorcio microbiano superior al 400 % (Jayabalan *et al.*, 2007; Malbaša *et al.*, 2008; Khosravi *et al.*, 2019; Jakubczyk *et al.*, 2020; Nyhan *et al.*, 2022; Sariñana-Núñez *et al.*, 2024; Tu *et al.*, 2024;). Con el objetivo de asegurar la inocuidad de las bebidas, se realizaron análisis microbiológicos específicos. La cuantificación de mesófilos aerobios se efectuó conforme a lo establecido en la NOM-110-SSA1-1994; la de coliformes totales, siguiendo la NOM-210-SSA1-2014; y la de mohos y levaduras mediante el método de diluciones seriadas y vaciado en placa, también con base en la NOM-110-SSA1-1994. Estas determinaciones fueron llevadas a cabo en el Laboratorio para la Evaluación y Control de Riesgos Microbianos en Alimentos (LECRIMA) de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro, el cual cuenta con las certificaciones pertinentes. El informe correspondiente se encuentra en el Anexo 1.

#### **5.2.5 Evaluación sensorial**

Se llevó a cabo una evaluación sensorial de tipo afectiva para medir la aceptación y preferencia, utilizando un panel conformado por personas de entre 18 y 35 años pertenecientes a la comunidad de la Universidad Autónoma de Querétaro. Esta

actividad fue clasificada como de riesgo mínimo (Riesgo B). Se valoraron atributos como sabor, color, aroma, acidez y dulzor en tres bebidas seleccionadas con base en sus propiedades fisicoquímicas. La convocatoria de participantes se realizó a través de una invitación difundida en redes sociales (ver Anexo 2). Se excluyeron aquellas personas bajo tratamiento médico, con alteraciones en la percepción del gusto, embarazadas o con alergias o intolerancias a los ingredientes utilizados.

En total, participaron 50 panelistas no entrenados, con paridad de género, conforme a lo sugerido por Drake et al. (2023), quienes señalan que para lograr datos estadísticamente confiables y reproducibles, el número ideal de evaluadores no entrenados oscila entre 40 y 80, ya que son consumidores comunes sin formación previa en análisis sensorial. Antes de iniciar la prueba, se les leyó el consentimiento informado, detallando los posibles riesgos asociados con su participación voluntaria en el estudio (ver Anexo 3). Si no existía ninguna inconformidad, las personas firmaban el consentimiento informado y se procedía con la prueba de aceptación, la cual tuvo un periodo máximo de 15 min. De igual forma, se contempló que el participante pudiera hacer uso de la revocación del consentimiento informado (Anexo 4) cuando lo considerara pertinente o deseara abandonar el estudio. En caso de presentar algún malestar derivado de la evaluación, el participante era excluido del estudio y acompañado a los servicios médicos correspondientes. Sin embargo, no se presentó ninguna situación de este tipo durante el estudio.

Para la evaluación se utilizó una escala hedónica de 9 puntos, donde 1 correspondía a "me disgusta muchísimo" y 9 a "me gusta muchísimo" (Anexo 5). Esta prueba se realizó en el Laboratorio de Evaluación Sensorial, ubicado en el CAIDEP (segundo piso del Parque Biotecnológico), y estuvo a cargo del IQ. en Al. Raúl Herrera Jr., estudiante de la Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, bajo la supervisión de la Dra. Rosalía Reynoso Camacho. La realización de esta prueba consideró los principios éticos establecidos en la Declaración de Helsinki, la Ley General de Salud de México y las directrices del Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS). Se garantizó que los participantes comprendieran plenamente y aceptaran de manera voluntaria su inclusión en el estudio, así como su derecho a retirarse en cualquier momento. El personal responsable de la

ejecución del ensayo contaba con certificaciones en ética de la investigación. Se protegió la confidencialidad y seguridad de los datos personales de los participantes. Asimismo, se veló por la ética del estudio, asegurando que los riesgos mínimos estuvieran justificados por los posibles beneficios. Este protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad Autónoma de Querétaro (Querétaro, México) bajo el número de registro CBQ24\_066b.

### **5.2.6 Cuantificación y caracterización de compuestos fenólicos**

#### **5.2.6.1 Compuestos fenólicos totales**

La cuantificación de los compuestos fenólicos totales se realizó empleando el método de Folin-Ciocalteu. Para ello, en una microplaca se mezclaron 30  $\mu$ L de agua destilada con 20  $\mu$ L de la muestra de bebida y 25  $\mu$ L de reactivo Folin-Ciocalteu (1 N). Después de un reposo de 5 minutos, se añadió 125  $\mu$ L de una solución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 5 %. La mezcla fue agitada durante 30 minutos y posteriormente se midió la absorbancia a 765 nm mediante un espectrofotómetro de microplacas (Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.).

La determinación cuantitativa se realizó con base en una curva de calibración preparada con ácido gálico (0.1 mg/mL) como estándar, y los resultados se expresaron en miligramos de equivalentes de ácido gálico (EAG) por mililitro de bebida (Singleton et al., 1999)

#### **5.2.6.2 Flavonoides totales**

Se combinaron 40  $\mu$ L de las muestras de bebida con 7.5  $\mu$ L de una solución al 5 % de nitrito de sodio, 50  $\mu$ L de hidróxido de sodio 1 M y 15  $\mu$ L de cloruro de aluminio al 10 %. La mezcla se completó con agua desionizada hasta un volumen total de 250  $\mu$ L. Tras un tiempo de incubación de 30 minutos a temperatura ambiente, se registró la absorbancia a 510 nm utilizando un espectrofotómetro de microplacas (Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.).

La cuantificación se realizó mediante una curva de calibración basada en una solución estándar de (+)-catequina (1 mg/mL), y los resultados se expresaron como miligramos de equivalentes de catequina (EC) por mililitro de bebida (Heimler et al., 2006).

### 5.2.6.3 Antocianinas monoméricas

La cuantificación de antocianinas monoméricas se llevó a cabo mediante el método de pH diferencial descrito por Giusti y Wrolstad (2001). En cada pozo de una microplaca se añadieron 175  $\mu$ L de una solución tampón (KCl 0.025 N a pH 1.0 y  $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  0.4 M a pH 4.5) junto con 50  $\mu$ L de la muestra de bebida. Se registraron las absorbancias a 510 nm y 700 nm utilizando un espectrofotómetro de microplacas (Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.).

El cálculo del contenido de antocianinas se basó en la diferencia entre las absorbancias a ambas longitudes de onda y pH, tomando en cuenta el factor de dilución, el coeficiente de extinción molar de la cianidina-3-glucósido (269,000 L/mol·cm), su peso molecular (449.2 g/mol) y la longitud del camino óptico (0.7 cm). Los resultados se expresaron como miligramos de equivalentes de cianidina-3-glucósido por mililitro de bebida. Las fórmulas utilizadas se presentan a continuación:

$$\text{Abs}_{\text{total}} = [(\text{Abs}_{510 \text{ nm}} - \text{Abs}_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1} - (\text{Abs}_{510 \text{ nm}} - \text{Abs}_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 4.5}]$$

$$\text{Antocianinas monoméricas} = \frac{\text{Abs} * \text{PM} * 1000 * \text{factor de dilución}}{\epsilon * \text{distancia}}$$

Donde:

PM= Peso molecular de la antocianina mayoritaria.

$\epsilon$ = Coeficiente de extinción molar.

Distancia= Altura del pozo o longitud del paso óptico.

### 5.2.6.4 Proantocianidinas extraíbles (EPA)

La determinación de proantocianidinas extraíbles se realizó hidrolizando la bebida. Se utilizaron 5 mL de la bebida y se completó el volumen a 10 mL con una solución de butanol/HCl/FeCl<sub>3</sub> (1.17 g de FeCl<sub>3</sub> disueltos en 25 mL de HCl y aforados a 1 L con butanol). Posteriormente, se llevó a cabo una hidrólisis a 100 °C durante 1 h. En una microplaca se añadieron 100  $\mu$ L del extracto hidrolizado y se determinaron las absorbancias a 450 nm y 555 nm utilizando un espectrofotómetro de microplacas (Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.). Los resultados se expresaron como mg de proantocianidinas (PA) por mL de bebida, empleando una curva estándar reportada por los autores del método (Zurita *et al.*, 2012).

### 5.2.6.5 Perfil de compuestos polifenólicos por UPLC-ESI-QqQ

Las muestras fueron procesadas y analizadas en el LaNAEPBi-TecNM/ITD, específicamente en su unidad de servicio del Laboratorio de Química de Productos Naturales. Se sometieron a una microextracción líquido-líquido de acuerdo a lo reportado por Sariñana-Núñez *et al.*, (2024). Para ello se tomó 1mL de cada bebida, se le adicionó 500µL de acetato de etilo, se homogeneizó por ultraturrax por 1 min. Posteriormente, se centrifugó para separar la fase orgánica, se repitió la microextracción hasta tener 1mL de fase orgánica, la cual fue llevada a sequedad y resuspendida en 200µL de metanol, para ser filtrada e inyectarse 10µL.

Las muestras se analizaron mediante inyección en una columna BEH Acquity C18 (2.1 x 100 mm, 1.7 µm) mantenida a 35 °C. Para el análisis del perfil fenólico y flavonoide se utilizó una elución en gradiente, empleando como fase móvil A una solución acuosa con 7.5 mM de ácido fórmico, y como fase móvil B acetonitrilo, con un flujo constante de 0.25 mL/min. El programa de gradiente consistió en: 3% de fase B al inicio (0.00 min), 9% a los 1.23 min, 16% a los 3.82 min, 50% a los 11.40 min, y retorno al 3% a los 13.24 min, seguido de una fase de reequilibrio del sistema durante 1.76 minutos. Los espectros UV/Vis se registraron en el rango de 240 a 560 nm. Para la exploración de ácidos fenólicos, se empleó un rango de masas entre los 60 a 800 Da, considerando la diversidad estructural y las posibles glucosilaciones en este grupo de compuestos. En el caso de los flavonoides, el radar se programó de 50 a los 650 Da, considerando posibles derivados conjugados. El análisis se realizó utilizando modo de ionización por electrospray (ESI) en fase negativa, dado que esta polaridad optimiza la ionización de compuestos con grupos carboxílicos y fenólicos, mejorando la sensibilidad y la eficiencia de detección. Se utilizó una temperatura de fuente de 150 °C, un voltaje de capilar de 2.25kV, un voltaje de cono de 20 V, la temperatura de desolvatación de 400 °C, un flujo de gas de desolvatación de 800 L/min, un flujo de gas de colisión de 0.1mL/min, energía de colisión de 5.0 en modo MS y de 26.0 en modo MS/MS.

Para la determinación de antocianinas la separación cromatográfica se llevó a cabo en una columna BEH Acquity C18 (2.1 x 100 mm, 1.7 µm) operada a 40 °C. La fase

móvil consistió en agua con 0.5% de ácido fórmico (fase A) y metanol con 0.5% de ácido fórmico (fase B). El gradiente de elución se estableció iniciando con 1% de fase B, aumentando a 2% en el minuto 1.00, a 5% en el minuto 1.05, a 10% en el minuto 4.00, y a 28% en el minuto 6.00, manteniéndose en 28% hasta el minuto 9.00. Posteriormente, se incrementó a 45% en el minuto 11.00 y a 99% en el minuto 13.30, retornando a 1% en el minuto 13.50, seguido de una fase de estabilización hasta completar 15 minutos de corrida. La velocidad de flujo se fijó en 0.25 mL/min y se inyectaron 10  $\mu$ L de cada muestra preparada. El análisis se realizó utilizando modo de ionización por electrospray (ESI) en fase positiva, dado que esta polaridad optimiza la ionización de antocianinas debido a su estructura catiónica, lo que mejora la sensibilidad y la eficiencia de detección. Se utilizó una temperatura de fuente de 120 °C, un voltaje de capilar de 3.5kV, un voltaje de cono de 30 V, la temperatura de desolvatación de 450 °C, un flujo de gas de desolvatación de 500 L/min, un flujo de gas de colisión de 0.1mL/min, energía de colisión de 5.0 en modo MS y de 20.0 en modo MS/MS.

Para todos los casos la cuantificación de los compuestos fenólicos se realizó por medio de curvas de calibración utilizando estándares comerciales (ácido gálico, (-)-epicatequina, catequina, quercetina, ácido elágico, ácido clorogénico, ácido p-cumárico, ácido rosmarínico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido 2-hidroxibenzoico, ácido 2,5-dihidroxibenzoico, rutina, ácido protocatecoico, ácido ferúlico, epicatequina galato, cianidina 3 glucósido, cianidina 3-O-6-piruvilglucósido entre otros). El procesamiento de los datos se realizó utilizando el software MassLinx (Waters Co.). En el caso de compuestos sin estándar comercial disponible, la cuantificación se realizó de forma putativa, basándose en la coincidencia de masas nominales del ion precursor y sus fragmentos característicos, los cuales fueron comparados con datos bibliográficos y bibliotecas espectrales. Dado que el sistema de análisis cuenta con un triple cuadrupolo, fue posible monitorear transiciones específicas de MRM que resultaron coincidentes en cuanto a perfil de fragmentación, lo cual permitió realizar una anotación confiable de estos compuestos. En este contexto, las identificaciones se consideran de Nivel 2 conforme a los criterios del Metabolomics Standards

Initiative (MSI), al no haberse confirmado con estándares puros, pero sí presentar alta probabilidad estructural.

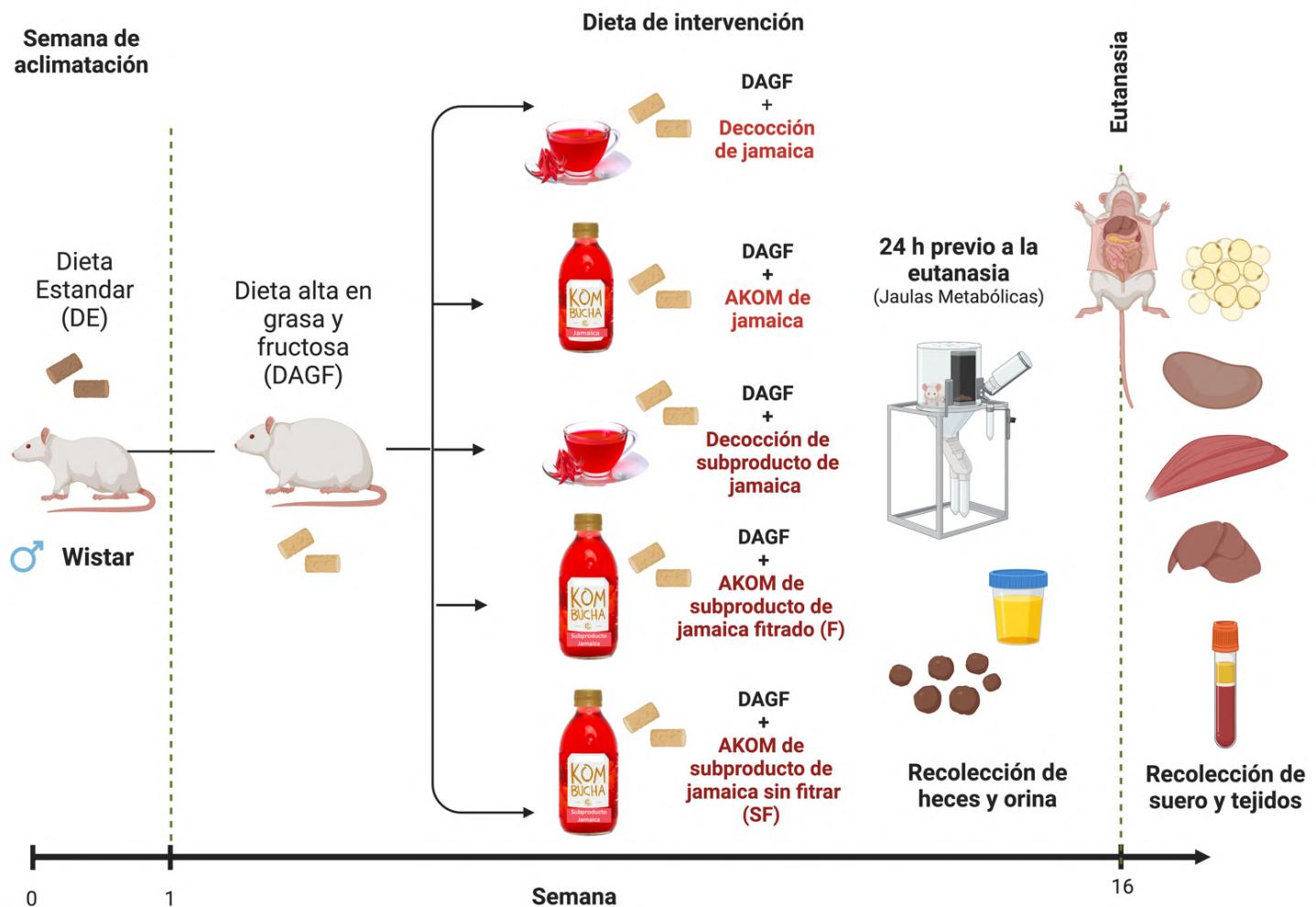
### **5.2.7 Evaluación antiobesogénica *in vivo* de los KOM**

#### **5.2.7.1 Aclimatación de los animales**

Las ratas estuvieron en un periodo de aclimatación de una semana en el bioterio, bajo las condiciones descritas en la sección 5.1.2, con acceso libre a alimento y agua potable. La identificación de cada animal se realizó mediante la aplicación de un rotulador con tinta segura para la piel, método no invasivo que minimiza el estrés y el dolor. Todos los procedimientos se ejecutaron conforme a las Regulaciones Federales para la Experimentación y Cuidado de Animales (SAGARPA, NOM-062-ZOO-1999, México). Este protocolo contó con la aprobación del Comité de Bioética de la Universidad Autónoma de Querétaro (Querétaro, México) con el número de registro CBQ24\_066b

#### **5.2.7.2 Tratamiento y registro de peso corporal**

Después de la semana de aclimatación, se formaron siete grupos experimentales de ocho animales cada uno (Figura 7). El control sano se alimentó con la dieta estándar Rodent Diet 5001 Purina® (DE) y el control obeso se alimentó con una dieta alta en grasa y fructosa (DAGF). Cinco grupos más recibieron tratamientos preventivos: uno fue alimentado con DAGF más la infusión de cálices de jamaica (1), análogo de kombucha elaborada a partir de cálices de jamaica (2), infusión del subproducto (3), análogo de kombucha del subproducto de jamaica sin filtrar (4) y análogo de kombucha del subproducto de jamaica filtrado (5).



**Figura 7.** Diseño de los grupos experimentales para la evaluación de las bebidas tipo kombucha sobre el control de la obesidad

Las composiciones nutricionales de la dieta estándar (DE) y la dieta alta en grasa y fructosa (DAGF) se presentan en el Cuadro 2. La dieta DAGF fue formulada con un 60 % de dieta estándar, 20 % de grasa, 20 % de fructosa, y se le añadieron vitaminas (0.12 %) y minerales (2.8 %). La elaboración de las dietas se realizó semanalmente, siguiendo las buenas prácticas de manufactura establecidas en la norma NOM-251-SSA1-2009. La preparación tuvo lugar en el área designada para alimentos en el laboratorio de Bioquímica Molecular, ubicado en la planta baja.

**Cuadro 2.** Contenido nutrimental de las dietas para el estudio *in vivo*

Nutrientes	Dieta estándar (DE)	Dieta alta en grasa y fructosa (DAGF)
Proteínas	24.1 %	14.4 %
Carbohidratos	53.9 %	32.3 %
*Fructosa	0 %	20 %
Lípidos	11.4 %	6 %
*Grasa	0 %	20 %
Minerales	7 %	7 %
Vitaminas	0.3 %	0.3 %

Durante todo el experimento, los grupos de animales que recibieron el tratamiento preventivo consumieron la DAGF y las bebidas se colocaron en el bebedero a una dosis de 12.5 mL/kg (equivalente a una porción de 120 mL para consumo humano) y se administraron durante su período de actividad hasta que los animales consumieron el total de la bebida y después consumían agua potable. Los lotes de estas bebidas se prepararon cada dos semanas y se mantuvieron almacenadas a 4 °C durante este periodo. El peso corporal se monitoreó semanalmente, el consumo de alimentos se registró dos veces por semana y el consumo de la bebida se anotó diariamente para todos los grupos experimentales. El grado de molestia y estrés que se causó a los animales se clasificó en tipo C, que se refiere a la administración de productos inocuos, con molestias mínimas.

#### **5.2.7.3 Eutanasia y recolección de muestras**

El estudio *in vivo* se llevó a cabo durante al menos 16 semanas, ya que en este periodo los animales del grupo control obeso alimentados con la DAGF (dieta alta en grasa y fructosa) alcanzaron un peso corporal superior al 15 % comparado con el peso de los animales del grupo control sano. Se ha reportado que los tratamientos que disminuyen la ganancia de peso corporal alrededor del 10 % son considerados eficaces para la prevención de la obesidad (Salas-Salvadó *et al.*, 2007). Por lo tanto, era necesario aumentar al menos el 15 % del peso corporal de los animales

alimentados con DAGF. Nuestro grupo de investigación reportó incrementos del 22 % en el peso de ratas después de 10 semanas de alimentación con la DAGF (Morales-Luna *et al.*, 2018).

En este estudio también se planteó evaluar la prevención de la RI y, de acuerdo con los resultados de nuestro grupo de trabajo, la RI se estableció en ratas Wistar después de 16 semanas de ser alimentadas con la DAGF (Rangel-García *et al.*, 2022). Con base en lo anterior, los animales fueron alimentados con la DAGF y el análogo de KOM durante 16 semanas y, después de este tiempo, se procedió a la eutanasia.

Para la eutanasia se consideró lo indicado por la NOM-062-ZOO-1999, por lo cual los animales se sometieron previamente a un ayuno durante 8 h y se les aplicó, antes de la eutanasia, una sobredosis individualizada de pentobarbital sódico como sedante vía intraperitoneal, para después ser decapitados con la guillotina. Se tomaron muestras de sangre que se centrifugaron durante 10 min a 2500 g para obtener el suero, el cual se almacenó a -20 °C.

Dentro de la línea de investigación del laboratorio, se llevó a cabo la recolección de diversos órganos y tejidos, incluyendo hígado, aorta, riñón, músculo, colon y tejido adiposo. Estos tejidos fueron lavados con solución salina (0.9 % NaCl) y posteriormente congelados en nitrógeno líquido para su almacenamiento a -80 °C.

Las jeringas utilizadas fueron depositadas en recipientes rojos de polipropileno diseñados para residuos punzocortantes, etiquetados como 'residuos punzocortantes biológico-infecciosos', donde se conservaron por un máximo de 15 días hasta su recogida por la empresa Servicios Especializados en Residuos S.A. de C.V., que se encargó de su tratamiento conforme a la norma NOM-087-ECOL-SSA1-2002. El instrumental quirúrgico empleado fue sumergido en solución de cloro durante 12 horas, lavado y posteriormente esterilizado para su almacenamiento. Los restos animales no destinados a análisis o conservación se consideraron desechos y fueron colocados en bolsas amarillas, sin exceder el 80 % de su capacidad. Estas bolsas fueron rotuladas como 'desechos patológicos' y almacenadas en congeladores a una temperatura máxima de 4 °C durante un período no mayor a 15

días, hasta su recolección por la empresa EcoServi Industrial, siguiendo los lineamientos establecidos en la NOM-087-SSA1-2002.

#### 5.2.7.4 Evaluación de las alteraciones metabólicas

##### 5.2.7.4.1 Perfil de lípidos y estimación de aterogénica

Se cuantificaron los niveles de TAG, colesterol total (CT) y HDL empleando kits enzimáticos de la marca Spinreact (St. Esteve de Bas, España). Los niveles de lipoproteínas LDL se estimaron utilizando la fórmula de Friedewald. Para la evaluación del riesgo aterogénico se realizaron cálculos de diferentes cocientes lipídicos, entre ellos: el índice de Castelli I (CT/HDL), el índice de Castelli II (LDL/HDL) y el índice de riesgo cardiometabólico (TAG/HDL).

##### 5.2.7.4.2 Estimación de la resistencia a la insulina

La glucosa fue cuantificada mediante un kit enzimático comercializado por Spinreact (St. Esteve de Bas, España). La insulina se midió utilizando un kit ELISA de Fine Test Co. (Wuhan, China), siguiendo las instrucciones proporcionadas por los fabricantes. La resistencia a la insulina (RI) se evaluó utilizando diferentes índices, entre ellos el modelo de evaluación de homeostasis (HOMA-IR), el índice cuantitativo de sensibilidad a la insulina (QUICKI), el índice HOMA para la función de las células  $\beta$  (HOMA- $\beta$ ) y el índice combinado de triglicéridos y glucosa (TyG), calculados conforme a las ecuaciones siguientes:

$$HOMA - IR = \left[ \frac{glucosa \text{ en ayunas } \left( \frac{mg}{dL} \right) \times insulina \text{ en ayunas } \left( \frac{\mu U}{mL} \right)}{2430} \right]$$

$$QUICKI = 1 / \left[ \log \left( insulina \text{ en ayunas } \left( \frac{\mu U}{mL} \right) \right) \times \log \left( glucosa \text{ en ayunas } \left( \frac{mg}{dL} \right) \right) \right]$$

$$HOMA - \beta = \left[ \frac{20 \times insulina \text{ en ayunas } \left( \frac{\mu U}{mL} \right)}{glucosa \text{ en ayunas } \left( \frac{mmol}{L} \right)} \right] - 3.5$$

$$\text{Índice } TyG = \ln \left[ \frac{\text{triglyceridos en ayunas } \left( \frac{mg}{dL} \right) \times \text{glucosa en ayunas } \left( \frac{mg}{dL} \right)}{2} \right]$$

### 5.2.8 Análisis estadístico

Para decidir si los datos debían ser analizados con métodos paramétricos o no paramétricos, se evaluó la distribución mediante la prueba de Shapiro-Wilk y se verificó la homogeneidad de varianzas usando la prueba de Levene. Los datos que cumplieron con los supuestos paramétricos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95 %, seguido por la prueba de comparaciones múltiples de Tukey. En cambio, los datos que no cumplieron dichos supuestos se analizaron con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y una prueba post hoc Dunn-Bonferroni. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software JMP 11 (Cary, NC, EE. UU.), y las representaciones gráficas se elaboraron en GraphPad Prism 10 (San Diego, CA, EE. UU.).

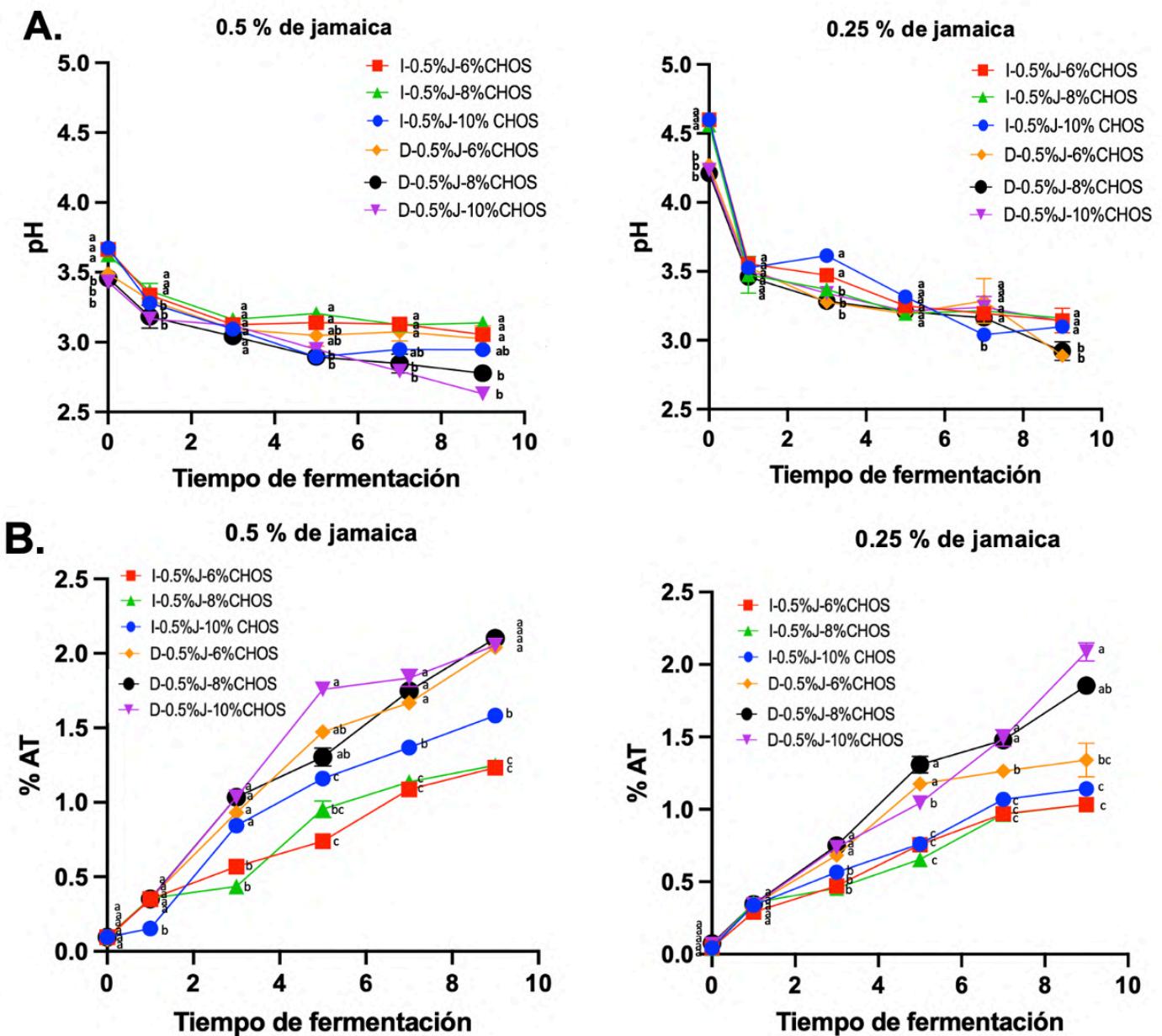
## 6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 6.1 Evaluación del efecto de la fermentación en análogos de kombucha de cílices de jamaica y subproducto

En la Figura 8 se presentan los cambios en el pH y el porcentaje de acidez titulable (%AT) a lo largo del proceso de fermentación. Como se muestra en la Figura 8A, antes del proceso de fermentación (tiempo 0), el pH de las bebidas elaboradas con una concentración del 0.5 % de jamaica fue significativamente menor en comparación con las bebidas elaboradas a una concentración de 0.25 %. Además, se observó una diferencia estadísticamente significativa entre las bebidas preparadas mediante infusión y decocción, siendo el pH más bajo en aquellas obtenidas por decocción. Esto puede explicarse por el hecho de que, durante el proceso de decocción, se extraen mayor contenido de compuestos fenólicos y de ácidos orgánicos, responsables de la acidez (Fotakis *et al.*, 2016).

Por otro lado, a lo largo del período de fermentación, se observa un descenso en el pH, así como un aumento en los valores de acidez titulable a partir del primer día (Figura 8B). Estudios previos sobre la elaboración de un análogo de kombucha de jamaica al 0.5 % han reportado una disminución del pH de 3.79 a 1.97 después de 12 días de fermentación, lo que se ha asociado a la producción de ácidos acético, glucónico y glucurónico por el efecto simbiótico de bacterias y levaduras de la kombucha (SCOBY) (Aji *et al.*, 2024).

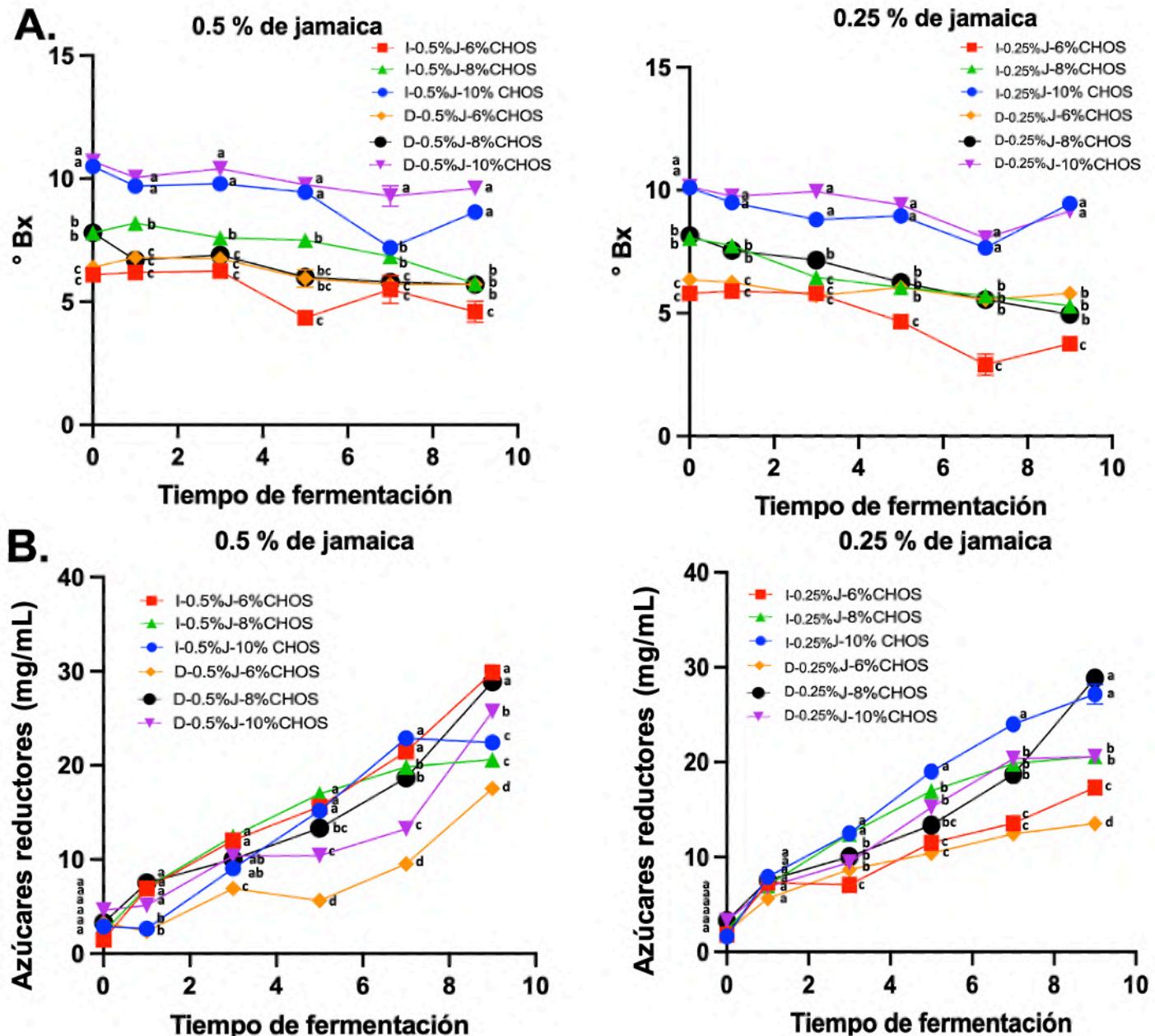
Es importante destacar que el rango de pH considerado seguro para el consumo de kombucha es de 2.5 a 4, ya que valores superiores pueden favorecer el crecimiento de microorganismos no deseados, incluidos patógenos potenciales, mientras que; valores inferiores están asociados a niveles elevados de ácidos orgánicos, lo que incrementa la acidez titulable y podría representar un riesgo para la salud del consumidor (Cardoso *et al.*, 2020). Por esta razón, las bebidas obtenidas durante los primeros tres días de fermentación con 0.25 % de cílices de jamaica, debido a sus valores elevados de pH, así como las fermentadas durante nueve días con 0.5 %, por presentar valores de pH bajos, no se consideran seguras para el consumo.



**Figura 8.** Efecto de la fermentación sobre el pH (A) y la acidez titulable (B) en los análogos de kombucha a una concentración de 0.25 y 0.5 % de cálices de jamaica. Datos expresados como media  $\pm$  DE ( $n=3$ ). Valores con diferente letra indican diferencia significativa ( $p\leq 0.05$ ) por la prueba de Tukey-Kramer. **I:** Infusión; **D:** Decocción; **J:** Jamaica; **CHOS:** Azúcar inicial.

En la Figura 9 se presentan los cambios en el contenido de carbohidratos durante la fermentación, los cuales están determinados por la actividad microbiana y la duración del proceso. A medida que avanza la fermentación, el contenido total de azúcares tiende a disminuir; mientras que, los azúcares reductores aumentan, lo que indica la

conversión de carbohidratos complejos en azúcares más simples y otros metabolitos (Meng *et al.*, 2023).



**Figura 9.** Efecto de la fermentación sobre los grados Brix (A) y azúcares reductores (B) en los análogos de kombucha a una concentración de 0.25 y 0.5 % de cálices de jamaica. Datos expresados como media  $\pm$  DE (n=3). Valores con diferente letra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) por la prueba de Tukey-Kramer. I: Infusión; D: Decocción; J: Jamaica; CHOS: Azúcar inicial.

En la Figura 9A se observa que los °Brix están determinados por la cantidad inicial de azúcar: a mayor concentración inicial, se obtienen valores finales más elevados, independientemente de si se trata de una infusión o una decocción. Aun cuando no se encontraron diferencias significativas en los °Brix de cada bebida, se identifica una tendencia decreciente a partir del tercer día de fermentación, un comportamiento previamente reportado en otros estudios, donde observaron una tendencia similar a partir del tercer día (Ko *et al.*, 2023).

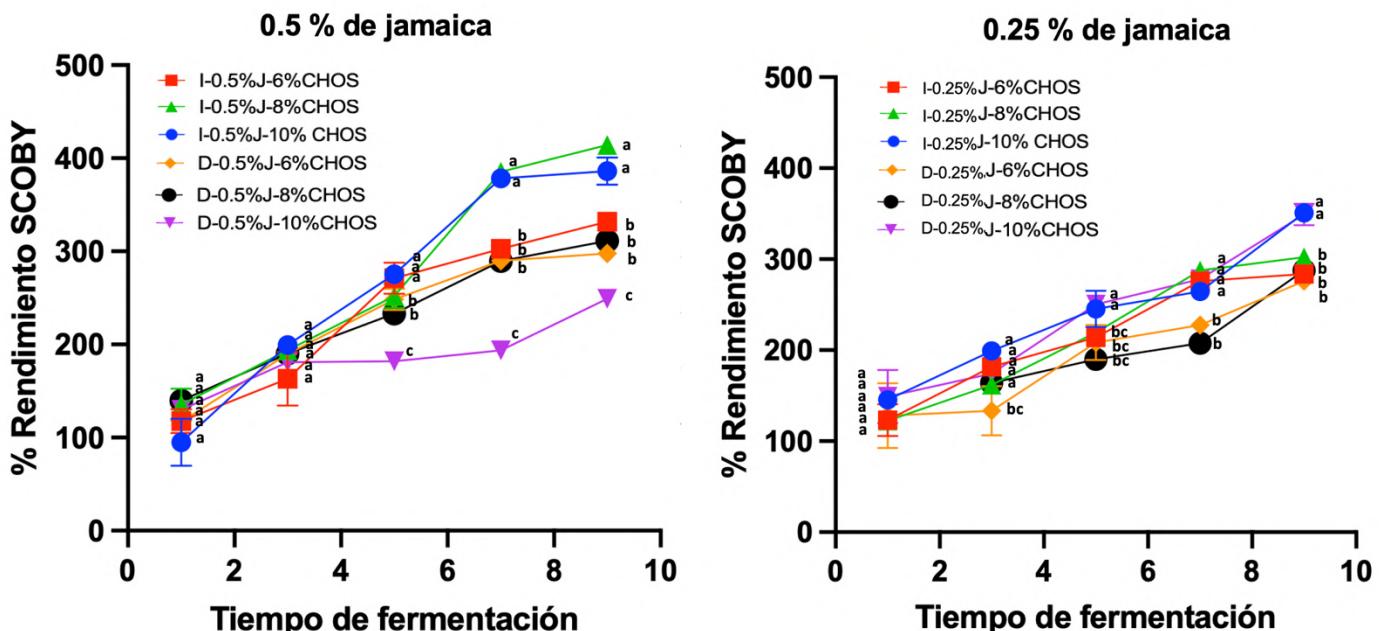
No obstante, esta disminución no es drástica; los valores de °Brix se mantienen relativamente estables a lo largo del proceso de fermentación. Este comportamiento sugiere un equilibrio dinámico entre la hidrólisis de sacarosa —obteniendo glucosa y fructosa— y su consumo por parte del consorcio microbiano. Este equilibrio puede deberse a una velocidad controlada tanto en la hidrólisis como en la asimilación de los monosacáridos liberados. Durante la fermentación, la glucosa es utilizada en la síntesis de celulosa bacteriana para la formación del SCOBY, mientras que parte de la fructosa y glucosa permanece en el medio, contribuyendo a mantener constantes los sólidos solubles (Rocha-Guzmán *et al.*, 2025).

Por otro lado, la Figura 9B muestra un incremento en el contenido de azúcares reductores, principalmente glucosa y fructosa, producto de la hidrólisis de la sacarosa, lo que confirma la actividad del consorcio microbiano (Tu *et al.*, 2023). En promedio, se observa un aumento de hasta 10 veces en el contenido de azúcares reductores, mientras que otros estudios han reportado incrementos de hasta 17 veces (Tu *et al.*, 2024). La tendencia es similar para ambas concentraciones de jamaica (0.5 % y 0.25 %), aunque la variabilidad entre tratamientos es más notable en la kombucha con 0.5 %, ya que al final de la fermentación se presentan niveles más altos de azúcares reductores. Esto sugiere que una mayor concentración de jamaica podría favorecer la actividad microbiana.

Finalmente, diversos estudios han documentado la dinámica de hidrólisis de la sacarosa durante la fermentación de kombucha a base de *Camellia sinensis*. Por ejemplo, Malbaša *et al.* (2002) reportaron que, al séptimo día de fermentación de una kombucha elaborada con una concentración inicial de 70 g/L de sacarosa (equivalente a aproximadamente 7% p/v), cerca del 34 % de la sacarosa permanecía

sin fermentar; mientras que, aproximadamente el 12 % se había convertido en glucosa, el 10 % en fructosa, el 0.12 % se utilizó en la formación de la membrana de celulosa del SCOBY y el 44.09 % restante se transformó en otros metabolitos, principalmente ácidos orgánicos responsables de la estabilidad y conservación de la bebida. En este trabajo, aunque se emplearon concentraciones iniciales de sacarosa de 6 %, 8 % y 10 %, se observó una tendencia similar de hidrólisis y conversión de azúcares reductores, confirmando la actividad del consorcio microbiano. Sin embargo, los resultados deben interpretarse considerando las diferencias en la concentración de sacarosa respecto a los valores reportados en la literatura. Por tanto, la relativa estabilidad de los °Brix, junto con un aumento en los azúcares reductores, es un comportamiento esperable dentro de la dinámica bioquímica de una kombucha bien fermentada

La Figura 10 muestra el porcentaje de rendimiento de la biopelícula formada durante el periodo de fermentación, el cual está directamente correlacionado con la proliferación microbiana y, en consecuencia, con el aumento en el peso del SCOBY.



**Figura 10.** Efecto de la fermentación sobre el rendimiento del cosorcio microbiano (SCOBY) en los análogos de kombucha a una concentración de 0.25 y 0.5 % de cálices de jamaica. Datos expresados como media  $\pm$  DE (n=3). Valores con diferente letra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) por la prueba de Tukey-Kramer. **I:** Infusión; **D:** Decocción; **J:** Jamaica; **CHOS:** Azúcar inicial.

Para las bebidas elaboradas tanto con infusiones como decociones de cálices de jamaica al 0.5 % y 0.25 %, el rendimiento del SCOPY aumentó progresivamente con el tiempo de fermentación. Esto indica que los microorganismos presentes en la kombucha utilizaron los azúcares disponibles para la síntesis de celulosa bacteriana y que las condiciones experimentales fueron óptimas para la acumulación de biomasa. En general, se observó que los rendimientos obtenidos con 0.25 % de jamaica fueron inferiores a los obtenidos con 0.5 %, lo que sugiere que la concentración más alta favorece un mejor desarrollo del SCOPY.

Por otro lado, las infusiones mostraron un mayor rendimiento en comparación con las decociones, lo que sugiere que algunos compuestos extraídos mediante decocción podrían interferir con la actividad microbiana o inhibir el crecimiento del SCOPY. Se ha reportado que altas concentraciones de compuestos fenólicos pueden afectar selectivamente a ciertos microorganismos, lo que podría explicar este fenómeno (Pacheco-Ordaz *et al.*, 2018; Barbosa *et al.*, 2021).

Asimismo, se observó un efecto del contenido de azúcar inicial, donde la concentración más baja (6 %) presentó, en general, menores rendimientos en comparación con las concentraciones de 8 % y 10 %. Esto es consistente con estudios previos que indican que la concentración de azúcar y el pH influye significativamente en la producción de celulosa bacteriana (Laureys *et al.*, 2020). En un estudio previo donde se desarrolló un análogo de kombucha elaborado con jamaica al 0.5 % y 10 % de azúcar inicial, se reportó que para el día 6 la masa del SCOPY se había duplicado y para el día 8 había un incremento de hasta 3 veces el peso inicial (Aji *et al.*, 2024). En nuestro estudio, las infusiones con 0.5 % de jamaica y adicionadas con 8 % y 10 % de azúcar inicial mostraron un incremento hasta de cuatro veces su peso inicial, lo que sugiere una mejor adaptación del sistema microbiano a estas condiciones, ambas bebidas fueron las que presentaron el mayor porcentaje de rendimiento.

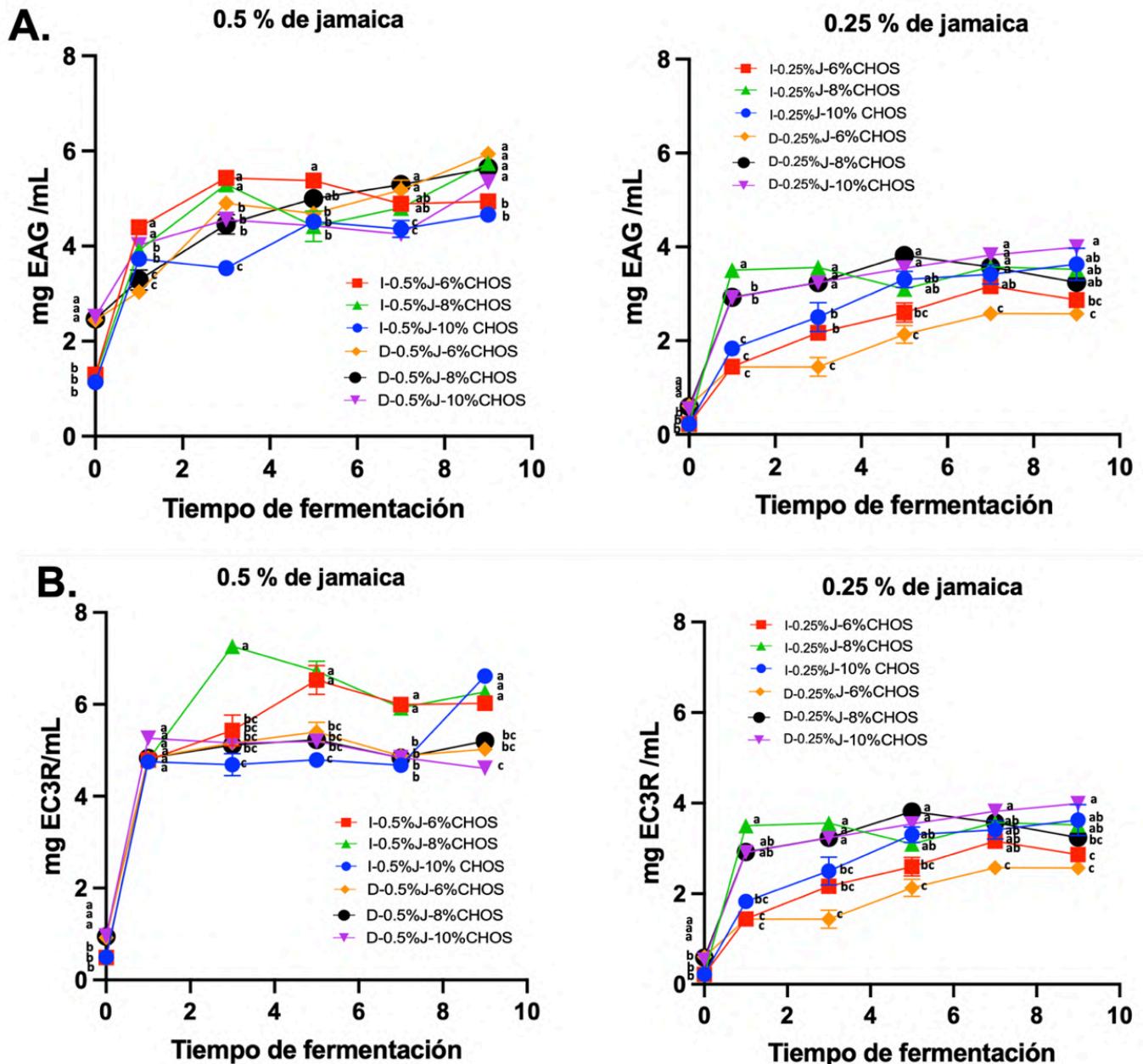
La formación de esta biopelícula flotante en la parte superior del biorreactor es un indicador clave de calidad en análogos de kombucha, directamente relacionada con

la actividad de *Komagataeibacter xylinus*, principal especie productora de celulosa bacteriana (Wang *et al.*, 2022). Además, se ha documentado que la generación de celulosa bacteriana se ve favorecida por la presencia de etanol y ácidos orgánicos, ya que la oxidación del etanol a acetato proporciona ATP necesario para su biosíntesis. Este ATP regula negativamente a la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH), redirigiendo el flujo metabólico hacia la polimerización de glucosa en celulosa (Rocha-Guzmán *et al.*, 2025). Por lo tanto, el rendimiento observado de la biopelícula confirma no solo la eficiencia del consorcio microbiano bajo las condiciones evaluadas, sino también su potencial para mantener la estabilidad y calidad funcional de la bebida fermentada.

En la Figura 11, se muestran los cambios en el contenido de compuestos fenólicos y antocianinas durante el proceso de fermentación. Antes de la fermentación, se observaron diferencias significativas en la concentración de estos compuestos entre las bebidas elaboradas mediante infusión y decocción, tanto para los compuestos fenólicos (Figura 11A), como para las antocianinas (Figura 11B). Estas diferencias pueden atribuirse al método de extracción, ya que la decocción permite una mayor liberación de compuestos bioactivos en comparación con la infusión (Fotakis *et al.*, 2016). Además, como era de esperarse, las bebidas formuladas con 0.5 % de jamaica presentaron concentraciones más elevadas de estos compuestos en comparación con aquellas elaboradas con 0.25 %. Sin embargo, después de la fermentación, estas diferencias iniciales dejaron de ser significativas. Incluso, en el caso de la bebida con 0.5 % de jamaica y 8 % de azúcar inicial, las concentraciones finales de compuestos fenólicos fueron estadísticamente similares a aquellas obtenidas en las muestras preparadas mediante decocción.

En cuanto a los cambios de estos compuestos durante la fermentación se observa un incremento en las primeras 24 h, lo que sugiere un rápido establecimiento del consorcio microbiano. Posteriormente, las concentraciones tienden a estabilizarse en la mayoría de las condiciones experimentales. Además, las bebidas elaboradas con 8 % y 10 % de azúcar inicial mostraron una mayor concentración de compuestos fenólicos en comparación con las formuladas con 6 % de azúcar, lo que es acorde

con la eficiencia del metabolismo microbiano. Una menor concentración de azúcar podría estar asociada a una adaptación más lenta del consorcio, reduciendo el metabolismo de los compuestos fenólicos (Tarhan Kuzu *et al.*, 2023).



**Figura 11.** Efecto de la fermentación sobre el contenido de compuestos fenólicos (A) y antocianinas (B) en los análogos de kombucha a una concentración de 0.25 y 0.5 % de cálices de jamaica. Datos expresados como media  $\pm$  DE (n=3). Valores con diferente letra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) por la prueba de Tukey-Kramer. **I:** Infusión; **D:** Decocción; **J:** Jamaica; **CHOS:** Azúcar inicial.

En cuanto al contenido de antocianinas, las bebidas elaboradas con 8 % y 10 % de azúcar inicial conservaron concentraciones más altas en comparación con aquellas preparadas con 6 %. Esto sugiere que la concentración inicial de azúcar no solo influye en la actividad del consorcio microbiano, como se ha mencionado previamente, sino también en la estabilidad química de las antocianinas, ya que su concentración está directamente asociada con factores como el pH y la acidez titulable, los cuales desempeñan un papel crucial en la estabilidad de estos compuestos (Xue *et al.*, 2024).

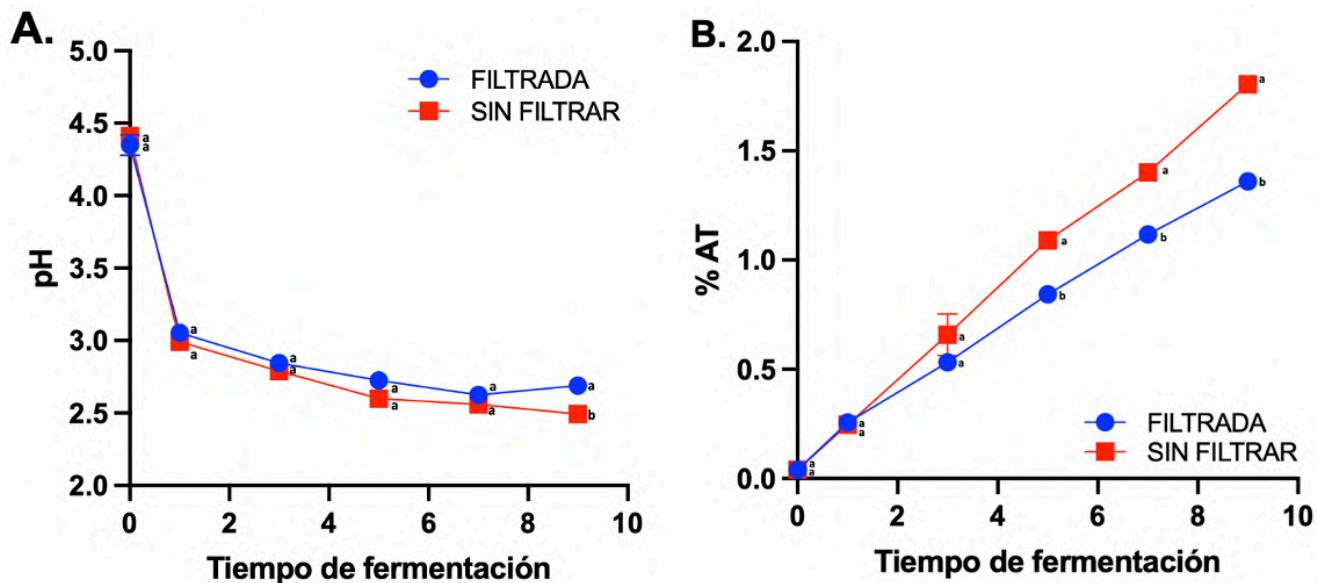
Un aspecto importante es que las bebidas preparadas con infusión al 0.5 % de cálices de jamaica y con 6 % y 8 % de azúcar inicial mostraron el mayor incremento de antocianinas después del tercer día de fermentación. Sin embargo, a partir del quinto día comenzó a observarse una disminución en su concentración. Este fenómeno puede estar relacionado con la acción de enzimas microbianas, que favorecen la degradación de antocianinas a lo largo del proceso de fermentación (Morata *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2017;). Adicionalmente, la reducción en el contenido de antocianinas también podría estar asociada a procesos de oxidación, ya que la fermentación de kombucha se desarrolla en un medio con una elevada disponibilidad de oxígeno (Hornedo-Ortega *et al.*, 2017). Este comportamiento ha sido previamente reportado por Ayed *et al.* (2016), quienes observaron un patrón similar en un análogo de kombucha elaborado con jugo de uva roja, una matriz igualmente rica en antocianinas, donde la reducción en la concentración de estos compuestos comenzó a partir del sexto día de fermentación.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se proponen como condiciones más favorables dentro de los parámetros evaluados aquellas que permitieron maximizar el contenido de compuestos fenólicos y antocianinas, favorecer la actividad del consorcio microbiano y mantener características fisicoquímicas acordes a la aceptabilidad sensorial de la bebida. En este sentido: (i) una concentración de cálices de jamaica de 0.5 % promovió mayores niveles de bioactivos y mejor adaptación microbiana; (ii) el uso de infusión como método de extracción resultó más adecuado

que la decocción; (iii) una concentración inicial de azúcar de 8% equilibró el rendimiento del sistema y el aporte calórico; y (iv) un tiempo de fermentación de siete días permitió obtener una bebida estable con características consistentes.

Con base en estas observaciones, se planteó la revalorización del subproducto de infusión de jamaica mediante la elaboración de bebidas análogas de kombucha, bajo condiciones experimentales ajustadas para garantizar la reproducibilidad y la calidad funcional.

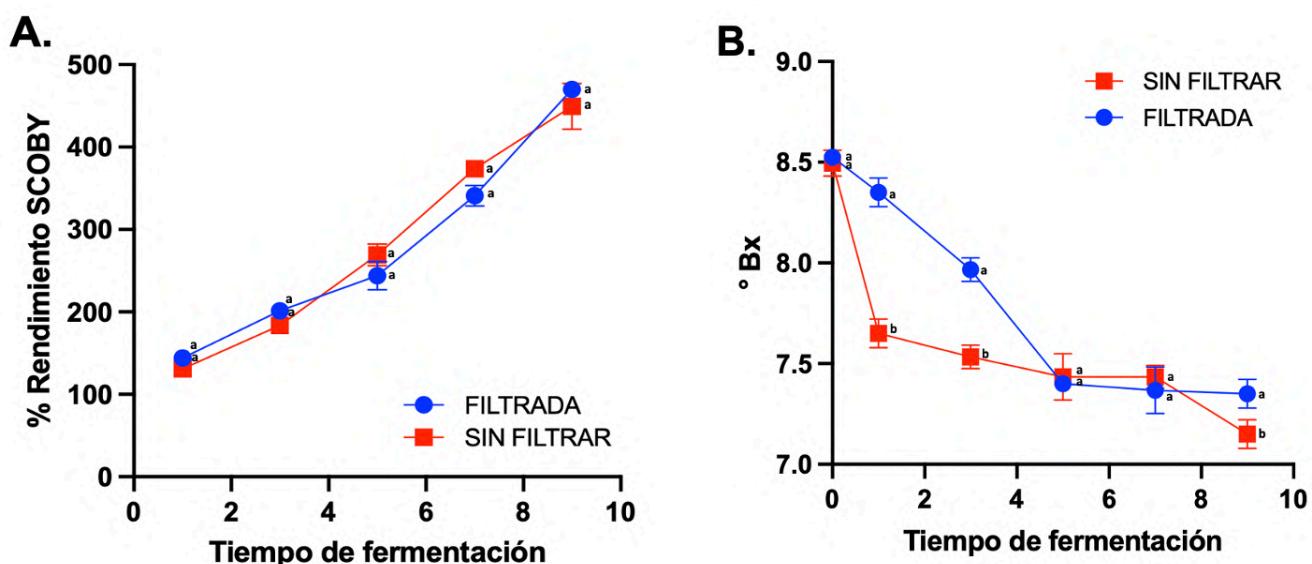
En la Figura 12, se observa una disminución del pH y un aumento en el porcentaje de acidez titulable a lo largo del proceso de fermentación. Este resultado era esperado, ya que, como se mencionó anteriormente, durante la fermentación se generan ácidos orgánicos (principalmente los ácidos acético, glucónico, glucorónico y láctico), los cuales son los principales responsables de esta característica. Por otro lado, respecto a las bebidas obtenidas mediante una infusión filtrada (KOM-F) y otra sin filtrar (KOM-SF) no existen diferencias significativas en el pH, hasta el día 9.



**Figura 12.** Efecto de la fermentación sobre el pH (A) y la acidez titulable (B) en análogos de kombucha de subproducto de jamaica elaboradas a partir de infusiones filtradas y sin filtrar. Datos expresados como media  $\pm$  DE (n=3). Valores con diferente letra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) por la prueba de Tukey-Kramer.

Por otro lado, a partir del día 5 se observan diferencias significativas en el porcentaje de acidez titulable entre las bebidas. Esto podría atribuirse a que el pH mide la concentración de iones hidronio ( $H_3O^+$ ) libres en la solución, mientras que la acidez titulable (% AT) mide la cantidad total de ácidos presentes, incluyendo los que no liberan tantos iones  $H_3O^+$  en el medio (Tyl & Sadler, 2017). Lo anterior sugiere que si bien la presencia del residuo durante la fermentación no afecta el pH, la producción de ácidos orgánicos es diferente y, por tanto, hay cambios en la acidez titulable.

Respecto al porcentaje de rendimiento del SCOBY, en la Figura 13A se observa un aumento a lo largo del tiempo de fermentación, alcanzando un crecimiento hasta de cinco veces su peso inicial. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos KOM-F y KOM-SF durante el periodo de fermentación, lo que sugiere que la elaboración de análogos de kombucha mediante un proceso no convencional, como el uso de infusiones sin filtrar, no afecta la adaptabilidad del consorcio microbiano.



**Figura 13.** Efecto de la fermentación sobre el porcentaje de rendimiento del SCOBY (A) y los grados brix (B) en análogos de kombucha de subproducto de jamaica elaboradas a partir de infusiones filtradas y sin filtrar. Datos expresados como media  $\pm$  DE ( $n=3$ ). Valores con diferente letra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) por la prueba de Tukey-Kramer.

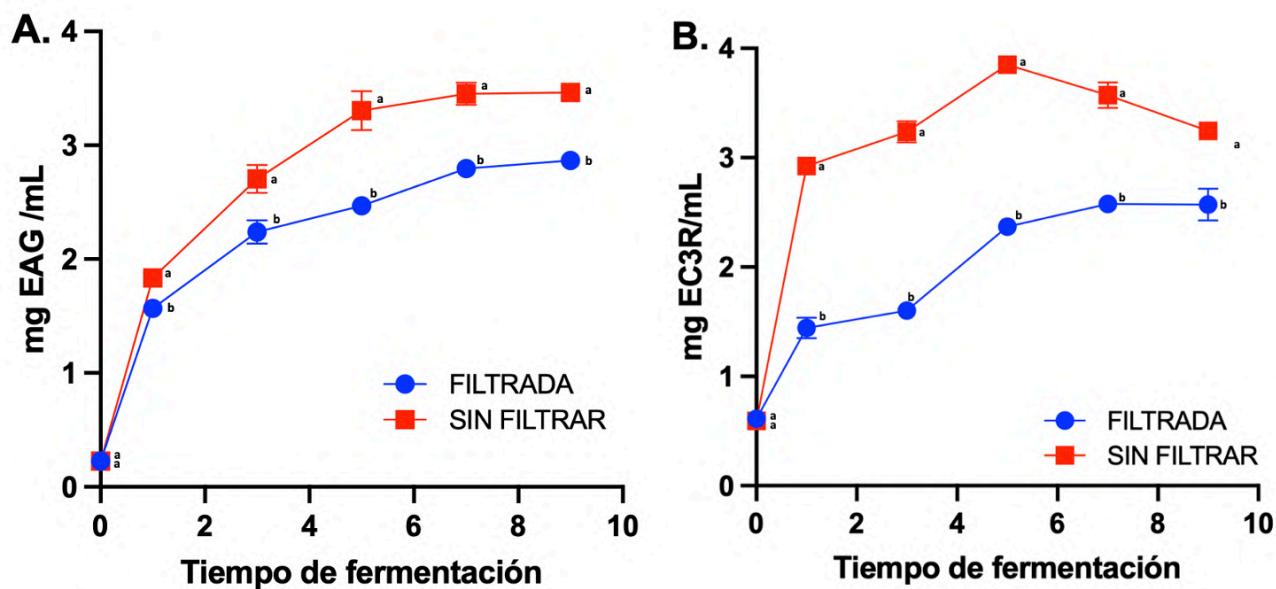
En años recientes, ha aumentado el interés por incorporar residuos agroindustriales en la elaboración de análogos de kombucha. Sariñana-Nuñez *et al.* (2024) reportaron

la adaptabilidad de las poblaciones microbianas a infusiones preparadas con subproductos de morera (0.25–1 %), señalando que concentraciones elevadas pueden inhibir a *Komagataeibacter* sp., la bacteria acido acética (AAB) responsable de la formación de celulosa, sin afectar necesariamente a otros microorganismos clave en la producción de ácidos orgánicos. Por otro lado, también se ha estudiado la adaptabilidad del consorcio de kombucha a subproductos de vinificación. Se ha observado que altas concentraciones de orujo de uva pueden afectar selectivamente la adaptación microbiana; sin embargo, se ha demostrado que el uso de infusiones sin filtrar no compromete dicha adaptabilidad, incluso se ha registrado un mayor rendimiento en la producción de biomasa (Herrera-Jr *et al.*, 2025).

La Figura 13B muestra los cambios de los grados Brix a lo largo del periodo de fermentación. Se observa que la muestra KOM-SF presenta una mayor disminución desde el primer día, lo que podría indicar un metabolismo más rápido de los carbohidratos en comparación con la KOM-F. Esta diferencia sugiere que el consorcio microbiano presenta una mayor eficiencia enzimática desde las primeras etapas de fermentación, posiblemente favorecida por la presencia de compuestos bioactivos y sustratos adicionales presentes en la infusión sin filtrar. Estos compuestos podrían actuar como inductores metabólicos o cofactores enzimáticos, promoviendo una mayor actividad microbiana, así como las condiciones fisicoquímicas del medio, como el pH y la AT, podrían influir en la expresión y funcionalidad de enzimas clave, optimizando el proceso fermentativo desde las primeras horas (Cosme *et al.*, 2023).

Estos resultados coinciden con lo reportado para un análogo de kombucha elaborado con orujo de uva utilizando infusiones sin filtrar, donde se observó un mayor decremento en los grados Brix en comparación con las bebidas fermentadas a partir de infusiones filtradas. Este comportamiento se atribuyó a una mayor adaptabilidad del consorcio microbiano (Herrera-Jr *et al.*, 2025). Esta evidencia refuerza la hipótesis de que el uso de infusiones sin filtrar no sólo conserva una mayor diversidad química, sino que también favorece un entorno más dinámico para la fermentación.

Finalmente, la Figura 14 muestra los cambios en el contenido de compuestos fenólicos (A) y antocianinas (B) durante el proceso de fermentación. En ambos casos se observa un aumento en la concentración, atribuible a la actividad microbiana durante la fermentación. Como se ha mencionado anteriormente, durante este proceso los compuestos fenólicos complejos pueden ser hidrolizados, dando lugar a moléculas más pequeñas y bioaccesibles (Gaur & Gänzle, 2023).



**Figura 14.** Efecto de la fermentación sobre el contenido de compuestos fenólicos totales (A) y antocianinas (B) en análogos de kombucha de subproducto de jamaica elaboradas a partir de infusiones filtradas y sin filtrar. Datos expresados como media  $\pm$  DE (n=3). Valores con diferente letra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) prueba de Tukey-Kramer.

Asimismo, se identificaron diferencias estadísticas significativas en las concentraciones de estos compuestos entre las bebidas KOM-F y KOM-SF. Específicamente, la muestra KOM-SF presentó un incremento del 23.5 % en el contenido de compuestos fenólicos totales y del 29.6 % en el contenido de antocianinas al noveno día de fermentación, en comparación con la bebida KOM-F. Este aumento podría explicarse por la liberación de compuestos fenólicos inicialmente no extraíbles, los cuales se encuentran asociados a la matriz de fibra dietaria. Durante el proceso fermentativo, el consorcio microbiano produce enzimas

capaces de degradar la pared celular de los residuos vegetales presentes, favoreciendo así la liberación de estos compuestos (Cerda-Cejudo *et al.*, 2023).

Estos resultados son consistentes con lo reportado por Zhou *et al.* (2022), quienes observaron un aumento de 1.45 veces en el contenido de compuestos fenólicos en kombucha elaborada a partir de té negro sin filtrar, en comparación con aquella preparada a partir de infusión filtrada después de nueve días de fermentación.

Por otro lado, la Figura 14B muestra un comportamiento particular en la concentración de antocianinas, ya que se registró un aumento constante hasta el quinto día de fermentación, seguido de un descenso progresivo entre los días siete y nueve. Este patrón coincide con lo reportado por Herrera *et al.* (2025), quienes documentaron una reducción del 48 % en el contenido de antocianinas en un análogo de kombucha elaborado con infusiones de orujo de uva sin filtrar, atribuida a una posible degradación enzimática de estos compuestos. Dicha hipótesis podría ser aplicable ya que las bebidas KOM-SF mostraron una mayor actividad metabólica, descrita previamente.

A partir de los resultados obtenidos, se infiere que: (i) las condiciones de fermentación evaluadas para los cálices de jamaica pueden aplicarse de manera similar para su subproducto, mostrando una dinámica comparable en parámetros fisicoquímicos y metabolitos bioactivos; (ii) la elaboración de kombucha mediante un proceso no convencional, utilizando infusiones sin filtrar, es factible y no afecta negativamente la adaptabilidad del consorcio microbiano, como lo evidencian los rendimientos de SCOPY y el comportamiento de °Brix, pH y acidez titulable; y (iii) este enfoque permite conservar y liberar mayores niveles de compuestos fenólicos y antocianinas, lo que potencialmente incrementa el valor funcional de la bebida final.

En conjunto, estos hallazgos sugieren que la integración de subproductos agroindustriales mediante infusiones sin filtrar representa una alternativa viable para diversificar análogos de kombucha, aprovechar matrices residuales ricas en fitoquímicos y contribuir a prácticas de bioeconomía circular.

## **6.2 Evaluación sensorial de los análogos de kombucha de cálices de jamaica y su subproducto**

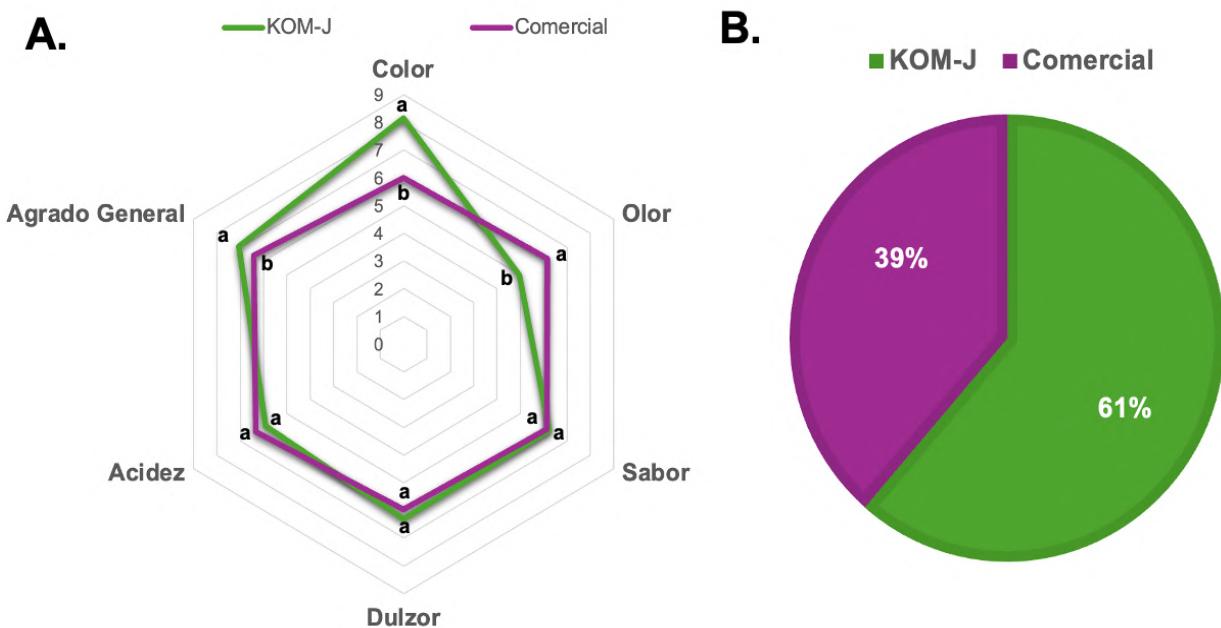
Con el objetivo de analizar la aceptabilidad de los análogos de kombucha elaborados a partir de cálices y subproductos de jamaica, se diseñó un análisis sensorial afectivo con un panel de 50 consumidores no entrenados. Esta evaluación se llevó a cabo en dos etapas. En la primera se compararon dos muestras: una bebida comercial y un análogo de kombucha elaborado a partir de cálices de jamaica (KOM-J). En la segunda se evaluaron tres bebidas: KOM-J y las dos versiones adicionales obtenidas a partir del subproducto de jamaica, empleando una infusión filtrada del subproducto (KOM-F) y otra sin filtrar (KOM-SF). Esta estrategia permitió contrastar tanto la materia prima (cáliz vs. subproducto) como el método de preparación (filtrado vs. sin filtrar), a fin de identificar diferencias sensoriales relevantes

Se aplicó una prueba de aceptación mediante una escala hedónica estructurada de 9 puntos, donde el valor 1 indica "me disgusta muchísimo" y el 9 "me gusta muchísimo", esto permitió cuantificar el grado de agrado que generaban las muestras en los consumidores. Adicionalmente, se realizó una prueba de ordenamiento por preferencia, solicitando a los participantes clasificar las muestras de kombucha desde la que más les gustaba hasta la menos. Esta prueba permitió identificar la muestra con mayor aceptación relativa dentro del conjunto evaluado.

Ambas pruebas se llevaron a cabo una vez que las muestras cumplieron con los criterios de calidad microbiológica, garantizando así su inocuidad (Anexo 2).

En la Figura 15 se presenta la comparación del análogo de kombucha de jamaica (KOM-J) con una bebida tipo kombucha comercial. En la prueba de aceptación (A), los atributos de sabor, dulzor y acidez no mostraron diferencias significativas entre ambas muestras, lo cual indica una aceptación comparable en términos de perfil gustativo. Sin embargo, en el atributo del aroma, la bebida comercial obtuvo una puntuación significativamente mayor. De acuerdo con los comentarios cualitativos, varios panelistas percibieron en la KOM-J notas aromáticas asociadas al proceso de fermentación que no fueron del todo agradables para algunos consumidores. En

contraste, los atributos de color y aceptabilidad general favorecieron a la KOM-J, que obtuvo puntuaciones superiores comparado con la bebida comercial. Panelistas mencionaron que la intensidad del color rojo generaba una percepción de mayor naturalidad y de mayor contenido de jamaica, lo cual influyó positivamente en su evaluación.

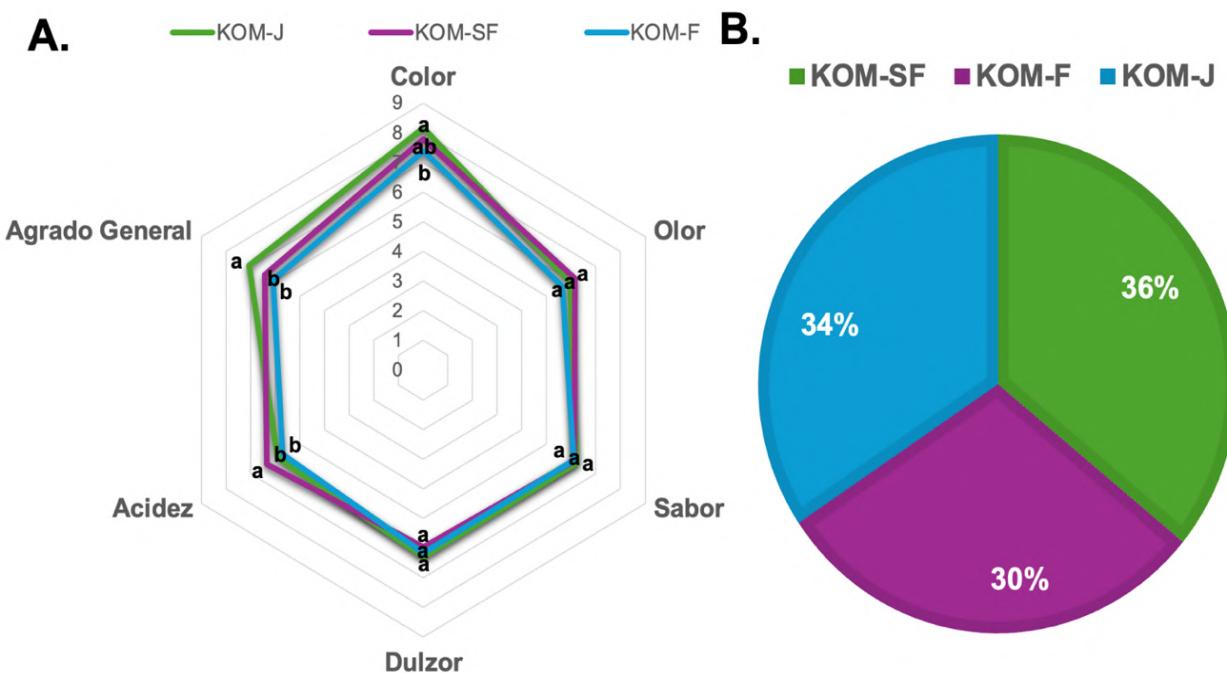


**Figura 15.** Perfil sensorial de los análogos de kombucha de calices de jamaica (KOM-J) mediante una prueba afectiva de aceptación (A) y preferencia (B). Datos expresados como media ( $n=50$ ). Valores con diferente letra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) por la prueba de Tukey-Kramer para cada atributo sensorial.

Finalmente, en la prueba de ordenamiento por preferencia (B) se observó que 6 de cada 10 participantes prefirieron la KOM-J sobre la bebida comercial, lo que sugiere que, a pesar de ciertos matices en aroma, el producto desarrollado presenta un alto potencial de aceptación en el mercado, particularmente por su sabor, color y perfil dulce-ácido equilibrado.

La Figura 16 presenta los resultados de la evaluación sensorial de los análogos de kombucha desarrollados a partir de subproducto de jamaica mediante infusiones filtradas (KOM-F) y sin filtrar (KOM-SF) en comparación con el análogo de kombucha de calices jamaica (KOM-J). En la prueba de aceptación (A) no se observaron diferencias significativas en los atributos de olor, sabor y dulzor entre las tres

muestras. No obstante, en los atributos de color y aceptación general, la muestra KOM-J obtuvo puntuaciones superiores en comparación con las demás bebidas evaluadas, mientras que en el atributo de acidez, la muestra KOM-SF fue la mejor valorada. A pesar de que se detectaron diferencias en algunos atributos sensoriales, los resultados de la prueba de preferencia (B) no mostraron una inclinación hacia una muestra en particular, ya que la preferencia de los participantes se distribuyó de manera similar entre las tres bebidas, con valores que oscilaron entre el 30 % y el 36 %.



**Figura 16.** Perfil sensorial de análogos de kombucha desarrollados a partir de subproducto de jamaica mediante infusiones filtradas (KOM-F) y sin filtrar (KOM-SF) mediante una prueba afectiva de aceptación (A) y preferencia (B). Datos expresados como media ( $n=50$ ). Valores con diferente letra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) por la prueba de Tukey-Kramer para cada atributo sensorial.

Estos resultados permiten inferir que el subproducto de jamaica representa una alternativa viable para la elaboración de análogos de kombucha, ya que no se observaron diferencias sensoriales importantes en comparación con las bebidas elaboradas a partir del cáliz. Además, la utilización de un método no convencional, como el uso de infusiones sin filtrar, no afecta el perfil sensorial de la bebida.

resultante. Por lo tanto, el subproducto de jamaica se puede aprovechar sin comprometer la aceptación del consumidor, lo que resulta especialmente relevante en el contexto del desarrollo de productos sostenibles e innovadores en la industria alimentaria.

En cuanto al perfil sensorial de kombucha, se han identificado diversos atributos relacionados con el proceso de elaboración y sus variables. El color, por ejemplo, proviene principalmente de los compuestos fenólicos extraídos del té o del sustrato utilizado. Aunque la relación entre el color y el contenido fenólico ha sido poco estudiada, algunos trabajos reportan una disminución significativa en la intensidad del color y un aumento en el contenido fenólico total durante la fermentación (Chakravorty *et al.*, 2016). Además, se ha sugerido que la actividad metabólica del consorcio microbiano podría modificar e incluso despolimerizar los pigmentos presentes en el té, lo que indicaría que gran parte de los pigmentos en el producto final derivan de los compuestos fenólicos del sustrato utilizado (Tran *et al.*, 2020).

En relación con el sabor y la acidez de la kombucha, aún existe limitada información sobre los compuestos volátiles responsables del perfil aromático, sus orígenes y su vínculo con la percepción olfativa, como ocurre en muchos otros alimentos y bebidas fermentadas. El aroma de kombucha suele describirse como similar al de la sidra (Jayabalan *et al.*, 2014). Este perfil no se debe únicamente a los compuestos presentes en el té, sino a los metabolitos volátiles generados durante la fermentación. A diferencia del té sin fermentar, cuyo aroma rara vez se mantiene en el producto final, en la kombucha predominan los olores derivados del proceso fermentativo, como el avinagrado, asociado al ácido acético producido por bacterias, y el afrutado tipo sidra, relacionado con la acción de las levaduras (Rosend *et al.*, 2019; Wei *et al.*, 2019). Desde una perspectiva sensorial, los ácidos acético y láctico son percibidos como agrios e intensos; el glucónico se describe como más suave y refrescante; y el succínico y málico contribuyen con una acidez tenue y un matiz ligeramente amargo (Li & Liu, 2015). Esta complejidad sensorial resalta la importancia de comprender el equilibrio entre los compuestos de origen microbiano y los del sustrato inicial para diseñar bebidas con perfiles organolépticos más definidos y agradables.

Con lo que respecta al dulzor, la sacarosa cumple un papel esencial en la simbiosis microbiana, las levaduras la descomponen en glucosa y fructosa mediante invertasa, y estas a su vez son metabolizadas por las bacterias (May *et al.*, 2019). El dulzor residual de kombucha depende tanto de la cantidad inicial de sacarosa como del grado de consumo durante la fermentación. Respecto a los ácidos orgánicos, estos son generados principalmente por bacterias acéticas, aunque las levaduras y bacterias lácticas también intervienen en menor medida. Entre los compuestos responsables del perfil ácido destacan los ácidos acético, glucónico y glucurónico, mientras que, los ácidos láctico, málico y succínico aportan notas complementarias (Chakravorty *et al.*, 2016).

Finalmente, como se ha descrito a lo largo de esta discusión, la bebida desarrollada cumple con los parámetros tecnofuncionales característicos de una kombucha, además de mostrar una destacada aceptación sensorial. Esta combinación de atributos no solo valida su viabilidad como producto fermentado funcional, sino que también representa una ventaja significativa para su potencial inserción y competitividad en el mercado.

### **6.3 Efecto de la fermentación sobre el contenido de compuestos fenólicos y cambios en el perfil de polifenoles.**

Como se mencionó en secciones anteriores, durante la elaboración de kombucha se producen cambios significativos en el contenido de compuestos fenólicos, evidenciándose un aumento después el proceso de fermentación.

El Cuadro 3 muestra los resultados obtenidos en la cuantificación de compuestos fenólicos presentes en las infusiones preparadas con los cálices y el subproducto de jamaica, así como en las bebidas fermentadas derivadas de estas infusiones.

En cuanto al contenido de compuestos fenólicos totales se observó un incremento de hasta 3.8 veces en la bebida KOM-J respecto a su infusión sin fermentar. Por otro lado, la infusión elaborada con el subproducto mostró una concentración 44 % menor en comparación con la del cáliz, lo cual coincide con reportes previos que indican

que el subproducto conserva aproximadamente el 58 % del contenido de estos compuestos (Amaya-Cruz *et al.*, 2019). Después del proceso de fermentación se registró un aumento hasta de 3 veces en la concentración de compuestos fenólicos en la bebida KOM-SF y de 2.1 veces en la KOM-F, con diferencias significativas entre ambas. Estos hallazgos concuerdan con estudios que reportan incrementos hasta de 2 veces en el contenido de compuestos fenólicos en análogos de kombucha elaborados con 0.5 % de cálix de jamaica (Aji *et al.*, 2024).

**Cuadro 3.** Contenido de compuestos fenólicos en los análogos de kombucha e infusiones sin fermentar

Compuestos	Infusión del caliz de jamaica	KOM-J	Infusión del subproducto de jamaica	KOM-F	KOM-SF
<b>Compuestos fenólicos totales</b> (mg EAG/mL)	1.2 ± 0.0d	4.8 ± 0.0a	0.8 ± 0.0e	2.7 ± 0.0c	3.4 ± 0.0b
<b>Flavonoides totales</b> ( $\mu$ g ER /mL)	93.3 ± 1.7b	111.4 ± 3.6a	81.9 ± 5.3c	75.2 ± 6.0c	88.5 ± 6.9b
<b>Antocianinas monoméricas</b> (mg EC3R/100mL)	0.6 ± 0.0d	5.9 ± 0.0a	0.4 ± 0.0e	2.5 ± 0.0c	3.5 ± 0.1b
<b>Proantocianidinas extraíbles</b> (mg EPA/100mL)	125.6 ± 2.1c	230.1 ± 9.0a	116.8 ± 6.5c	210.8 ± 1.9b	221.5±9.7ab

Los datos se presentan como media ± desviación estándar (n = 4), correspondientes a experimentos realizados por triplicado. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas (p ≤ 0.05), determinadas mediante la prueba de Tukey. **KOM-J**: Análogo de kombucha de cálices de jamaica, **KOM-F**: Análogo de kombucha de subproducto de jamaica filtrado, **KOM-SF**: Análogo de kombucha de subproducto de jamaica sin filtrar, **EAG**: Equivalentes de ácido gálico, **ER**: Equivalentes de rutina, **EC3R**: Equivalentes de cianidina 3-O-rutinósido, **EPA**: Equivalentes de proantocianidinas.

Los aumentos observados en el contenido de compuestos fenólicos durante la fermentación se atribuyen a la acción de los microorganismos presentes en el consorcio microbiano de la kombucha, que producen enzimas como la glucosidasa,

la celulasa y otras, capaces de hidrolizar polifenoles complejos y estructuras vegetales. Esto facilita la liberación de compuestos fenólicos de cadenas corta hacia la bebida (Setyaningsih *et al.*, 2025). Esto podría explicar porque la bebida KOM-SF presentó concentraciones más altas que KOM-F, ya que la presencia de partículas del subproducto favoreció la liberación de dichos compuestos.

Adicionalmente, el ambiente ácido generado durante la fermentación, resultado de la producción de ácidos orgánicos, contribuye a la extracción de compuestos fenólicos del cáliz de jamaica, aumentando así su concentración en la kombucha (Zhou *et al.*, 2022).

Respecto al contenido de flavonoides totales, la concentración de la bebida KOM-J mostró un aumento del 20 % en comparación con la infusión sin fermentar de cáliz de jamaica. En contraste, no se detectaron diferencias significativas en el contenido de flavonoides entre la infusión del subproducto y su correspondiente bebida fermentada KOM-F, incluso se observó una ligera disminución en el contenido. Este comportamiento podría atribuirse al metabolismo microbiano, ya que ciertas enzimas del SCOBY pueden descomponer o transformar los flavonoides en otros compuestos, lo que resulta en una reducción neta. Por ejemplo, se ha reportado una disminución del 50 % en el contenido de flavonoides totales después de la fermentación del té negro con SCOBY (La Torre *et al.*, 2021). Respecto a la bebida KOM-SF, esta presentó una mayor concentración de flavonoides, lo cual sugiere que el proceso no convencional de fermentación a partir de infusiones sin filtrar puede modificar la dinámica metabólica del consorcio microbiano.

En cuanto a las antocianinas monoméricas, la bebida KOM-J presentó un mayor contenido de hasta ocho veces en comparación con la infusión de cáliz de jamaica. Las bebidas fermentadas a partir del subproducto también mostraron incrementos notables de cuatro veces en la KOM-F y de seis veces en la KOM-SF, respecto al contenido de antocianinas monoméricas en la infusión sin fermentar del subproducto. En lo que respecta al contenido de proantocianidinas extraíbles, la bebida KOM-J mostró mayor contenido (83 %) en comparación con su infusión correspondiente.

Asimismo, los análogos fermentados a partir del subproducto mostraron mayor concentración de proantocianidinas extraíbles del 80 % en KOM-F y del 89 % en KOM-SF.

El incremento en los contenidos de antocianinas y proantocianidinas después de la fermentación puede explicarse por diversos factores propios del proceso de fermentación. Durante la fermentación, las antocianinas pueden experimentar transformaciones químicas que favorecen su estabilidad y concentración. Además, condiciones como la concentración de azúcares y el pH desempeñan un papel fundamental en la estabilización de estos compuestos, evitando su degradación y promoviendo su acumulación (Sabarani *et al.*, 2024).

Los resultados obtenidos evidencian que el proceso de fermentación tiene un impacto positivo en la concentración de compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas y proantocianidinas en las bebidas elaboradas a partir de jamaica, ya sea del cáliz o de su subproducto. En particular, la bebida KOM-J, formulada a partir del cáliz, mostró los mayores incrementos en todos los compuestos fenólicos analizados. No obstante, las bebidas obtenidas a partir del subproducto también presentaron aumentos significativos, lo cual resalta su potencial como materia prima funcional para el desarrollo de bebidas fermentadas. Además, las diferencias observadas entre las formulaciones indican que factores como el tipo de materia prima y el proceso de elaboración (filtrado o no filtrado) influyen directamente en la actividad metabólica del SCOBY y, por ende, en el perfil de compuestos bioactivos de las bebidas finales. Estos hallazgos respaldan el aprovechamiento del subproducto de jamaica como una alternativa viable para la obtención de bebidas funcionales con valor agregado.

El Cuadro 4 presenta el perfil cuantitativo de compuestos fenólicos determinado mediante UPLC-ESI-MS/MS en modo MRM, utilizando un espectrómetro de masas tipo triple cuadrupolo (Xevo-TQS). En total, se confirmaron y cuantificaron 50 compuestos en *Hibiscus sabdariffa* L. y bebidas fermentadas análogas. De estos compuestos, 24 correspondieron a ácidos fenólicos (12 hidrobenzoicos y 12

hidroxicinámicos), 16 flavonoides (1 flavona, 6 flavonoles, 5 flavanoles, 3 flavanonas y un glucósido específico) y 10 correspondieron a antocianinas seleccionadas como marcadores de calidad. Para cada compuesto, se monitorearon transiciones precursor–producto específicas, validadas previamente mediante estándares analíticos y bibliografía referencial. Este enfoque dirigido permitió cuantificar de forma precisa los cambios en la concentración de estos metabolitos durante el proceso de fermentación, garantizando una alta especificidad y sensibilidad en matrices complejas.

**Cuadro 4.** Determinación del perfil de compuestos fenólicos en los análogos de kombucha y en las infusiones no fermentadas mediante UPLC-ESI-MS/MS en modo MRM, utilizando un espectrómetro de masas tipo triple cuadrupolo (Xevo-TQS).

Compuestos identificados	Rt (min)	Fórmula molecular	Masa nominal (Da)	Fragmentos	Antes de la fermentación (mg/ 100 mL)		Después de la fermentación (mg/ 100 mL)						
					Infusión del cáliz de jamaica	Infusión del subproducto de jamaica	KOM-J	KOM-F	KOM-SF				
<b>ÁCIDOS FENÓLICOS</b>													
<b>Ácidos hidroxibenzoicos</b>													
Ácido gálico	1.17	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	169.15	79.07, 125.05	1.69 ± 0.05d	1.22 ± 0.05e	14.03 ± 1.10a	10.43 ± 0.64c	11.40 ± 0.63b				
Ácido siríngico	4.03	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	197.21	153.11, 182.05	3.68 ± 0.56b	2.66 ± 0.38c	4.52 ± 0.10a	2.58 ± 0.14c	2.41 ± 0.04d				
Ácido vanílico	3.69	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	167.18	123.09, 152.02	0.90 ± 0.04c	0.84 ± 0.04c	1.66 ± 0.04a	1.19 ± 0.04b	1.17 ± 0.06b				
Ácido protocatecoico	2.23	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	153.15	91.04, 109.05	1.44 ± 0.20d	0.92 ± 0.09e	4.04 ± 0.28a	2.59 ± 0.15c	2.86 ± 0.09b				
Ácido benzoico	6.28	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	121.10	77.10	ND	1.29 ± 0.05b	2.32 ± 0.1a	ND	ND				
Ácido 4-hidroxibenzoico	3.15	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	137.04	65.09, 93.05	0.79 ± 0.02c	0.83 ± 0.02c	1.23 ± 0.08a	1.07 ± 0.02b	1.10 ± 0.05b				
Ácido 2-hidroxibenzoico	6.29	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	137.04	65.09, 93.05	1.48 ± 0.01c	0.72 ± 0.05d	3.89 ± 0.30a	1.56 ± 0.16b	1.55 ± 0.02b				
Ácido 2,5-dihidroxibenzoico	2.93	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	153.15	81.09, 153.52	0.32 ± 0.09b	0.10 ± 0.03d	1.51 ± 0.17a	0.37 ± 0.07b	0.27 ± 0.00c				
Trihidroxibenzaldehído	4.74	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	153.15	81.09, 153.52	4.02 ± 0.04d	4.77 ± 0.14b	5.43 ± 0.25a	4.67 ± 0.03c	4.73 ± 0.08b				
<b>Ácidos hidroxicinámicos</b>													
Ácido coumárico	4.91	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	163.24	98.07, 119.08	0.73 ± 0.11a	0.46 ± 0.04b	0.15 ± 0.01c	0.16 ± 0.07c	0.16 ± 0.00c				
Ácido isocoumárico 1	5.43	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	163.24	98.07, 119.08	0.18 ± 0.00c	0.15 ± 0.00d	0.27 ± 0.04a	0.25 ± 0.00b	0.25 ± 0.03b				
Ácido isocoumárico 2	2.81	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	163.24	98.07, 119.08	0.17 ± 0.00b	0.14 ± 0.00c	0.24 ± 0.02a	0.23 ± 0.00a	0.24 ± 0.01a				
Ácido isocoumárico 3	3.66	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	163.24	98.07, 119.08	0.16 ± 0.00a	0.17 ± 0.00a	0.14 ± 0.00b	0.16 ± 0.00a	0.13 ± 0.00b				
Ácido ferúlico	5.58	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	193.24	134.04, 178.07	0.70 ± 0.11a	0.56 ± 0.02b	ND	ND	ND				
Ácido 4-O-cafeoilquínico	2.70	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	353.30	173.01, 179.06	6.06 ± 0.59c	3.72 ± 0.40d	21.34 ± 3.73a	9.35 ± 0.64b	9.42 ± 0.58b				
Ácido clorogénico	3.46	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	353.30	85.10, 191.20	4.69 ± 0.17	ND	ND	ND	ND				
Ácido 4,5-dicafeoilquínico	6.58	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	515.43	173.01, 179.06, 353.20	0.85 ± 0.02e	0.91 ± 0.02d	1.18 ± 0.01a	1.07 ± 0.05b	1.03 ± 0.04c				
Ácido 3,4-dicafeoilquínico	6.96	C <sub>25</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>	515.43	173.01, 179.06, 353.20	0.84 ± 0.00b	0.82 ± 0.02b	1.02 ± 0.01a	0.79 ± 0.00c	0.83 ± 0.03b				
Ácido rosmarínico	6.97	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	359.28	161.04, 197.05	0.60 ± 0.04	ND	ND	ND	ND				

ÁCIDOS ORGÁNICOS									
Ácido shikímico	0.59	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	173.18	93.06, 111.07	2.56 ± 0.00a	2.56 ± 0.00a	2.60 ± 0.00a	2.54 ± 0.00a	2.55 ± 0.00a
Ácido quínico	0.59	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	191.21	85.06, 93.06	2.65 ± 0.00b	2.58 ± 0.00c	2.78 ± 0.00a	2.71 ± 0.01a	2.68 ± 0.01b
FLAVONOIDEOS									
Flavonas									
Luteolina	8.16	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	284.95	133.04, 151.05	1.50 ± 0.01c	1.49 ± 0.00c	1.57 ± 0.03b	1.54 ± 0.03b	1.67 ± 0.00a
Flavonoles									
Kaempferol	9.27	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	285.01	150.66, 184.66	ND	6.20 ± 0.02d	7.61 ± 0.04b	7.29 ± 0.08c	7.75 ± 0.01a
Quercetina	8.19	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	300.95	150.96, 178.91	1.51 ± 0.20d	1.57 ± 0.31d	5.81 ± 0.44a	1.81 ± 0.66c	2.64 ± 0.45b
Kaempferol 3-O-glucósido	6.59	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	447.30	255.12, 284.24	0.74 ± 0.04d	0.49 ± 0.07e	25.07 ± 3.34a	8.21 ± 0.55c	12.87 ± 1.26b
Quercetina glucósido	5.95	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	476.92	150.96, 300.99	ND	5.56 ± 0.08b	ND	5.55 ± 0.13b	5.69 ± 0.18a
Rutina	5.79	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	609.04	254.89, 279.94	0.87 ± 0.03d	0.92 ± 0.02c	1.73 ± 0.11a	1.56 ± 0.04b	1.57 ± 0.04b
Miricetina	7.09	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>8</sub>	317.20	151.00, 179.00	4.48 ± 0.02b	4.62 ± 0.03a	ND	4.53 ± 0.01b	4.60 ± 0.00a
Flavanoles (o catequinas)									
Catequina	3.51	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	288.97	122.96, 203.00, 245.05	2.1 ± 0.01d	ND	6.81 ± 0.37a	6.43 ± 0.40c	6.66 ± 0.17b
Epicatequina	4.33	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	288.97	122.96, 203.00, 245.05	ND	2.16 ± 0.00c	15.46 ± 0.99b	15.59 ± 0.34b	16.10 ± 0.10a
Epicatequina galato	5.97	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> O <sub>10</sub>	441.05	168.92, 289.08	0.71 ± 0.07c	ND	19.60 ± 2.12b	21.48 ± 1.54a	21.11 ± 0.51a
Galocatequina	3.22	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	304.98	194.96, 261.02	ND	ND	2.66 ± 0.00a	2.69 ± 0.01a	2.64 ± 0.04a
Taxifolina	5.91	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	303.03	125.02, 285.00	ND	4.58 ± 0.00b	4.64 ± 0.01a	4.61 ± 0.00a	4.68 ± 0.00a
Flavanonas									
Naringenina	9.00	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	270.97	119.06, 150.92	1.20 ± 0.00c	1.19 ± 0.00c	1.50 ± 0.01a	1.44 ± 0.01b	1.48 ± 0.01b
Naringina	6.81	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub>	579.00	150.96, 271.03	1.32 ± 0.02a	1.30 ± 0.01a	1.27 ± 0.01b	1.24 ± 0.01c	1.28 ± 0.02b
Hesperidina	6.95	C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> O <sub>15</sub>	609.03	163.96, 301.06	1.51 ± 0.00b	ND	1.54 ± 0.01a	1.51 ± 0.01b	1.51 ± 0.00b
Otros glucósidos									
Floridzina	7.31	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>	470.96	272.98, 435.05	ND	ND	8.48 ± 0.00a	8.39 ± 0.00b	8.45 ± 0.01a
ANTOCIANINAS									
Cianidina 3-O-6-piruvilglucósido	6.92	C <sub>24</sub> H <sub>23</sub> O <sub>12</sub>	491.00	161.00	1.02 ± 0.01c	1.34 ± 0.01a	1.05 ± 0.00c	1.29 ± 0.02b	1.29 ± 0.03b

Pelargonidina 3-glucósido	6.92	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>10</sub>	433.00	271.00	0.97 ± 0.00b	1.18 ± 0.02a	0.99 ± 0.00b	1.18 ± 0.00a	1.20 ± 0.00a
Cianidina 3-O-glucósido	7.58	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub>	449.00	287.00	2.57 ± 0.33b	1.07 ± 0.01c	3.07 ± 0.27a	1.07 ± 0.04c	1.06 ± 0.02c
Peonidina 3-O-glucósido	6.91	C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> O <sub>11</sub>	463.00	301.00	ND	1.09 ± 0.01a	0.98 ± 0.01b	1.09 ± 0.01a	1.09 ± 0.01a
Delfinidina 3-O-glucósido	7.25	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>12</sub>	465.00	303.00	3.74 ± 0.05b	1.21 ± 0.02c	4.88 ± 0.17a	1.09 ± 0.04d	1.03 ± 0.01e
Cianidina 3-O-acetilglucósido	6.90	C <sub>23</sub> H <sub>23</sub> O <sub>11</sub>	491.00	287.00, 449.00	ND	1.05 ± 0.01a	0.97 ± 0.00b	1.05 ± 0.00a	1.06 ± 0.01a
Cianidina 3-O-coumaroilglucósido	11.93	C <sub>30</sub> H <sub>27</sub> O <sub>13</sub>	595.00	287.00, 449.00	0.97 ± 0.00c	1.53 ± 0.08a	0.97 ± 0.00c	1.58 ± 0.04a	1.46 ± 0.14b
Cianidina 3-O-rutinósido	11.95	C <sub>27</sub> H <sub>31</sub> O <sub>15</sub>	595.00	287.00	0.97 ± 0.00c	1.43 ± 0.16a	ND	1.36 ± 0.09b	1.39 ± 0.13b
Cianidina 3,5-diglucósido	7.34	C <sub>27</sub> H <sub>31</sub> O <sub>16</sub>	611.00	287.00, 449.00	1.02 ± 0.02c	1.08 ± 0.02a	1.05 ± 0.00b	1.06 ± 0.01b	1.06 ± 0.00b
Delfinidina 3-O-coumaroil glucósido	10.40	C <sub>30</sub> H <sub>27</sub> O <sub>14</sub>	611.00	303.00, 465.00	1.00 ± 0.02d	2.27 ± 0.06a	0.99 ± 0.02d	1.69 ± 0.02c	1.83 ± 0.07b

Los resultados se muestran como media ± desviación estándar (n = 3). Letras distintas dentro de una misma fila indican diferencias significativas (p ≤ 0.05), determinadas mediante la prueba de Tukey-Kramer. ND: No detectado, **KOM-J**: Análogo de kombucha de calices de jamaica, **KOM-F**: Análogo de kombucha de subproducto de jamaica filtrado, **KOM-SF**: Análogo de kombucha de subproducto de jamaica sin filtrar

Los resultados reflejan que el consorcio microbiano de kombucha favoreció la liberación, transformación y acumulación de compuestos fenólicos simples y flavonoides derivados, conforme a rutas metabólicas ya documentadas para sistemas de fermentación similares. En este sentido, los incrementos y desapariciones observados se interpretan dentro del marco de biotransformaciones enzimáticas específicas, propias de la actividad del SCOBY y que se discuten a continuación.

En cuanto a los ácidos hidrobenzoicos, los compuestos más destacados fueron el ácido gálico, con incrementos de hasta 8.3 veces en KOM-J, 8.5 en KOM-F y 9.3 en KOM-SF, en comparación con las infusiones sin fermentar. Por su parte, el ácido protocatecuico presentó incrementos de 2.8 veces en KOM-J y KOM-F y de 3.4 veces en KOM-SF. Respecto a los ácidos hidroxicinámicos, el ácido cafeoilquínico mostró un aumento hasta de 3.5 veces en KOM-J y de 2.5 veces en KOM-F y KOM-SF. En contraste, el ácido ferúlico, presente en las infusiones sin fermentar tanto del cáliz de jamaica como del subproducto, no fue detectado en ninguna de las muestras tras la fermentación. Lo mismo ocurrió con los ácidos clorogénico y rosmarínico, los cuales estaban presentes en la infusión del cáliz de jamaica, pero no se detectaron en la bebida fermentada KOM-J.

Estos compuestos fenólicos están presentes de forma natural en el cáliz de *Hibiscus sabdariffa* y son liberados y transformados durante el proceso de fermentación. El consorcio microbiano de kombucha desempeña un papel crucial en la descomposición de compuestos complejos, dando lugar a ácidos fenólicos más simples como el gálico y el protocatecoico, lo que mejora la concentración de estos compuestos bioactivos (Kitwetcharoen *et al.*, 2023).

El notable incremento en el contenido de ácido gálico en el análogo de kombucha de jamaica podría explicarse por dos mecanismos principales. El primero sugiere que este aumento se debe a la hidrólisis de precursores complejos, como los taninos hidrolizables (galotaninos), los cuales, mediante la acción de enzimas microbianas, pueden liberar ácido gálico (Thongbai *et al.*, 2025). El segundo mecanismo plantea

que el aumento podría deberse a la reacción de degalación de estructuras con grupos galato unidos por enlaces éster, como el galato de epicatequina y epigalocatequina. No obstante, en este estudio no se detectó una disminución de estos compuestos, sino al contrario, se observó un incremento general, lo que sugiere que la degalación podría estar ocurriendo sobre formas digaladas o polifenoles poliméricos con múltiples grupos galato, no identificados específicamente en este trabajo (Tran et al., 2022)

En el caso del ácido protocatecuico, diversos estudios han reportado que su incremento suele estar relacionado con la degradación de antocianinas (Setyaningsih et al., 2025). Sin embargo, dado que en nuestro estudio no se observó una disminución en la concentración de antocianinas, este aumento podría estar vinculado a otros procesos enzimáticos, particularmente a partir del ácido ferúlico como precursor. Se ha documentado que bacterias ácido-lácticas pueden biotransformar el ácido ferúlico en ácido vainílico, lo cual coincide con nuestros resultados, ya que tras la fermentación el ácido ferúlico no fue detectado, mientras que el ácido vainílico mostró un incremento (Kaur et al., 2013). Posteriormente, este último puede sufrir una desmetilación enzimática para formar ácido protocatecuico (Liang et al., 2023).

En el presente estudio, la cuantificación de ácido p-cumárico se realizó mediante un método dirigido utilizando un espectrómetro de masas tipo triple cuadrupolo (Xevo-TQS) operado en modo MRM. Bajo estas condiciones, se observó que, además de la señal principal correspondiente al estándar de ácido p-cumárico libre (retención aproximada de 4.91 min), aparecieron señales adicionales en los tiempos de retención 2.81, 3.66 y 5.83 min, todas con la misma transición iónica (precursor m/z 163.24 → producto m/z 98.07 y 119.08). Este comportamiento sugiere la presencia de formas conjugadas o derivadas del ácido p-cumárico en la matriz fermentada. En sistemas basados en bebidas fermentadas, es ampliamente reportada la ocurrencia de ésteres de p-cumárico con ácidos orgánicos (como el ácido quínico) o glicósidos (principalmente hexósidos) (Pei et al., 2016; Yang et al., 2023). Estos conjugados, bajo las condiciones de fragmentación aplicadas, pueden liberar el aglicón de p-

cumárico (m/z 163) que posteriormente se fragmenta generando los iones característicos m/z 119 y 98. Este patrón de múltiples picos con igual transición es coherente con la liberación de formas conjugadas durante la ionización y colisión controlada en el analizador de masas. Los tiempos de retención más cortos (2.81 y 3.66 min) se asocian con la mayor polaridad de los glicósidos y ésteres, mientras que el ácido libre presenta mayor retención debido a su menor afinidad por la fase móvil acuosa. Estos resultados resaltan la importancia de considerar que, en métodos dirigidos por MRM, las señales múltiples pueden reflejar isómeros, conjugados o productos de hidrólisis parcial, y no necesariamente interferencias instrumentales. Para confirmar la naturaleza exacta de estos conjugados, se recomienda complementar estos hallazgos con análisis de espectrometría de masas de alta resolución (HRMS) o product ion scan, lo que permitiría proponer estructuras más específicas y profundizar en la dinámica de biotransformación de estos compuestos durante la fermentación de kombucha.

En cuanto al perfil de flavonoides, se observó que la bebida KOM-J presentó un incremento de hasta 33.8 veces en el contenido de kaempferol 3-O-glucósido, 3.2 veces en catequina y 27 veces en epicatequina galato, en comparación con la infusión de cáliz de jamaica sin fermentar. Asimismo, se detectaron compuestos que no estaban presentes en la infusión original, como kaempferol, epicatequina, galocatequina y floridzina.

Por otro lado, en los análogos de kombucha elaborados a partir del subproducto de jamaica se registró un aumento de 16.7 y 26.2 veces en kaempferol 3-O-glucósido y de 7.2 y 7.4 veces en epicatequina, para las muestras KOM-F y KOM-SF, respectivamente. También se identificaron compuestos ausentes en la infusión sin fermentar, como catequina, epicatequina galato, galocatequina y floridzina.

Estos resultados sugieren que la fermentación no solo incrementa la concentración de ciertos flavonoides, sino que también conduce a la formación de compuestos que originalmente no estaban presentes. Por ejemplo, se observó un aumento en las concentraciones de catequina y epicatequina galato, lo cual podría estar asociado

con la actividad microbiana capaz de hidrolizar enlaces glicosídicos y transformar polifenoles precursores en derivados de catequina (Liang et al., 2024). De manera similar, compuestos como gallicatequina y epicatequina, que no fueron detectados en la infusión sin fermentar, aparecieron después del proceso de fermentación. Este fenómeno puede explicarse por la biotransformación de proantocianidinas extractables. Las proantocianidinas son flavan-3-oles poliméricos compuestos por unidades monoméricas como catequina, epicatequina y gallicatequina. Durante la fermentación, la actividad enzimática —particularmente de enzimas microbianas como las tanasas y glicosidasas— puede promover la despolimerización de estos polímeros, liberando sus constituyentes monoméricos. Este proceso probablemente explica la presencia de flavan-3-oles libres como epicatequina y gallicatequina en las muestras fermentadas, sugiriendo una transformación activa de compuestos fenólicos complejos en formas más simples y potencialmente más biodisponibles (Sayed Mostafa, 2023).

Finalmente, en cuanto al perfil de antocianinas, se observó que la bebida KOM-J presentó un aumento del 19.4 % en cianidina 3-O-glucósido y del 30.4 % en delfinidina 3-O-glucósido, en comparación con la infusión sin fermentar. Asimismo, se detectaron compuestos que no estaban presentes originalmente en la infusión, como la peonidina 3-O-glucósido y la cianidina 3-O-acetilglucósido. Por otro lado, en las bebidas KOM-F y KOM-SF no se observaron diferencias significativas en el perfil de antocianinas respecto a la infusión sin fermentar.

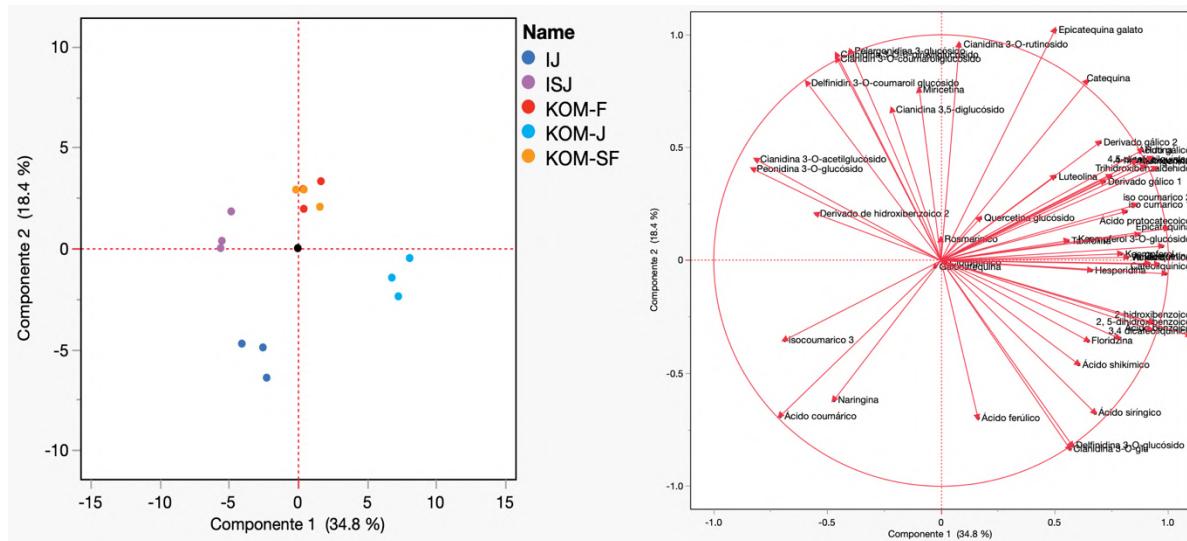
Las antocianinas en *Hibiscus sabdariffa* L. se encuentran comúnmente como derivados glicosilados. Durante la fermentación, las  $\beta$ -glucosidasas microbianas pueden hidrolizar los enlaces glicosídicos, liberando formas agliconas o glucósidos más simples, lo que puede resultar en un aumento aparente de su concentración. Además, conforme avanza la fermentación, la producción de ácido acético y otros ácidos orgánicos reduce significativamente el pH. Bajo estas condiciones más ácidas, las antocianinas se estabilizan en su forma catión flavylium, que es más estable y soluble, lo que mejora su detección y cuantificación, especialmente durante las primeras etapas de la fermentación (Lema et al., 2021). Sin embargo, a medida

que la fermentación continúa, algunas antocianinas pueden disminuir en concentración como se observó en KOM-F y KOM-SF. Esta reducción se puede atribuir a diversos procesos de degradación exacerbados por las condiciones de fermentación, incluyendo el pH bajo, la degradación enzimática, la oxidación y la polimerización de antocianinas. Aunque el pH bajo inicialmente estabiliza las estructuras de las antocianinas, la exposición prolongada a condiciones ácidas y el metabolismo microbiano continuo finalmente conducen a su descomposición (Sutthiphatkul *et al.*, 2022).

Los resultados cromatográficos no reflejaron los aumentos detectados por espectrofotometría en el contenido total de antocianinas, donde se registraron incrementos de hasta un 80 %. Esto podría explicarse por el hecho de que, durante la fermentación, algunas antocianinas pueden transformarse en productos como chalconas, ácidos fenólicos o pigmentos poliméricos, los cuales retienen capacidad de absorción en la región visible (~520 nm). Como resultado, el método espectrofotométrico puede sobreestimar el contenido real de antocianinas, al detectar también estos derivados con estructuras cromóforas similares (Achir *et al.*, 2019). Otra posible explicación es que el consorcio microbiano de kombucha transforma flavonoides y antocianinas en compuestos más polares o conjugados — como glucurónidos o agliconas — que podrían no ser detectados por el método UPLC utilizado o la extracción realizada (Iwasaki *et al.*, 2012).

La Figura 17 muestra el análisis de componentes principales (PCA), mediante el cual se visualiza la distribución global de las muestras en función de su perfil de compuestos fenólicos. Los dos primeros componentes explicaron el 53.2% de la variabilidad total observada (CP1 = 34.8 %; CP2 = 18.4 %).

La infusión del cáliz de jamaica (IJ) y su correspondiente bebida fermentada (KOM-J) se ubicaron en regiones distintas del gráfico, lo que indica diferencias en la composición de compuestos fenólicos derivadas del proceso de fermentación. Este comportamiento sugiere una transformación significativa de los compuestos originalmente presentes en IJ. En particular, KOM-J mostró una mayor asociación con ácidos hidroxibenzoicos y flavonoides como kaempferol, floridzina y hesperidina.



**Figura 17.** Análisis de componentes principales (PCA) del perfil de compuestos fenólicos de los análgos de kombucha y bebidas control. **KOM-J:** Análogo de kombucha de cálices de jamaica, **KOM-F:** Análogo de kombucha de subproducto de jamaica filtrado, **KOM-SF:** Análogo de kombucha de subproducto de jamaica sin filtrar, **IJ:** Infusión de jamaica, **ISJ:** Infusión de subproducto de jamaica.

Por otro lado, la infusión del subproducto de jamaica (ISJ) también se separó claramente de sus análogos fermentados, tanto la kombucha filtrada (KOM-F) como la no filtrada (KOM-SF), lo cual evidencia una modificación importante del perfil fenólico después de la fermentación. En contraste, KOM-F y KOM-SF se ubicaron muy próximas entre sí en el plano de componentes, reflejando una alta similitud en sus perfiles fenólicos globales. Aunque se identificaron diferencias significativas entre ambas en ciertos compuestos individuales —por ejemplo, una mayor concentración relativa en KOM-SF—, estas no fueron suficientes para separarlas a nivel multivariado. Ambas muestras se asociaron principalmente con derivados del ácido gálico (1 y 2), así como con flavonoides como epicatequina galato, catequina, miricetina, luteolina, y antocianinas como cianidina 3-O-rutinósido y cianidina 3,5-diglucósido.

Finalmente, KOM-J se distribuyó en una región claramente distinta respecto a las kombuchas elaboradas a partir del subproducto (KOM-F y KOM-SF), lo que resalta

que el tipo de materia prima empleada influye de forma determinante en la composición final, incluso después del proceso de fermentación.

#### **6.4 Efecto del consumo de los análogos de kombucha de cálices de jamaica y subproducto sobre la obesidad y las alteraciones metabólicas asociadas**

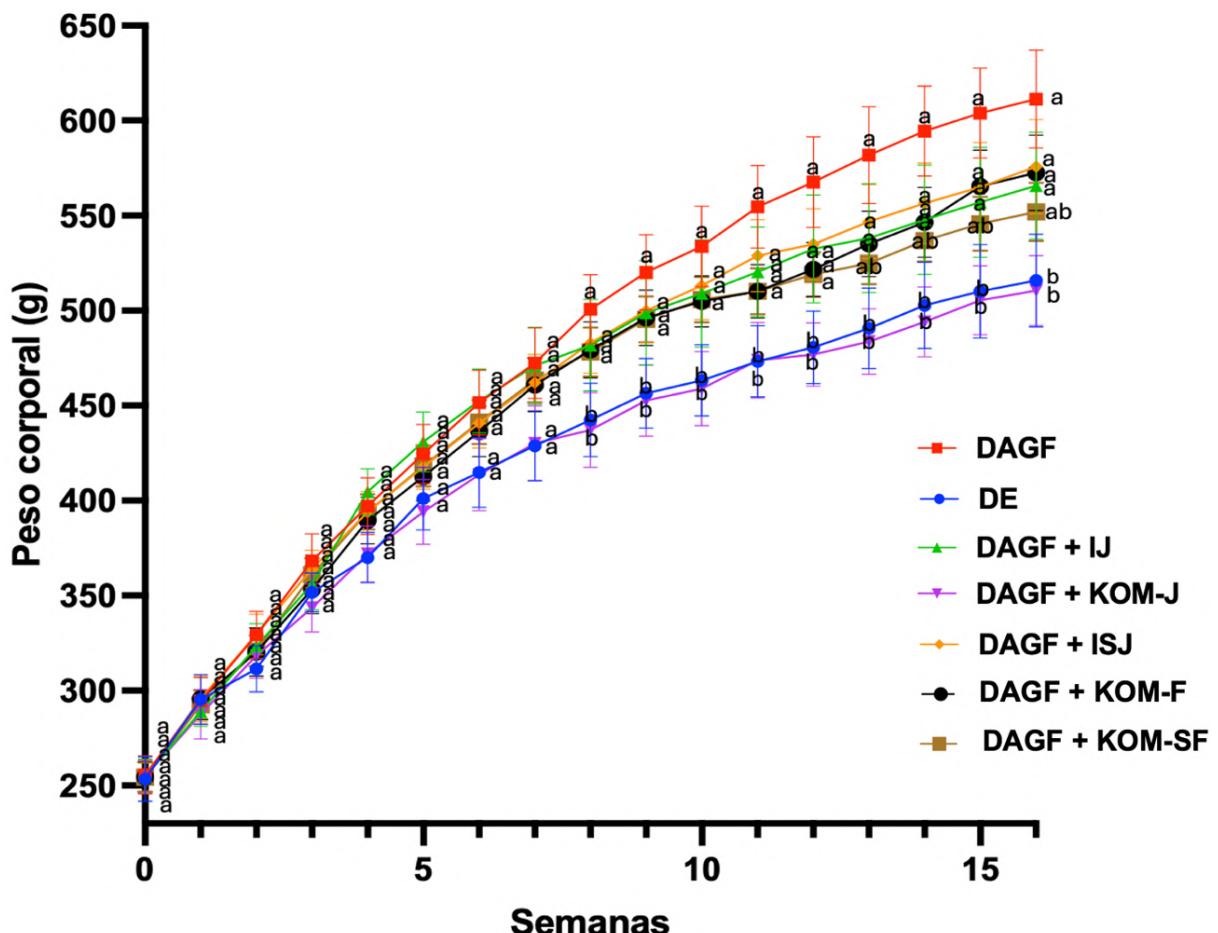
##### **5.4.1 Efectos sobre la regulación de peso corporal**

En esta sección se exponen los hallazgos de un estudio preclínico llevado a cabo en un modelo murino de obesidad, centrado en evaluar los efectos de la kombucha sobre las alteraciones metabólicas relacionadas con esta condición.

La Figura 18 muestra el impacto de la suplementación con análogos de kombucha en ratas sometidas a una dieta alta en grasa y fructosa durante 16 semanas. Al inicio del experimento, no se detectaron diferencias significativas en el peso corporal entre los distintos grupos. No obstante, a partir de la octava semana se observó una reducción significativa en el peso corporal del grupo control sano, alimentado con dieta estándar (DE), en comparación con el grupo obeso que recibió la dieta alta en grasa y fructosa (DAGF), diferencia que persistió hasta el cierre del estudio. Al finalizar, el peso promedio del grupo obeso fue un 15.8 % superior al del grupo sano.

En cuanto a los tratamientos administrados, el grupo que recibió la dieta DAGF y KOM-J logró mantener un peso corporal similar al del grupo sano a lo largo del estudio. Al finalizar el tratamiento, este grupo mostró un peso 16.4 % menor que el del grupo obeso, lo que sugiere un efecto protector de la kombucha de cálices de jamaica al aumento de peso inducido por la dieta. En relación a las bebidas elaboradas a partir del subproducto de jamaica, ambos tratamientos (KOM-F) y (KOM-SF), si bien no se generaron diferencias estadísticamente significativas en el peso corporal entre los grupos tratados con las bebidas y el grupo control obeso, se identificó una tendencia hacia la reducción de peso. Específicamente, el grupo tratado con KOM-F presentó una disminución del 6.3 % respecto al peso del grupo

obeso; mientras que, el grupo que consumió KOM-SF mostró una reducción del 9.7 %.



**Figura 18.** Peso corporal de ratas alimentadas con una dieta rica en grasa y fructosa, suplementada con análogos de kombucha elaborados a partir de cálices de jamaica y su subproducto. Los valores se presentan como media  $\pm$  error estándar ( $n = 8$ ). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ), determinadas mediante la prueba de Tukey-Kramer. DE: Dieta estándar; DAGF: Dieta alta en grasa y fructosa; DAGF + KOM-J: Dieta alta en grasa y fructosa con suplemento de kombucha de cálices de jamaica; DAGF + KOM-F: Suplementada con kombucha de subproducto de jamaica filtrado; DAGF + KOM-SF: Suplementada con kombucha de subproducto de jamaica sin filtrar.

Aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas, los resultados sugieren una mejora a nivel metabólico. Diversos estudios han reportado que una pérdida de peso corporal del 5 % al 10 % puede generar efectos benéficos sobre alteraciones metabólicas asociadas con la obesidad, como la hipertrigliceridemia, la

esteatosis hepática y la resistencia a la insulina (Magkos et al., 2016; Farhana & Rehman, 2025).

Este efecto antiobesogénico se ha asociado a un efecto sinérgico de los metabolitos producidos durante la fermentación de la kombucha como compuestos fenólicos, ácidos orgánicos, micronutrientes (vitaminas y minerales) y microorganismos probióticos (Martínez Leal et al., 2018; Bortolomedi et al., 2022). Por su parte, los efectos antiobesogénicos de la jamaica no se han asociado únicamente a su contenido de compuestos fitoquímicos; sino que al contrario se a reportado que este efecto esta más asociado al contenido de ácidos orgánicos que a las propias antocianinas u otros compuestos fenólicos (Morales-Luna et al., 2019). Dichos ácidos orgánicos aumentan después del proceso de fermentación de la kombucha.

A pesar de que la evidencia sobre el efecto antiobesogénico de la kombucha y sus análogos aún es limitada, existen estudios en la literatura que destacan su potencial terapéutico. Las KOM de *Camellia sinensis* y uva de mar (*Caulerpa racemosa*) redujeron en un 14.6 y 30 %, respectivamente, el peso corporal de ratones alimentados con dietas hipercolesterolémicas (CFED) (Yang et al., 2009; Permatasari et al., 2022). Estos últimos autores atribuyeron este efecto a la inhibición de la lipasa pancreática, uno de los mecanismos más estudiados en relación con el efecto de la kombucha.

Finalmente, en el presente estudio no se observaron efectos antiobesogénicos derivados del consumo de la infusión del cáliz de jamaica (IJ), ni del subproducto (ISJ). Esto contrasta con lo reportado en la literatura, donde se ha atribuido a los extractos acuosos del cáliz de jamaica un potencial funcional y nutracéutico, con efectos benéficos en la regulación del peso corporal y en la mejora de alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad (Morales-Luna et al., 2018; Rangel-García et al., 2022). Esta discrepancia puede explicarse por varios factores metodológicos ya que en nuestro estudio (i) se utilizaron infusiones, no decociones, que, como se expuso en el apartado 5.1, limita la extracción de compuestos bioactivos responsables de los efectos observados en otros trabajos; (ii) la concentración del cáliz de jamaica empleada en este estudio fue de 0.5 %, mientras que en los estudios

previamente citados se han utilizado concentraciones mínimas del 3 % y (iii) otro aspecto relevante es que en los estudios previos las decoccciones no contenían azúcares añadidos, mientras que en este estudio fue necesario adicionar azúcar, dado que, como se señaló en la sección 5.1, después de la fermentación permaneció un remanente de azúcares residuales que no fueron completamente metabolizados. Estos factores metodológicos dejan en evidencias los beneficios de la fermentación con el consorcio de la kombucha.

En el Cuadro 5 se presentan los resultados de los parámetros zoométricos evaluados en los distintos grupos de animales al final de las 16 semanas del experimento. En relación con el grupo que recibió la bebida KOM-J, las mediciones fueron comparables a las del grupo control sano. Específicamente, se observó una reducción del 14.2 % en la circunferencia abdominal, 19.8 % en el índice de masa corporal (IMC), 46.5 % en el índice de adiposidad total y 43.6 % en el porcentaje de tejido adiposo visceral en comparación con los valores del grupo alimentado con la dieta DAGF. Por otro lado, los análogos de kombucha elaborados a partir del subproducto de jamaica también mostraron efectos favorables. En particular, los grupos que recibieron las bebidas KOM-F y KOM-SF presentaron reducciones del 13.4 % y 15.9 % en el IMC, del 23.7 % y 43 % en el índice de adiposidad total y del 17.7 % y 34.1 % en el porcentaje de tejido adiposo visceral, respectivamente, en comparación con el grupo alimentado con la dieta DAGF.

Estos hallazgos coinciden con la tendencia observada en la reducción del peso corporal en los grupos tratados con análogos de kombucha. Se ha reportado que la kombucha elaborada con *Camellia sinensis* redujo en un 41.70 % el tejido adiposo visceral en ratones alimentados con una dieta hipercolesterolémica, después de recibir una dosis de 66 mL/kg de peso corporal durante 12 semanas. Este efecto se asoció a una menor acumulación de lípidos en dicho tejido (Yang *et al.*, 2009).

**Cuadro 5.** Efecto del consumo de los análogos de kombucha sobre los parámetros zoométricos

Parámetros	TRATAMIENTOS							
	DE	DAGF	DAGF +					
			IJ	KOM-J	ISJ	KOM-F	KOM-SF	
Longitud de cuerpo (cm)	27.06±1.3a	27.5 ± 1.2a	27.5 ± 1.3a	27.3 ± 1.1a	27.1 ± 1.3a	27.5 ± 0.8a	27.1 ± 1.2a	
Circunferencia abdominal (cm)	19.1 ± 0.9bc	21.8 ± 2.0a	21.5 ± 2.1ab	18.7 ± 1.2c	22.5 ± 1.8a	20.8 ± 1.2abc	20.4±1.7abc	
Circunferencia torácica (cm)	17.5±0.7a	19.08 ± 1.5a	18.9 ± 1.5a	17.3 ± 1.0a	18.0 ± 1.4a	18.5 ± 0.5a	18.8 ± 0.4a	
IMC	66.5 ± 5.0c	81.9 ± 8.0a	72.4 ± 7.0ab	65.7 ± 5.7c	79.0 ± 6.8abc	70.9 ± 4.9bc	68.85 ± 2.0bc	
Índice abdominal-toracico	1.08±0.03b	1.18 ± 0.07ab	1.14 ±0.08ab	1.08± 0.07b	1.25 ±0.07a	1.14 ±0.05ab	1.09 ± 0.10b	
Hígado (%)	3.41 ± 0.3a	3.45 ± 0.3a	3.33 ± 0.4a	2.99± 0.3a	3.06± 0.3a	3.26± 0.2a	3.18±0.2a	
<b>Tejido adiposo blanco (%)</b>								
Visceral	0.78 ± 0.3d	1.58 ± 0.2ab	1.96 ± 0.4a	0.74 ± 0.4cd	1.44 ± 0.5abc	1.30 ± 0.2bcd	1.04 ± 0.2bcd	
Epidídimal	1.60 ± 0.3b	3.02 ± 0.3a	2.25 ± 0.5ab	1.99 ± 0.5b	2.34 ± 0.5ab	2.25 ± 0.4b	2.01 ± 0.2b	
Perirrenal	1.33 ± 0.2d	3.27 ± 0.0a	2.30 ±0.6bc	1.89 ± 0.1cd	2.50 ± 0.4bc	2.7 ± 0.1ab	2.49 ± 0.4bc	
Índice de adiposidad	3.45 ± 1.0c	7.90 ± 0.5a	5.24 ± 1.4bc	4.22 ± 0.5bc	5.47 ± 1.3bc	6.02 ± 1.3ab	4.50 ± 1.7bc	

Datos expresados como media ± DE (n=8). Letras diferentes indican diferencia estadística significativa p≤0.05 con la prueba de Tukey. **DE:** Dieta estándar, **DAGF:** Dieta alta en grasa y fructosa, **DAGF + KOM-J:** Dieta alta en grasa y fructosa suplementada con el análogo de kombucha de cálculos de jamaica, **DAGF + KOM-F:** Dieta alta en grasa y fructosa suplementada con el análogo de kombucha del subproducto de jamaica filtrado, **DAGF + KOM-SF:** Dieta alta en grasa y fructosa suplementada con el análogo de kombucha del subproducto de jamaica sin filtrar.

La disminución en la acumulación de grasa podría estar relacionada con alteraciones en la microbiota intestinal y en el metabolismo de los lípidos. Los microorganismos presentes en la kombucha, incluidos géneros como *Acetobacter*, *Lactobacillus* y *Komagataeibacter*, pueden colonizar el intestino e inducir cambios significativos en el metabolismo del huésped (Marsh *et al.*, 2014).

Estudios en *C. elegans* demostraron que los microorganismos probióticos de la kombucha desencadenan una respuesta intestinal similar a la del ayuno, caracterizada por un aumento en la expresión de genes codificantes de lipasas lisosomales—enzimas responsables de la degradación de grasas a través de un proceso llamado lipofagia—y una disminución en la biogénesis de gotas lipídicas, es decir, en la formación de nuevas reservas de grasa. Este cambio metabólico programado favorece la utilización y degradación de lípidos almacenados, sin afectar negativamente la absorción de nutrientes ni la ingesta calórica (DuMez-Kornegay *et al.*, 2024).

Una de las estrategias más efectivas para prevenir comorbilidades relacionadas con la obesidad, como la DM2 y las enfermedades cardiovasculares, consiste en intervenciones en el estilo de vida orientadas a la pérdida de peso, preferentemente mediante la reducción del exceso de tejido adiposo y de grasa ectópica (Junker *et al.*, 2024). Por lo tanto, estos resultados aportan evidencia sobre el potencial del consumo de análogos de kombucha para modular alteraciones en la composición corporal, como la acumulación excesiva de tejido adiposo, lo cual podría traducirse en una mejora del estado metabólico.

A pesar de sus beneficios potenciales, el consumo de kombucha no debe considerarse un tratamiento para la obesidad, ya que ésta es una condición multifactorial que requiere un enfoque integral y multidisciplinario. No obstante, la posibilidad de reducir la inflamación subclínica característica de la obesidad puede mejorar significativamente los resultados terapéuticos, especialmente a largo plazo. En algunos casos, esta inflamación representa un obstáculo importante, ya que quienes abordan la obesidad desde una perspectiva nutricional a menudo enfrentan

estancamientos en la pérdida de peso, posiblemente debido a la inflamación crónica que limita la movilización de ácidos grasos libres desde el tejido adiposo. En cualquier caso, el consumo regular de kombucha no ha mostrado contraindicaciones ni efectos secundarios reportados hasta la fecha. Su contenido en micronutrientes es adecuado, por lo que, aunque la evidencia científica aún es limitada, podría considerarse como un apoyo complementario en el manejo de la obesidad (Cannataro, 2025)

#### **5.4.2 Efectos sobre alteraciones metabólicas asociadas al metabolismo de lípidos**

La obesidad suele estar asociada con la dislipidemia aterogénica, un trastorno caracterizado por alteraciones tanto cuantitativas, como cualitativas en las lipoproteínas plasmáticas. Las principales modificaciones del perfil lipídico incluyen hipertrigliceridemia, disminución de los niveles de colesterol HDL (lipoproteínas de alta densidad) y un aumento en la proporción de partículas pequeñas y densas de LDL (lipoproteínas de baja densidad), lo que contribuye al desarrollo de complicaciones cardiometabólicas (Vekic *et al.*, 2023).

El Cuadro 6 presenta los valores de los marcadores bioquímicos asociados a alteraciones lípidicas en los distintos grupos experimentales. En relación con los triglicéridos séricos, el grupo control obeso presentó un valor 95.4 % mayor que el grupo que recibió únicamente la DAGF; mientras que, la suplementación con los diferentes análogos de kombucha produjo una reducción significativa en sus concentraciones, en comparación con el valor del grupo control obeso (DAGF). En particular, el grupo tratado con KOM-J mostró menores concentraciones de triglicéridos en un 54.2 % seguido por el grupo KOM-SF con un 48 % y KOM-F con un 25.3 % ( $p < 0.05$ ).

En cuanto a los niveles de colesterol total, el grupo control obeso alimentado con la DAGF registró una concentración de 78.1 % mayor respecto al grupo control sano; mientras que, los grupos que recibieron los análogos de kombucha mostraron disminuciones del 36 % en DAGF+KOM-J, 33.1 % en DAGF+KOM-SF y 32.1 % en

DAGF+KOM-F ( $p < 0.05$ ). Por su parte, las concentraciones séricas de colesterol LDL (c-LDL) fueron más altas en el grupo obeso comparado con el sano. En los grupos de animales que consumieron estas bebidas se redujeron notablemente los niveles de LDL en un 58.3 % para el grupo DAGF+KOM-J, un 54.1 %. El grupo DAGF+KOM-J presentó la mayor concentración (78 %), seguido por DAGF+KOM-SF (76.3 %) y DAGF+KOM-F (55 %), en comparación con los valores de LDL observados en el grupo control obeso.

**Cuadro 6.** Perfil lipídico en suero de ratas alimentadas con una dieta DAGF y suplementadas con análogos de kombucha de jamaica y las infusiones sin fermentar

Tratamiento	Parámetros			
	Triglicéridos (mg/dL)	Colesterol total (mg/dL)	Colesterol LDL (mg/dL)	Colesterol HDL (mg/dL)
<b>DE</b>	$62.1 \pm 1.6$ d	$59.9 \pm 2.5$ e	$27.7 \pm 1.2$ e	$27.8 \pm 1.3$ a
<b>DAGF</b>	$121.4 \pm 3.9$ a	$106.7 \pm 1.7$ a	$79.2 \pm 3.5$ a	$14.0 \pm 0.8$ f
<b>DAGF + IJ</b>	$93.1 \pm 1.6$ c	$84.8 \pm 6.5$ b	$56.6 \pm 3.5$ b	$16.4 \pm 0.8$ d
<b>DAGF + KOM-J</b>	$55.5 \pm 1.2$ e	$68.3 \pm 3.0$ d	$33.0 \pm 1.1$ d	$24.9 \pm 0.6$ b
<b>DAGF + ISJ</b>	$113.0 \pm 3.5$ b	$84.8 \pm 5.8$ b	$55.6 \pm 3.3$ b	$15.2 \pm 0.6$ e
<b>DAGF + KOM-F</b>	$90.6 \pm 2.3$ c	$72.4 \pm 3.0$ c	$36.3 \pm 0.8$ c	$21.7 \pm 0.8$ c
<b>DAGF + KOM-SF</b>	$63.0 \pm 1.5$ d	$71.4 \pm 1.3$ c	$35.0 \pm 1.9$ c	$24.7 \pm 1.2$ b

Datos expresados como media  $\pm$  EE ( $n=8$ ). Letras diferentes indican diferencia estadística significativa  $p \leq 0.05$  con la prueba de Tukey. **DE**: Dieta estándar, **DAGF**: Dieta alta en grasa y fructosa, **DAGF + KOM-J**: Dieta alta en grasa y fructosa suplementada con el análogo de kombucha de cálices de jamaica, **DAGF + KOM-F**: Dieta alta en grasa y fructosa suplementada con el análogo de kombucha del subproducto de jamaica filtrado, **DAGF + KOM-SF**: Dieta alta en grasa y fructosa suplementada con el análogo de kombucha del subproducto de jamaica sin filtrar.

Efectos similares han sido reportados para el consumo de kombuchas elaboradas con *Camellia sinensis*, uva de mar (*Caulerpa racemosa*) y *Clitoria ternatea* en modelos experimentales de dislipidemia inducida por la dieta. Se ha observado que su consumo reduce significativamente los niveles de triglicéridos (27-41 %), colesterol total (18-54 %) y colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL-c) (27-36 %) e incrementos de HDL hasta 3.6 veces (Yang *et al.*, 2009; Bellassoued *et al.*, 2015; Permatasari *et al.*, 2022; Linda *et al.*, 2025).

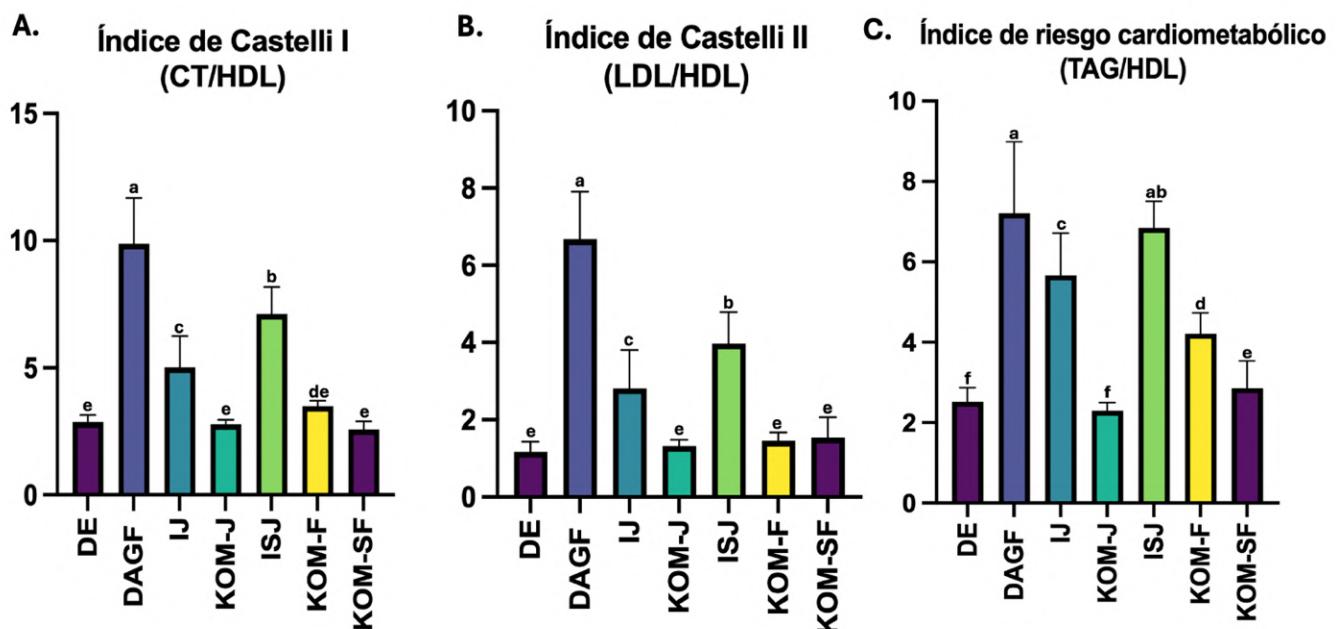
Aunque los estudios sobre los efectos del consumo de kombucha en el control del peso corporal aún son limitados, las mejoras en el perfil lipídico se encuentran entre los beneficios más documentados en la literatura científica sobre esta bebida. Estos efectos positivos se han atribuido, en parte, a la capacidad de la kombucha para inhibir la actividad de las lipasas, reduciendo así la absorción de lípidos de la dieta, de manera similar a fármacos antiobesogénicos como el orlistat (Permatasari *et al.*, 2022). Este efecto inhibitorio parece estar mediado por la acción de flavonoides presentes en la bebida, disminuyendo la lipólisis de las grasas alimentarias y, por ende, reduciendo la absorción intestinal de ácidos grasos y su paso hacia la circulación sistémica (Linda *et al.*, 2025).

Además de sus propiedades antioxidantes y efecto prebiótico, los polifenoles desempeñan un papel clave en la regulación del metabolismo mediante la activación de la sirtuina 1 (SIRT-1). En individuos con sobrepeso u obesidad se ha reportado una disminución en los niveles de SIRT-1, así como una menor expresión de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK) y del coactivador  $\gamma$ -1 del receptor activado por proliferadores de peroxisomas (PGC-1 $\alpha$ ) (Shi *et al.*, 2018). Estudios indican que la kombucha elaborada con té negro puede activar la vía SIRT1-AMPK-PGC1 $\alpha$ , promoviendo la  $\beta$ -oxidación y aumentando el gasto energético. Simultáneamente, inhibe el factor de transcripción SREBP-1c, el cual controla la expresión de enzimas lipogénicas como la acetil-CoA carboxilasa (ACC), la sintasa de ácidos grasos (FAS) y la HMG-CoA reductasa, esta última involucrada en la regulación de la síntesis de colesterol (Costa *et al.*, 2021).

Finalmente, aunque los efectos beneficiosos del consumo de kombucha se han atribuido ampliamente al contenido de compuestos fenólicos y microorganismos probióticos, también están fuertemente relacionados con la presencia de ácidos orgánicos. En un modelo de *Drosophila*, el consumo de kombucha elaborado con té negro promovió eficazmente la lipólisis y suprimió la lipogénesis. Los autores vincularon estos efectos directamente con la acción de los ácidos orgánicos presentes en la bebida (DuMez-Kornegay *et al.*, 2024).

En particular, el ácido acético ha demostrado la capacidad de inhibir tanto la lipogénesis como la colesterogénesis en el hígado, un órgano con funciones metabólicas similares a las del tejido adiposo de *Drosophila*. Asimismo, el ácido glucurónico y el ácido D-sacárico 1,4-lactona han sido reconocidos por su capacidad para inhibir la hiperlipidemia y reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, contribuyendo así a contrarrestar la obesidad, la DM2 y la hipercolesterolemia (Tran *et al.*, 2024).

En la Figura 19 se presentan los índices aterogénicos, los cuales son relaciones matemáticas derivadas de parámetros lipídicos sanguíneos que permiten estimar el riesgo cardiovascular de manera más integral que los valores individuales (Fernández-Macías *et al.*, 2019).



**Figura 19.** Efecto de la suplementación con análogos de kombucha elaborados a partir de cálices de jamaica y su subproducto sobre los índices aterogénicos en ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y fructosa. Se presentan el índice de Castelli I (A), el índice de Castelli II (B) y el índice de riesgo cardiometabólico (C). Datos expresados como media  $\pm$  DE (n=8). Valores con diferente letra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) por la prueba de Tukey-Kramer. **DE:** Dieta estándar, **DAGF:** Dieta alta en grasa y fructosa, **KOM-J:** Dieta alta en grasa y fructosa suplementada con el análogo de kombucha de cálices de jamaica, **KOM-F:** Dieta alta en grasa y fructosa suplementada con el análogo de kombucha de subproducto de jamaica filtrado, **KOM-SF:** Dieta alta en grasa y fructosa suplementada con el análogo de kombucha del subproducto de jamaica sin filtrar.

En la Figura 19A se muestra el índice de Castelli I (Colesterol total/HDL-C), que evalúa el equilibrio entre el colesterol total y el colesterol de alta densidad (HDL-C), considerado protector. La Figura 19B muestra los valores del índice de Castelli II (LDL-C/HDL-C), el cual mide la proporción entre colesterol LDL y HDL, y es considerado un buen predictor del riesgo coronario. La Figura 19C presenta el índice de riesgo cardiometabólico (Triglicéridos/HDL-C), también conocido como TG/HDL-C. Para los 3 índices se observó un incremento en los valores de los animales obesos entre 2-3 veces comparado con el grupo sano. Los grupos que recibieron IJ como ISJ presentaron una disminución significativa en estos índices en comparación con el grupo control obeso. No obstante, dicha disminución no fue suficiente para alcanzar valores similares al grupo control sano. Para todos los índices, los grupos que consumieron análogos de kombucha mostraron valores similares al grupo sano, a excepción del índice del riesgo cardiometabólico, donde KOM-F y KOM SF presentaron menores valores comparado con el grupo DAGF, pero estos no fueron normalizados.

Los resultados obtenidos para los índices aterogénicos permiten establecer que el consumo de las bebidas fermentadas evaluadas (KOM-J, KOM-F y KOM-SF) ejercieron un efecto significativamente más favorable sobre el perfil lipídico en comparación con los tratamientos no fermentados (IJ e ISJ). Esto sugiere que el proceso de fermentación potencia las propiedades funcionales del sustrato, tanto del cáliz como del subproducto de jamaica.

En conjunto, los tres índices analizados evidenciaron una tendencia consistente hacia la mejora del perfil lipídico y la reducción del riesgo cardiovascular y cardiometabólico en los grupos que consumieron las bebidas fermentadas. Estos hallazgos respaldan el potencial de las bebidas funcionales fermentadas como estrategia nutricional complementaria en la prevención y manejo de dislipidemias asociadas a la obesidad.

#### 5.4.2 Efectos sobre alteraciones metabólicas asociadas al metabolismo de carbohidratos

La obesidad constituye un factor determinante en el desarrollo de DM2 vinculada a la RI. En individuos obesos, el tejido adiposo libera mayores cantidades de ácidos grasos libres y citocinas proinflamatorias, lo que contribuye a la disfunción en la señalización de la insulina (Wondmkun, 2020).

El Cuadro 7 muestra los niveles séricos de glucosa e insulina en los diferentes grupos experimentales. Tras 16 semanas de intervención, las ratas alimentadas con la dieta alta en grasa y fructosa (DAGF) exhibieron un aumento del 11.5 % en la glucosa en ayuno y un incremento de hasta 314.7 % en la insulina sérica, en comparación con el grupo que recibió la dieta estándar (DE)

**Cuadro 7.** Parámetros en suero de ratas alimentadas con una dieta DAGF y suplementadas con análogos de kombucha de jamaica y las infusiones sin fermentar

Tratamiento	Parámetros	
	Glucosa (mg/dL)	Insulina (ng/dL)
DE	167.52 ± 2.57e	5.28 ± 0.18e
DAGF	186.90 ± 2.18b	16.62 ± 0.77ab
DAGF + IJ	209.70 ± 1.92a	17.38 ± 1.20a
DAGF + KOM-J	161.68 ± 2.31f	4.92 ± 0.27f
DAGF + ISJ	180.80 ± 1.53c	14.85 ± 0.71c
DAGF + KOM-F	174.96 ± 2.51d	6.96 ± 0.66d
DAGF + KOM-SF	173.19 ± 1.91d	5.63 ± 0.24e

Los resultados se presentan como media ± error estándar (n = 8). Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ), determinadas mediante la prueba de Tukey. **DE**: dieta estándar; **DAGF**: dieta rica en grasa y fructosa; **DAGF + KOM-J**: dieta enriquecida con el análogo de kombucha elaborado a partir de cálices de jamaica; **DAGF + KOM-F**: dieta complementada con el análogo filtrado del subproducto de jamaica; **DAGF + KOM-SF**: dieta complementada con el análogo sin filtrar del subproducto de jamaica

El consumo de kombucha generó una reducción estadísticamente significativa en los niveles de glucosa en los diferentes grupos experimentales; sin embargo, la magnitud de estas disminuciones varía en cuanto a su relevancia clínica y fisiológica. En particular, el grupo suplementado con KOM-J presentó una reducción del 13.5 %, la cual puede considerarse clínicamente relevante, ya que estudios previos en modelos de ratas Wistar alimentadas con DAGF han señalado que una disminución del 10–

20 % en los niveles de glucosa en ayunas o en pruebas de tolerancia a la glucosa indica un efecto metabólicamente significativo, especialmente cuando se acompaña de mejoras en la sensibilidad a la insulina (Melo et al., 2021).

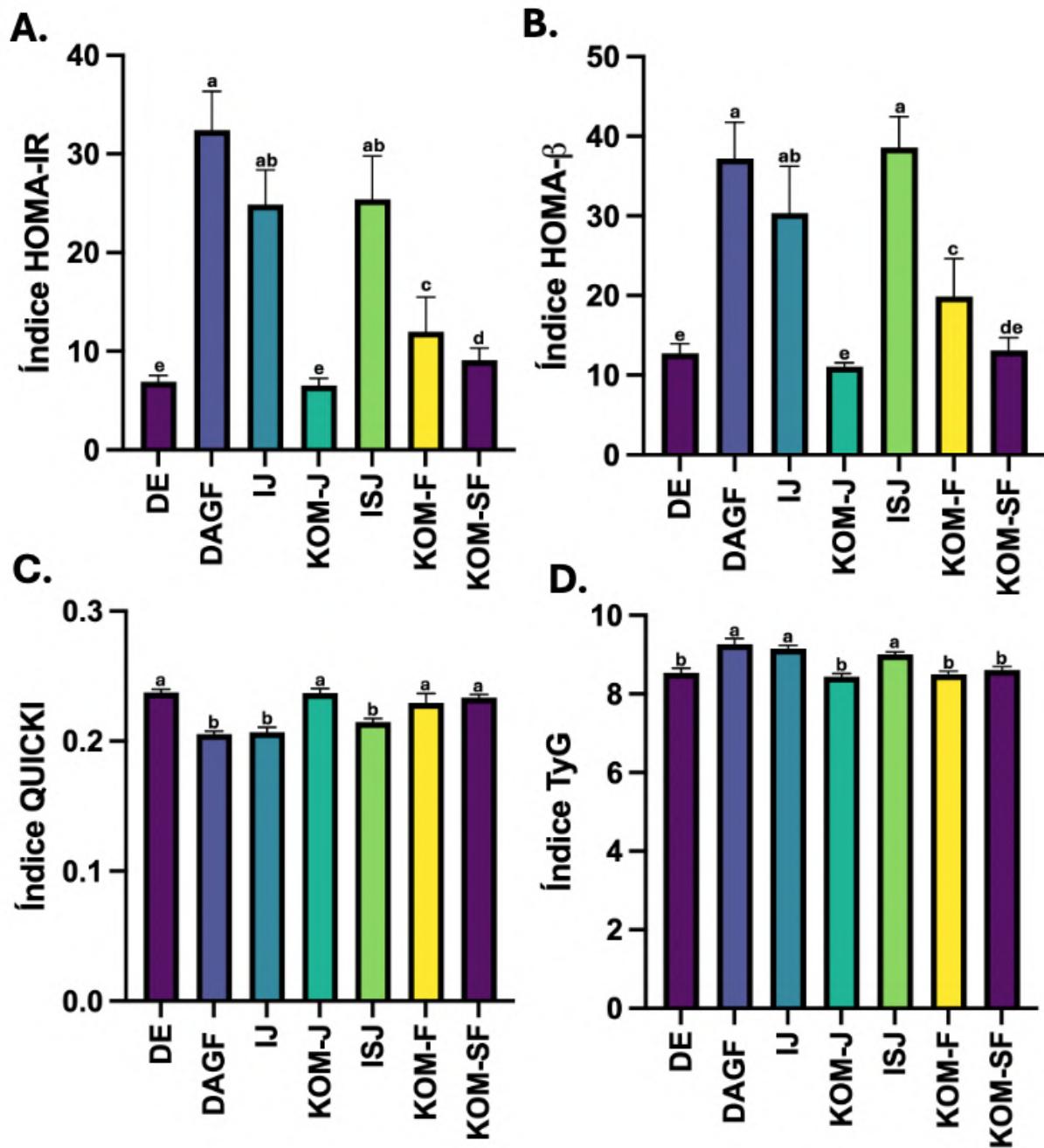
En contraste, las reducciones observadas en los grupos tratados con las bebidas KOM-F (6.3 %) y KOM-SF (7.3 %), aunque estadísticamente significativas, podrían no alcanzar el umbral necesario para ser consideradas clínicamente relevantes por sí solas. No obstante, su impacto podría adquirir mayor relevancia si estas reducciones se acompañan de mejoras en otros parámetros metabólicos, como el perfil lipídico o índices de sensibilidad a la insulina, como HOMA-IR y QUICKI, lo cual sugeriría un efecto sinérgico más amplio a nivel cardiometaabólico.

En cuanto a la insulina sérica, se observaron menores concentraciones del 70.3 %, 58.1 % y 66.1 % en los grupos suplementados con KOM-J, KOM-F y KOM-SF, respectivamente, en comparación con el grupo control alimentado con una DAGF ( $p \leq 0.05$ ).

Se calcularon los índices HOMA-IR y QUICKI para evaluar la resistencia general a la insulina (Figuras 20A y 20C). El grupo alimentado con DAGF presentó los valores más elevados de HOMA-IR (469.5 %) y los más bajos de QUICKI (-13.5 %), en comparación con el grupo alimentado con DE, lo que indica el desarrollo de RI en los animales obesos.

Todos los grupos suplementados con análogos de kombucha mostraron una prevención de la RI. En particular, el grupo que recibió KOM-J presentó un índice HOMA-IR estadísticamente similar al del grupo DE, sugiriendo una restauración significativa de la sensibilidad a la insulina. El grupo con la bebida KOM-J tuvo el mayor efecto benéfico, con menores valores del HOMA-IR de 79.7 %, seguido por KOM-SF (-71.8 %) y KOM-F (-63 %), en comparación con el grupo DAGF. Asimismo, el consumo de KOM-J, KOM-F y KOM-SF promovió un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) en el índice QUICKI, hasta del 15.2 %, 11.7 % y 13.6 %,

respectivamente, respecto al grupo DAGF, lo que indica una mejora en la sensibilidad a la insulina.



**Figura 20.** Efecto de la suplementación con análogos de kombucha elaborados a partir de cálices de jamaica y su subproducto sobre la estimación de la resistencia a la insulina mediante los índices HOMA-IR (A), HOMA- $\beta$  (B), QUICKI (C), y el índice TyG (D). Datos expresados como media  $\pm$  DE (n=8). Valores con diferente letra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) por la prueba de Tukey-Kramer. **DE:** Dieta estándar, **DAGF:** Dieta alta en grasa y fructosa, **KOM-J:** Dieta alta en grasa y fructosa suplementada con el análogo de kombucha de

cálices de jamaica, **KOM-F**: Dieta alta en grasa y fructosa suplementada con el análogo de kombucha del subproducto de jamaica filtrado, **KOM-SF**: Dieta alta en grasa y fructosa suplementada con el análogo de kombucha del subproducto de jamaica sin filtrar.

Respecto a los índices HOMA- $\beta$  y TyG se observaron comportamientos similares, los grupos suplementados con los análogos de kombucha —tanto elaborados con jamaica como con su subproducto— mostraron una reducción significativa en ambos parámetros ( $p \leq 0.05$ ). El índice HOMA- $\beta$  se relaciona con la funcionalidad de las células  $\beta$ -pancreáticas, por lo que su disminución sugiere una menor actividad secretora; mientras que el índice TyG está asociado con la RI, indicando que valores más bajos reflejan una mejor sensibilidad insulínica.

Resultados similares han sido reportados en ratones y ratas con DM2 inducida por estreptozotocina (STZ) en donde el consumo de kombucha elaborada con té negro condujo a una disminución del 30.4 % y 56.8 % en los niveles de glucosa en ayunas y una reducción del 20.0 % y 57.4 % en los niveles de insulina, respectivamente (Xu *et al.*, 2022; Srihari *et al.*, 2013).

También se ha reportado el efecto hipoglucemiante del consumo de distintos análogos de kombucha. Por ejemplo, un análogo elaborado con *Clitoria ternatea* disminuyó en un 33 % en los niveles de glucosa sérica en ayunas en ratones alimentados con una dieta alta en grasa (Permatasari *et al.*, 2022). En ratas con DM2 inducida, el consumo de un análogo de kombucha elaborado con fruta de serpiente (*Salak Suwatu*) provocó una disminución en los niveles de glucosa, alcanzando valores similares a los observados en el grupo sano y en el grupo diabético tratado con metformina (Zubaidah *et al.*, 2019).

Por otro lado, un análogo de kombucha elaborado con hojas de encino (*Quercus convallata* y *Quercus arizonica*) fue administrado a ratones C57BL/6 alimentados con una dieta alta en grasa y fructosa, observándose una disminución hasta del 21.4 % en los niveles de glucosa sérica, así como una reducción de la RI hasta del 7.5 % en comparación con el grupo control obeso (Gamboa-Gómez *et al.*, 2017).

Diversos estudios han demostrado que el consumo de kombucha posee efectos hipoglucemiantes y puede contribuir significativamente a mejorar la RI. Estos efectos se atribuyen a una combinación de mecanismos bioquímicos y fisiológicos que actúan de forma sinérgica. Uno de los mecanismos principales es la regulación de enzimas fundamentales en el metabolismo de la glucosa. Por ejemplo, se ha reportado que la kombucha disminuye la actividad de enzimas implicadas en la gluconeogénesis, como la glucosa-6-fosfatasa y la fructosa-1,6-bisfosfatasa, mientras que aumenta la actividad de enzimas relacionadas con la glucólisis, como la hexoquinasa, promoviendo así el uso de glucosa para la generación de energía (Zubaidah et al., 2019).

Otro mecanismo fundamental es la inhibición de enzimas digestivas como la  $\alpha$ -amilasa y la  $\alpha$ -glucosidasa, responsables de la degradación de polisacáridos en el tracto gastrointestinal. Su inhibición retrasa la absorción de glucosa, reduciendo así el pico glucémico postprandial. Esta acción ha sido asociada con los compuestos fenólicos presentes en el kombucha, derivados del té utilizado como sustrato en la fermentación (Gamboa-Gómez et al., 2017).

Por otro lado, diversos metabolitos presentes en la kombucha, como los ácidos orgánicos (acético, glucurónico y láctico), han demostrado favorecer la captación de glucosa por las células, preservar la función de las células  $\beta$  pancreáticas y reducir la expresión o actividad de transportadores intestinales como GLUT1, GLUT2 y GLUT5. Esto limita la entrada de glucosa al torrente sanguíneo, contribuyendo al control glucémico (Zubaidah et al., 2019).

Los efectos reductores de glucosa en sangre atribuidos a la kombucha también se deben a su capacidad para mejorar la captación de glucosa en tejidos periféricos sensibles a la insulina, como el músculo y el tejido adiposo. Este proceso probablemente está relacionado con la translocación del transportador de glucosa tipo GLUT-4 hacia la membrana celular, facilitada por la activación de la vía de señalización insulinodependiente PI3K/Akt. Asimismo, se ha evidenciado que ciertos compuestos presentes en la kombucha pueden potenciar la secreción de insulina, lo

que a su vez activa rutas metabólicas anabólicas como la glucólisis, glucogénesis y lipogénesis, todas bajo regulación de esta hormona (Nolasco-Rodríguez *et al.*, 2022)

Estos hallazgos respaldan el potencial de la kombucha como agente coadyuvante en la prevención y control de la hiperglucemia y la RI, especialmente en contextos asociados a obesidad o dietas altas en grasas.

## **6.5 Perspectivas y limitaciones del estudio**

Los resultados obtenidos en el presente estudio sobre el potencial tecnológico y terapéutico de los análogos de kombucha de *Hibiscus sabdariffa* L. son prometedores, sin embargo; es importante considerar las limitaciones en la interpretación y aplicación de los hallazgos

Primero, la fermentación de los análogos fue llevada a cabo en condiciones controladas de laboratorio, a una escala reducida. Esto podría limitar la extrapolación de los resultados a nivel industrial, ya que variables como la temperatura ambiente, la humedad y el control microbiológico pueden comportarse de manera diferente en volúmenes mayores. Asimismo, aunque se utilizó un consorcio microbiano previamente adaptado, no se realizó un análisis de su composición microbiana durante el proceso, lo que impide asegurar la estabilidad y la reproducibilidad entre lotes.

Desde el punto de vista sensorial, aunque la aceptabilidad resultó positiva, esta se realizó en un panel reducido y posiblemente no representativo de la diversidad del consumidor objetivo. Por otro lado, no se estudió la vida de anaquel del producto ni su estabilidad a través del tiempo, lo que resulta crucial para su viabilidad comercial. Finalmente, aspectos regulatorios como el contenido alcohólico residual o el contenido final de carbohidratos tampoco fueron evaluados, por lo que aún existen limitaciones para su potencial comercialización a gran escala.

En relación con los resultados obtenidos del modelo experimental *in vivo*, los ensayos fueron realizados en un modelo preclínico de obesidad inducida por dieta en ratas

Wistar, lo cual representa una limitación inherente para este tipo de estudios, ya que los efectos fisiológicos observados no pueden trasladarse directamente en humanos, por lo que es necesaria su validación mediante estudios clínicos. Además, la duración del tratamiento fue relativamente corta, y no se incluyeron diferentes dosis para evaluar un posible efecto dosis-dependiente ni límites de seguridad. Tampoco se abordaron biomarcadores moleculares que permitan explicar de manera más profunda los mecanismos subyacentes a los efectos metabólicos observados.

Estas limitaciones abren nuevas oportunidades para investigaciones futuras enfocadas en la optimización del proceso de fermentación, la caracterización microbiológica del consorcio, el desarrollo tecnológico del producto en condiciones reales de mercado y la validación clínica de los efectos terapéuticos de la bebida.

## 7. CONCLUSIONES

- I. La elaboración de una bebida análoga de kombucha a partir de infusiones de *Hibiscus sabdariffa* L. (0.5 % p/v) mostró una mayor adaptación del consorcio microbiano en comparación con las decoccciones, lo que resultó en un producto con niveles más adecuados de acidez. Las concentraciones iniciales de azúcar al 8 % y 10 % favorecieron la fermentación; sin embargo, se seleccionó el 8 % por ser una alternativa menos calórica.
- II. El subproducto de *Hibiscus sabdariffa* L. es un sustrato adecuado para la adaptación de consorcio microbiano de kombucha, generando una bebida con propiedades fisicoquímica comparables a la elaborada a partir de cálices. Asimismo, estas bebidas presentaron un contenido relevante de compuestos fenólicos y antocianinas. La fermentación a partir de infusiones sin filtrar —un proceso no convencional— no afectó negativamente la adaptabilidad del sustrato y tampoco modificó significativamente las propiedades fisicoquímicas del producto final; por el contrario, promovió incrementos significativos en el contenido de compuestos fenólicos totales (4 veces más) y de antocianinas (7 veces más), indicando una mayor extracción de compuestos polifenólicos presentes en la matriz vegetal.
- III. La bebida KOM-J obtuvo mayor aceptabilidad y preferencia sensorial en comparación con una kombucha comercial de jamaica, destacando por su sabor, color y equilibrio dulce-ácido. Aunque algunos panelistas detectaron matices aromáticos típicos de bebidas fermentadas, estos no afectaron negativamente la evaluación global, alcanzando una media de 8.0 en la escala hedónica de 9 puntos, lo que confirma su potencial sensorial para el mercado.
- IV. Las bebidas elaboradas a partir del subproducto de jamaica (KOM-F y KOM-SF) mostraron una aceptabilidad sensorial comparable a la KOM-J, lo que indica que dicho subproducto tiene potencial de aceptación comercial. Además, no se encontraron diferencias significativas entre las bebidas KOM-F y KOM-SF, lo cual refuerza la viabilidad del uso de infusiones sin filtrar como método alternativo en el proceso de fermentación al no afectar el perfil de sabor.

- V. La fermentación de infusiones de cálices y subproductos de *Hibiscus sabdariffa* L. aumentó significativamente la concentración y diversidad de compuestos fenólicos con potencial funcional como el ácido gálico y protocatecuico y flavonoides como kaempferol 3-O-glucósido, catequina, epicatequina y epicatequina galato, así como antocianinas.
- VI. En presencia de los cálices de jamaica durante la fermentación hay una mayor liberación de compuestos fenólicos y flavonoides, posiblemente debido a la retención de partículas vegetales que facilitan el contacto enzimático, generando incrementos superiores en antocianinas (hasta 6 veces) y proantocianidinas (89 % más que la infusión), sin afectar su aceptabilidad sensorial. Estos hallazgos destacan el valor estratégico del uso de infusiones sin filtrar para potenciar el perfil funcional de bebidas fermentadas.
- VII. En el estudio preclínico de obesidad inducida la suplementación con kombucha de *Hibiscus sabdariffa* L. (KOM-J) normalizó el peso corporal y mejoró el índice de adiposidad total y porcentaje de grasa visceral, lo que sugiere una mejora sustancial en la composición corporal y en la acumulación de tejido adiposo visceral. Asimismo, los análogos fermentados elaborados a partir del subproducto de jamaica (KOM-F y KOM-SF) presentaron beneficios similares, pero estos fueron menos significativos.
- VIII. La suplementación con kombucha elaborada a partir de cálices y subproductos mejoraron significativamente el perfil lipídico en el modelo murino. Siendo la KOM-J la más eficaz, además KOM-F y KOM-SF también mostraron mejoras, aunque estas fueron menores. Estas bebidas normalizaron los índices aterogénicos (Castelli I y II, y TG/HDL-C).
- IX. La bebida KOM-J mejoró la sensibilidad a la insulina con valores de HOMA-IR y QUICKI similares al grupo sano, mostrando menores efectos la KOM-F y KOM-SF.
- X. Los efectos anteriormente mencionados podría estar parcialmente relacionados con los compuestos fenólicos, principalmente detectados en la KOM-J, comparado con la KOM-F y KOM-SF

XI. En conjunto, los análogos de kombucha elaborados con cálices y con subproductos de *Hibiscus sabdariffa L.* ejercieron efectos positivos en parámetros clave relacionados con la obesidad, el metabolismo lipídico y la glucosa. Estos hallazgos respaldan su inclusión como alternativas viables en el desarrollo de estrategias alimentarias funcionales enfocadas en la prevención de enfermedades crónico-degenerativas, además de promover la valorización de residuos agroindustriales con impacto en la sostenibilidad y la salud pública.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Aji, O. R., Putri, A. T., Handayani, E. B., & Ihsani, N. (2024). In vitro evaluation of antioxidant and lipase inhibition properties of rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) flower kombucha. *Journal of Biotechnology and Natural Science*, 4(2), 55-62. <http://journal2.uad.ac.id/index.php/JBNS/article/view/11271>
- Akhtar, D. H., Iqbal, U., Vazquez-Montesino, L. M., Dennis, B. B., & Ahmed, A. (2019). Pathogenesis of insulin resistance and atherogenic dyslipidemia in nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 7, 1-9. <https://doi.org/10.14218/JCTH.2019.00028>
- Amaya-Cruz, D. M., Perez-Ramirez, I. F., Ortega-Diaz, D., Rodriguez-Garcia, M. E., & Reynoso-Camacho, R. (2018). Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) by-product as functional ingredient: Effect of thermal processing and particle size reduction on bioactive constituents and functional, morphological, and structural properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(1), 135-144. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9624-0>
- Amaya-Cruz, D., Pérez-Ramírez, I. F., Pérez-Jiménez, J., Nava, G. M., & Reynoso-Camacho, R. (2019). Comparison of the bioactive potential of Roselle (*Hibiscus sabdariffa L.*) calyx and its by-product: Phenolic characterization by UPLC-QTOF MS and their anti-obesity effect *in vivo*. *Food Research International*, 126, 108589. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108589>
- Barbosa, C. D., Trovatti Uetanabaro, A. P., Rodrigues Santos, W. C., Caetano, R. G., Albano, H., Kato, R., Cosenza, G. P., Azeredo, A., Góes-Neto, A., Rosa, C. A., Teixeira, P., Alvarenga, V. O., & Alves Lacerda, I. C. (2021). Microbial-physicochemical integrated analysis of kombucha fermentation. *LWT*, 148, 111788. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111788>
- Bellassoued, K., Ghrab, F., Makni-Ayadi, F., Pelt, J. V., Elfeki, A., & Ammar, E. (2015). Protective effect of kombucha on rats fed a hypercholesterolemic diet is mediated by its antioxidant activity. *Pharmaceutical Biology*, 53(11), 1699-1709. <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.1001408>

- Bortolomedi, B. M., Paglarini, C. S., & Brod, F. C. A. (2022). Bioactive compounds in kombucha: A review of substrate effect and fermentation conditions. *Food Chemistry*, 385, 132719. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132719>
- Calderón-DuPont, D., Torre-Villalvazo, I., & Díaz-Villaseñor, A. (2023). Is insulin resistance tissue-dependent and substrate-specific? The role of white adipose tissue and skeletal muscle. *Biochimie*, 204, 48-68. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2022.08.021>
- Cannataro, R. (2025). Obesity and gut health: Link for the future. Could kombucha be our ally? *The Journal of Nutrition*, 155(5), 1283-1284. <https://doi.org/10.1016/j.tjnut.2025.02.016>
- Cano Y Postigo, L. O., Jacobo-Velázquez, D. A., Guajardo-Flores, D., García Amezquita, L. E., & García-Cayuela, T. (2021). Solid-state fermentation for enhancing the nutraceutical content of agrifood by-products: Recent advances and its industrial feasibility. *Food Bioscience*, 41, 100926. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100926>
- Cardoso, R. R., Neto, R. O., Dos Santos D'Almeida, C. T., Do Nascimento, T. P., Pressete, C. G., Azevedo, L., Martino, H. S. D., Cameron, L. C., Ferreira, M. S. L., & Barros, F. A. R. D. (2020). Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*, 128, 108782. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108782>
- Carrasco-Pozo, C., Cires, M. J., & Gotteland, M. (2019). Quercetin and epigallocatechin gallate in the prevention and treatment of obesity: From molecular to clinical studies. *Journal of Medicinal Food*, 22(8), 753-770. <https://doi.org/10.1089/jmf.2018.0193>
- Cauich, I., García Rodríguez, J. F., Pat Fernández, V. G., & Lorenzo Ambrosio, V. (2020). Análisis de la rentabilidad de la producción de Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*). *Panorama Económico*, 28(2), 94-101. <https://doi.org/10.32997/pe-2020-2691>
- Cerda-Cejudo, N. D., Buenrostro-Figueroa, J. J., Sepúlveda-Torre, L., Torres-León, C., Chávez-González, M. L., Ascacio-Valdés, J. A., & Aguilar, C. N. (2023).

- Solid-state fermentation for the recovery of phenolic compounds from agro-wastes. *Resources*, 12(3), 36. <https://doi.org/10.3390/resources12030036>
- Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 63-72. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015>
- Chatelan, A., Raeisi-Dehkordi, H., & Salehi-Abargouei, A. (2024). Substituting low-calorie sweetened beverages for sugar-sweetened beverages to prevent obesity and cardiometabolic diseases: Still a good idea? *Current Developments in Nutrition*, 8(3), 102105. <https://doi.org/10.1016/j.cdnut.2024.102105>
- Chen, J., Huang, H., Chen, Y., Xie, J., Song, Y., Chang, X., Liu, S., Wang, Z., Hu, X., & Yu, Q. (2020). Effects of fermentation on the structural characteristics and in vitro binding capacity of soluble dietary fiber from tea residues. *LWT*, 131, 109818. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109818>
- Choi, M.-H., Yang, S.-H., Lee, Y.-J., Sohn, J. H., Lee, K. S., & Shin, H.-J. (2023). Anti-obesity effect of daidzein derived from *Pachyrhizus erosus* (L.) urb. extract via PPAR pathway in mdi-induced 3t3-l1 cell line. *Cosmetics*, 10(6), 164. <https://doi.org/10.3390/cosmetics10060164>
- Corbo, M. R., Bevilacqua, A., Petruzzi, L., Casanova, F. P., & Sinigaglia, M. (2014). Functional beverages: The emerging side of functional foods: commercial trends, research, and health implications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(6), 1192-1206. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12109>
- Cosme, F., Inês, A., & Vilela, A. (2023). Microbial and commercial enzymes applied in the beverage production process. *Fermentation*, 9(4), 385. <https://doi.org/10.3390/fermentation9040385>
- Costa, M. A. D. C., Vilela, D. L. D. S., Fraiz, G. M., Lopes, I. L., Coelho, A. I. M., Castro, L. C. V., & Martin, J. G. P. (2021). Effect of kombucha intake on the gut microbiota and obesity-related comorbidities: A systematic review. *Critical*

- Reviews in Food Science and Nutrition, 63(19), 3851-3866.  
<https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1995321>
- Coton, M., Pawtowski, A., Taminiau, B., Burgaud, G., Deniel, F., Coulloumme-Labarthe, L., Fall, A., Daube, G., & Coton, E. (2017). Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. *FEMS Microbiology Ecology*, 93(5).  
<https://doi.org/10.1093/femsec/fix048>
- Davids, S. F. G., Matsha, T. E., Peer, N., Erasmus, R. T., & Kengne, A. P. (2020). The 7-year change in the prevalence of insulin resistance, inflammatory biomarkers, and their determinants in an urban south african population. *Journal of Diabetes Research*, 2020, 1-11.  
<https://doi.org/10.1155/2020/3781214>
- De Campos-Costa, M. A. , Da Silva Duarte, V., Fraiz, G. M., Cardoso, R. R., Da Silva, A., Martino, H. S. D., Dos Santos D'Almeida, C. T., Ferreira, M. S. L., Corich, V., Hamaker, B. R., Giacomini, A., Bressan, J., & Barros, F. A. R. D. (2021). Regular consumption of black tea kombucha modulates the gut microbiota in individuals with and without obesity. *The Journal of Nutrition*, 155(5), 1331-1349. <https://doi.org/10.1016/j.jn.2024.12.013>
- De Moura E Dias, M., Dos Reis, S. A., Da Conceição, L. L., Sediyyama, C. M. N. D. O., Pereira, S. S., De Oliveira, L. L., Gouveia Peluzio, M. D. C., Martinez, J. A., & Milagro, F. I. (2021). Diet-induced obesity in animal models: Points to consider and influence on metabolic markers. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 13(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s13098-021-00647-2>
- De Roos, J., & De Vuyst, L. (2018). Acetic acid bacteria in fermented foods and beverages. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 115-119.  
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.08.007>
- Delgado, A. M., Issaoui, M., & Chammem, N. (2019). Analysis of main and healthy phenolic compounds in foods. *Journal of AOAC International*, 102(5), 1356-1364. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.19-0128>
- Delgado, S. (2019) México, primer consumidor de refrescos en el mundo. *Gaceta UNAM*. <https://www.gaceta.unam.mx/mexico-primer-consumidor/>

- Diez-Ozaeta, I., & Astiazaran, O. J. (2022). Recent advances in Kombucha tea: Microbial consortium, chemical parameters, health implications and biocellulose production. *International Journal of Food Microbiology*, 377, 109783. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109783>
- Drake, M. A., Watson, M. E., & Liu, Y. (2023). Sensory analysis and consumer preference: Best practices. *Annual Review of Food Science and Technology*, 14(1), 427-448. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-060721-023619>
- DuMez-Kornegay, R. N., Baker, L. S., Morris, A. J., DeLoach, W. L. M., & Dowen, R. H. (2024). Kombucha Tea-associated microbes remodel host metabolic pathways to suppress lipid accumulation. *PLoS Genetics*, 20(3), e1011003. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1011003>
- Emam, A. M., & Ashour, E. Z. (2022). Production of fermented tea from a variety of sources as a soft functional beverage. *والضيافة والسياحة للتراث الدولي المجلة*, 16(3), 141-152. <https://doi.org/10.21608/jihtha.2022.280865>
- ENSANUT *Encuesta nacional de salud y nutrición*. (2018). ENCUESTAS. Recuperado 7 de mayo de 2024, de [https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanutcontinua2022/documentos\\_analiticos.php](https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanutcontinua2022/documentos_analiticos.php)
- ENSANUT *Encuesta nacional de salud y nutrición*. (2022). ENCUESTAS. Recuperado 7 de mayo de 2024, de [https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanutcontinua2022/documentos\\_analiticos.php](https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanutcontinua2022/documentos_analiticos.php)
- Esa, F., Tasirin, S. M., & Rahman, N. A. (2014). Overview of bacterial cellulose production and application. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 113-119. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.017>
- Farhana, A., & Rehman, A. (2025). Metabolic consequences of weight reduction. En *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK572145/>
- Fernández-Macías, J. C., Ochoa-Martínez, A. C., Varela-Silva, J. A., & Pérez-Maldonado, I. N. (2019). Atherogenic index of plasma: Novel predictive

- biomarker for cardiovascular illnesses. *Archives of Medical Research*, 50(5), 285-294. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2019.08.009>
- Fotakis, C., Tsigrimani, D., Tsiaka, T., Lantzouraki, D. Z., Strati, I. F., Makris, C., Tagkouli, D., Proestos, C., Sinanoglou, V. J., & Zoumpoulakis, P. (2016). Metabolic and antioxidant profiles of herbal infusions and decoctions. *Food Chemistry*, 211, 963-971. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.124>
- 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(1), 123-126. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612014005000012>
- Gamboa-Gómez, C. I., Simental-Mendía, L. E., González-Laredo, R. F., Alcantar-Orozco, E. J., Monserrat-Juarez, V. H., Ramírez-España, J. C., Gallegos-Infante, J. A., Moreno-Jiménez, M. R., & Rocha-Guzmán, N. E. (2017). In vitro and in vivo assessment of anti-hyperglycemic and antioxidant effects of Oak leaves (*Quercus convallata* and *Quercus arizonica*) infusions and fermented beverages. *Food Research International*, 102, 690-699. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.040>
- Gaur, G., & Gänzle, M. G. (2023). Conversion of (Poly)phenolic compounds in food fermentations by lactic acid bacteria: Novel insights into metabolic pathways and functional metabolites. *Current Research in Food Science*, 6, 100448. <https://doi.org/10.1016/j.crfss.2023.100448>
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2003). Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*, 14(3), 217-225. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(02\)00221-8](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(02)00221-8)
- Gupta, A., Sanwal, N., Bareen, M. A., Barua, S., Sharma, N., Joshua Olatunji, O., Prakash Nirmal, N., & Sahu, J. K. (2023). Trends in functional beverages: Functional ingredients, processing technologies, stability, health benefits, and consumer perspective. *Food Research International*, 170, 113046. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113046>

- GVR. Grand View Research (2020). Kombucha Market Size Worth \$7.05 Billion By 2027. Market intelligence platform <https://www.grandviewresearch.com/press-release/globalkombucha-market>. Fecha de consulta 5 mayo 2023
- Hall, K. D., Ayuketah, A., Brychta, R., Cai, H., Cassimatis, T., Chen, K. Y., Chung, S. T., Costa, E., Courville, A., Darcey, V., Fletcher, L. A., Forde, C. G., Gharib, A. M., Guo, J., Howard, R., Joseph, P. V., McGehee, S., Ouwerkerk, R., Raisinger, K., & Zhou, M. (2020). Ultra-processed diets cause excess calorie intake and weight gain: An inpatient randomized controlled trial of ad libitum food intake. *Cell Metabolism*, 32(4), 690. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.08.014>
- Hardinsyah, H., Gunawan, W. B., Nurkolis, F., Alisaputra, D., Kurniawan, R., Mayulu, N., Taslim, N. A., & Tallei, T. E. (2023). Antioesity potential of major metabolites from *Clitoria ternatea* kombucha: Untargeted metabolomic profiling and molecular docking simulations. *Current Research in Food Science*, 6, 100464. <https://doi.org/10.1016/j.crefs.2023.100464>
- Heimler, D., Vignolini, P., Dini, M. G., Vincieri, F. F., & Romani, A. (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food Chemistry*, 99(3), 464-469. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.057>
- Herranz-López, M., Olivares-Vicente, M., Encinar, J., Barrajón-Catalán, E., Segura-Carretero, A., Joven, J., & Micol, V. (2017). Multi-targeted molecular effects of *Hibiscus sabdariffa* polyphenols: An opportunity for a global approach to obesity. *Nutrients*, 9(8), 907. <https://doi.org/10.3390/nu9080907>
- Hornedo-Ortega, R., Álvarez-Fernández, M. A., Cerezo, A. B., Garcia-Garcia, I., Troncoso, A. M., & Garcia-Parrilla, M. C. (2017). Influence of fermentation process on the anthocyanin composition of wine and vinegar elaborated from strawberry. *Journal of Food Science*, 82(2), 364-372. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13624>
- Hough, G., & Fiszman, S. (2005). *Estimación de la vida útil sensorial de alimentos* (1a. ed.). Madrid Programa CYTED 20

INEGI Instituto Nacional de Estadística y Geografía (2022) Estadísticas de Defunciones Registradas (EDR) correspondientes a 2022.

Iwasaki, Y., Sawada, T., Hatayama, K., Ohyagi, A., Tsukuda, Y., Namekawa, K., Ito, R., Saito, K., & Nakazawa, H. (2012). Separation technique for the determination of highly polar metabolites in biological samples. *Metabolites*, 2(3), 496-515. <https://doi.org/10.3390/metabo2030496>

Izquierdo-Vega, J., Arteaga-Badillo, D., Sánchez-Gutiérrez, M., Morales-González, J., Vargas-Mendoza, N., Gómez-Aldapa, C., Castro-Rosas, J., Delgado-Olivares, L., Madrigal-Bujaidar, E., & Madrigal-Santillán, E. (2020). Organic acids from roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)—A brief review of its pharmacological effects. *Biomedicines*, 8(5), 100. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8050100>

Jakubczyk, K., Kałduńska, J., Kochman, J., & Janda, K. (2020). Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. *Antioxidants*, 9(5), 447. <https://doi.org/10.3390/antiox9050447>

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. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>

Jayabalan, R., Marimuthu, S., & Swaminathan, K. (2007). Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chemistry*, 102(1), 392-398. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.032>

Jellinger, P. S., Handelman, Y., Rosenblit, P. D., Bloomgarden, Z. T., Fonseca, V. A., Garber, A. J., Grunberger, G., Guerin, C. K., Bell, D. S. H., Mechanick, J. I., Pessah-Pollack, R., Wyne, K., Smith, D., Brinton, E. A., Fazio, S., Davidson, M., Jellinger, P. S., Handelman, Y., Bell, D. S. H., & Davidson, M. H. (2017). American association of clinical endocrinologists and American college of endocrinology guidelines for management of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease. *Endocrine Practice*, 23, 1-87. <https://doi.org/10.4158/EP171764.APPGL>

- Junker, D., Wu, M., Reik, A., Raspe, J., Rupp, S., Han, J., Nähbauer, S. M., Wiechert, M., Somasundaram, A., Burian, E., Waschulzik, B., Makowski, M. R., Hauner, H., Holzapfel, C., & Karampinos, D. C. (2024). Impact of baseline adipose tissue characteristics on change in adipose tissue volume during a low calorie diet in people with obesity—Results from the LION study. *International Journal of Obesity*, 48(9), 1332-1341. <https://doi.org/10.1038/s41366-024-01568-6>
- Khosravi, S., Safari, M., Emam-Djomeh, Z., & Golmakani, M.-T. (2019). Development of fermented date syrup using Kombucha starter culture. *Journal of food processing and preservation*, 43(2), e13872. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13872>
- Kim, H., Hur, S., Lim, J., Jin, K., Yang, T., Keehm, I., Kim, S. W., Kim, T., & Kim, D. (2023). Enhancement of the phenolic compounds and antioxidant activities of Kombucha prepared using specific bacterial and yeast. *Food Bioscience*, 56, 103431. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103431>
- Kim, H., Jeon, J., Lee, J., Song, C., Gu, B., Kim, N. M., Yang, T., Oh, S., Park, S., Pal, K., Kim, G. J., & Kim, D. (2025). Utilizing kombucha culture for coffee fermentation and biochemical characteristic analysis. *Current Research in Food Science*, 10, 100996. <https://doi.org/10.1016/j.crefs.2025.100996>
- Kitwetcharoen, H., Phung, L. T., Klanrit, P., Thanonkeo, S., Tippayawat, P., Yamada, M., & Thanonkeo, P. (2023). Kombucha healthy drink—Recent advances in production, chemical composition and health benefits. *Fermentation*, 9(1), 48. <https://doi.org/10.3390/fermentation9010048>
- La Torre, C., Fazio, A., Caputo, P., Plastina, P., Caroleo, M. C., Cannataro, R., & Cione, E. (2021). Effects of long-term storage on radical scavenging properties and phenolic content of kombucha from black tea. *Molecules*, 26(18), 5474. <https://doi.org/10.3390/molecules26185474>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126454>

- 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. <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1734150>
- Leonarski, E., Guimarães, A. C., Cesca, K., & Poletto, P. (2022). Production process and characteristics of kombucha fermented from alternative raw materials. *Food Bioscience*, 49, 101841. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101841>
- Li, H., & Liu, F. (2015). The chemistry of sour taste and the strategy to reduce the sour taste of beer. *Food Chemistry*, 185, 200-204. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.135>
- Li, M., Chi, X., Wang, Y., Setrerrahmane, S., Xie, W., & Xu, H. (2022). Trends in insulin resistance: Insights into mechanisms and therapeutic strategy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 216. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01073-0>
- Liang, W., Wang, X., Zhang, L., Jiao, S., Song, H., Sun, J., & Wang, D. (2024). Changes and biotransformation mechanism of main functional compounds during kombucha fermentation by the pure cultured tea fungus. *Food Chemistry*, 458, 140242. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140242>
- Linda, Lukitasari, L., Kencono Wungu, C. D., Humairah, I., Yuliawati, T. H., Sulistiawati, & Darmawan, R. (2025). Effect of kombucha green tea (*Camellia sinensis*) on mRNA SREBP-1c expression of dyslipidemic model rats. *Salud, Ciencia y Tecnología - Serie de Conferencias*, 4, 1520. <https://doi.org/10.56294/sctconf20251520>
- Lorenzatti, A. J., & Toth, P. P. (2020). New perspectives on atherogenic dyslipidaemia and cardiovascular disease. *European Cardiology Review*, 15, e04. <https://doi.org/10.15420/ecr.2019.06>
- Mach, F., Baigent, C., Catapano, A. L., Koskinas, K. C., Casula, M., Badimon, L., Chapman, M. J., De Backer, G. G., Delgado, V., Ference, B. A., Graham, I. M., Halliday, A., Landmesser, U., Mihaylova, B., Pedersen, T. R., Riccardi, G., Richter, D. J., Sabatine, M. S., Taskinen, M.-R., & Patel, R. S. (2020). 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification

- to reduce cardiovascular risk. *European Heart Journal*, 41(1), 111-188. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz455>
- Magkos, F., Fraterrigo, G., Yoshino, J., Luecking, C., Kirbach, K., Kelly, S. C., de las Fuentes, L., He, S., Okunade, A. L., Patterson, B. W., & Klein, S. (2016). Effects of moderate and subsequent progressive weight loss on metabolic function and adipose tissue biology in humans with obesity. *Cell Metabolism*, 23(4), 591-601. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.02.005>
- Malbaša, R. V., Lončar, E., & Kolarov, L. (2002). Sucrose and inulin balance during tea fungus fermentation. *Roum Biotechnol Lett*, 7(1), 573-576.
- Malbaša, R., Lončar, E., & Djurić, M. (2008). Comparison of the products of Kombucha fermentation on sucrose and molasses. *Food Chemistry*, 106(3), 1039-1045. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.020>
- Maleš, I., Pedisić, S., Zorić, Z., Elez-Garofulić, I., Repajić, M., You, L., Vladimir-Knežević, S., Butorac, D., & Dragović-Uzelac, V. (2022). The medicinal and aromatic plants as ingredients in functional beverage production. *Journal of Functional Foods*, 96, 105210. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105210>
- Marsh, A. J., O'Sullivan, O., Hill, C., Ross, R. P., & Cotter, P. D. (2014). Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (Tea fungus) samples. *Food Microbiology*, 38, 171-178. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.09.003>
- Martínez Leal, J., Valenzuela Suárez, L., Jayabalan, R., Huerta Oros, J., & Escalante-Aburto, A. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA - Journal of Food*, 16(1), 390-399. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>
- May, A., Narayanan, S., Alcock, J., Varsani, A., Maley, C., & Aktipis, A. (2019). Kombucha: A novel model system for cooperation and conflict in a complex multi-species microbial ecosystem. *PeerJ*, 7, e7565. <https://doi.org/10.7717/peerj.7565>
- Meng, Y., Wang, X., Li, Y., Chen, J., & Chen, X. (2023). Microbial interactions and dynamic changes of volatile flavor compounds during the fermentation of

- traditional kombucha. *Food Chemistry*, 430, 137060. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137060>
- Micha, R., Shulkin, M. L., Peñalvo, J. L., Khatibzadeh, S., Singh, G. M., Rao, M., Fahimi, S., Powles, J., & Mozaffarian, D. (2017). Etiologic effects and optimal intakes of foods and nutrients for risk of cardiovascular diseases and diabetes: Systematic reviews and meta-analyses from the Nutrition and Chronic Diseases Expert Group (Nutricode). *PLOS ONE*, 12(4), e0175149. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175149>
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426-428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Morales-Luna, E., Pérez-Ramírez, I. F., Salgado, L. M., Castaño-Tostado, E., Gómez-Aldapa, C. A., & Reynoso-Camacho, R. (2019). The main beneficial effect of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) on obesity is not only related to its anthocyanin content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(2), 596-605. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9220>
- Muhialdin, B. J., Osman, F. A., Muhamad, R., Che Wan Sapawi, C. W. N. S., Anzian, A., Voon, W. W. Y., & Meor Hussin, A. S. (2019). Effects of sugar sources and fermentation time on the properties of tea fungus (kombucha) beverage. *International Food research journal*, 26(2), 481–487. [http://www.ifrj.upm.edu.my/26 \(02\) 2019/ \(13\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/26 (02) 2019/ (13).pdf)
- Narko, T., Wibowo, M. S., Damayanti, S., & Wibowo, I. (2020). Effect of kombucha culture on caffeine and chlorogenic acid content in fermentation of robusta green coffee beans(*Coffea canephora* L.). *Rasayan Journal of Chemistry*, 13(02), 1181-1186. <https://doi.org/10.31788/RJC.2020.1325675>
- Nolasco-Rodríguez, G., González-Valadez, R., García-Delgado, L., Albarrán-Rodríguez, E., Cuellar-Pérez, J. R., Bañuelos-Pineda, J., & Rosales-Cortés, M. (2022). Effect of kombucha and its non-polar components on morphological aspects of the pancreas of diabetic rats with streptozotocin. *Open Journal of Veterinary Medicine*, 12(12), 201-217. <https://doi.org/10.4236/ojvm.2022.1212016>

- Nyhan, L. M., Lynch, K. M., Sahin, A. W., & Arendt, E. K. (2022). Advances in kombucha tea fermentation: A review. *Applied Microbiology*, 2(1), 73-101. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol2010005>
- Pacheco-Ordaz, R., Wall-Medrano, A., Goñi, M. G., Ramos-Clamont-Montfort, G., Ayala-Zavala, J. F., & González-Aguilar, G. A. (2018). Effect of phenolic compounds on the growth of selected probiotic and pathogenic bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 66(1), 25-31. <https://doi.org/10.1111/lam.12814>
- Paramithiotis, S., Patra, J. K., Kotseridis, Y., & Dimopoulou, M. (2024). Fermented beverages revisited: From terroir to customized functional products. *Fermentation*, 10(1), 57. <https://doi.org/10.3390/fermentation10010057>
- Pei, K., Ou, J., Huang, J., & Ou, S. (2016). *p* -coumaric acid and its conjugates: Dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(9), 2952-2962. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7578>
- Permatasari, H. K., Firani, N. K., Prijadi, B., Irnandi, D. F., Riawan, W., Yusuf, M., Amar, N., Chandra, L. A., Yusuf, V. M., Subali, A. D., & Nurkolis, F. (2022). Kombucha drink enriched with sea grapes (*Caulerpa racemosa*) as potential functional beverage to contrast obesity: An *in vivo* and *in vitro* approach. *Clinical Nutrition ESPEN*, 49, 232-240. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2022.04.015>
- Primiani, C. N., Pujiati, Mumtahanah, M., & Ardhi, W. (2018). Kombucha fermentation test used for various types of herbal teas. *Journal of Physics: Conference Series*, 1025, 012073. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1025/1/012073>
- Pure, A., & Ebrahimi Pure, M. (2016). Antioxidant and antibacterial activity of kombucha beverages prepared using banana peel, common nettles and black tea infusions. *Applied Food Biotechnology*, 3(2). <https://doi.org/10.22037/afb.v3i2.11138>
- Qin, X., Yang, C., Si, J., Chen, Y., Xie, J., Tang, J., Dong, X., Cheng, Y., Hu, X., & Yu, Q. (2023). Fortified yogurt with high-quality dietary fiber prepared from the

- by-products of grapefruit by superfine grinding combined with fermentation treatment. *LWT*, 188, 115396. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115396>
- Rahmani, R., Beaufort, S., Villarreal-Soto, S. A., Taillandier, P., Bouajila, J., & Debouba, M. (2019). Kombucha fermentation of African mustard (*Brassica tournefortii*) leaves: Chemical composition and bioactivity. *Food Bioscience*, 30, 100414. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100414>
- Rangel-García, C. A., Reynoso-Camacho, R., Pérez-Ramírez, I. F., Morales-Luna, E., De Los Ríos, E. A., & Salgado, L. M. (2022). Serum phospholipids are potential therapeutic targets of aqueous extracts of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) against obesity and insulin resistance. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(24), 16538. <https://doi.org/10.3390/ijerph192416538>
- Rimessi, A., Previati, M., Nigro, F., Wieckowski, M. R., & Pinton, P. (2016). Mitochondrial reactive oxygen species and inflammation: Molecular mechanisms, diseases and promising therapies. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 81, 281-293. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2016.06.015>
- Rivera, J. A., Colchero, M. A., Pérez-Ferrer, C., & Barquera, S. (2024). Perspective: Mexico's experience in building a toolkit for obesity and noncommunicable diseases prevention. *Advances in Nutrition*, 15(3), 100180. <https://doi.org/10.1016/j.advnut.2024.100180>
- Rocha-Guzmán, N. E., Sariñana-Núñez, P. H., & Zamora-Arrieta, J. (2025). The biochemistry behind SCOPY and kombucha tea production. En *Kombucha* (pp. 3-22). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-13297-1.00011-5>
- Rodríguez-Romero, J. D. J., Arce-Reynoso, A., Parra-Torres, C. G., Zamora-Gasga, V. M., Mendivil, E. J., & Sáyago-Ayerdi, S. G. (2023). *In vitro* gastrointestinal digestion affects the bioaccessibility of bioactive compounds in *Hibiscus sabdariffa* beverages. *Molecules*, 28(4), 1824. <https://doi.org/10.3390/molecules28041824>
- Rojas-Martínez, R., Escamilla-Nuñez, C., Aguilar-Salinas, C. A., Castro-Porras, L., Romero-Martínez, M., & Lazcano-Ponce, E. (2024). Trends in the mortality of

- diabetes in Mexico from 1998 to 2022: A joinpoint regression and age-period-cohort effect analysis. *Public Health*, 226, 128-137. <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2023.10.038>
- Rosend, J., Kuldjärv, R., Rosenvald, S., & Paalme, T. (2019). The effects of apple variety, ripening stage, and yeast strain on the volatile composition of apple cider. *Helijon*, 5(6), e01953. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01953>
- Sabarani Lusiana Cici, Catur Retno Lestari, & Umar Hidayat. (2024). Effect of sugar on anthocyanins in rosella kombucha drink. *Jurnal Riset Pangan dan Gizi*, 6(2), 140-146. <https://doi.org/10.31964/jr-panzi.v6i2.239>
- Sabzghabaee, A., Ataei, E., Kelishadi, R., Ghannadi, A., Soltani, R., Badri, S., & Shirani, S. (2013). Effect of *Hibiscus sabdariffa* calices on dyslipidemia in obese adolescents: A triple-masked randomized controlled trial. *Materia Socio Medica*, 25(2), 76. <https://doi.org/10.5455/msm.2013.25.76-79>
- Sadh, P., Kumar, S., Chawla, P., & Duhan, J. (2018). Fermentation: A boon for production of bioactive compounds by processing of food industries wastes (By-products). *Molecules*, 23(10), 2560. <https://doi.org/10.3390/molecules23102560>
- Salous, A. E., Morejón, J., Zúñiga-Moreno, L., Cadena, N., & Mosquera, C. (2017). Elaboración y análisis sensorial de una bebida obtenida de la mezcla de flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y tamarindo (*Tamarindus indica* L.). *Revista Publicando*, 4(13 (3)), 488-501. <https://revistapublicando.org>
- Sanwal, N., Gupta, A., Barea, M. A., Sharma, N., & Sahu, J. K. (2023). Kombucha fermentation: Recent trends in process dynamics, functional bioactivities, toxicity management, and potential applications. *Food Chemistry Advances*, 3, 100421. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100421>
- Sariñana-Núñez, P. H., Rivas-Arreola, M. J., Rocha-Guzmán, N. E., Moreno-Jiménez, M. R., González-Herrera, S. M., Álvarez, S. A., Rutiaga-Quiñones, J. G., & Velázquez-Quiñones, S. E. (2024). Techno-functional aspects of kombucha analogs formulated from mulberry coproducts. *Food Chemistry*, 451, 139439. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139439>

- Sáyago-Ayerdi, S. G., Velázquez-López, C., Montalvo-González, E., & Goñi, I. (2014). By-product from decoction process of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces as a source of polyphenols and dietary fiber. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(5), 898-904. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6333>
- Serna Tenorio, J. E., Sotelo-González, A. M., Reynoso-Camacho, R., Anaya-Loyola, M. A., & Pérez Ramírez, I. F. (2023). Comprehensive characterization of the overlooked residue generated during roselle calyxes brewing with potential use as functional ingredient. *Biotechnia*, 25(3), 208-220. <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v25i3.2153>
- Setyaningsih, W., Warni, W. O. R. S., Larasati, I. D., Yanti, R., & Utami, T. (2025). Bioprocess strategies for maximizing SCOPY growth and evaluating fermentation dynamics on phenolic content and antioxidant activity in Roselle-based Kombucha. *Phytomedicine Plus*, 5(2), 100791. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2025.100791>
- Shi, W., Li, L., Ding, Y., Yang, K., Chen, Z., Fan, X., Jiang, S., Guan, Y., Liu, Z., Xu, D., & Wu, L. (2018). The critical role of epigallocatechin gallate in regulating mitochondrial metabolism. *Future Medicinal Chemistry*, 10(7), 795-809. <https://doi.org/10.4155/fmc-2017-0204>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. En *Methods in Enzymology* (pp. 152-178). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Srihari, T., Karthikesan, K., Ashokkumar, N., & Satyanarayana, U. (2013). Antihyperglycaemic efficacy of kombucha in streptozotocin-induced rats. *Journal of Functional Foods*, 5(4), 1794-1802. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.08.008>
- Tarhan Kuzu, K., Aykut, G., Tek, S., Yatmaz, E., Germec, M., Yavuz, I., & Turhan, I. (2023). Production and characterization of kombucha tea from different sources of tea and its kinetic modeling. *Processes*, 11(7), 2100. <https://doi.org/10.3390/pr11072100>

- Tolun, A., & Altintas, Z. (2019). Medicinal properties and functional components of beverages. En *Functional and Medicinal Beverages* (pp. 235-284). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816397-9.00007-8>
- Tran, D. B., Le, N. K. N., Duong, M. T., Yuna, K., Pham, L. A. T., Nguyen, Q. C. T., Tragoolpua, Y., Kaewkod, T., & Kamei, K. (2024). *drosophila* models of the anti-inflammatory and anti-obesity mechanisms of kombucha tea produced by *camellia sinensis* leaf fermentation. *Food Science & Nutrition*, 12(8), 5722-5733. <https://doi.org/10.1002/fsn3.4223>
- Tran, T., Grandvalet, C., Verdier, F., Martin, A., Alexandre, H., & Tourdot-Maréchal, R. (2020). Microbial dynamics between yeasts and acetic acid bacteria in kombucha: Impacts on the chemical composition of the beverage. *Foods*, 9(7), 963. <https://doi.org/10.3390/foods9070963>
- Tu, C., Tang, S., Azi, F., Hu, W., & Dong, M. (2019). Use of kombucha consortium to transform soy whey into a novel functional beverage. *Journal of Functional Foods*, 52, 81-89. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.024>
- Tu, C., Yu, T., Feng, S., Xu, N., Massawe, A., Shui, S., & Zhang, B. (2024). Dynamics of microbial communities, flavor, and physicochemical properties of kombucha-fermented *Sargassum fusiforme* beverage during fermentation. *LWT*, 192, 115729. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.115729>
- Tyl, C., & Sadler, G. D. (2017). Ph and titratable acidity. En S. S. Nielsen (Ed.), *Food Analysis* (pp. 389-406). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5\\_22](https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5_22)
- Vázquez-Cabral, B. D., Larrosa-Pérez, M., Gallegos-Infante, J. A., Moreno-Jiménez, M. R., González-Laredo, R. F., Rutiaga-Quiñones, J. G., Gamboa-Gómez, C. I., & Rocha-Guzmán, N. E. (2017). Oak kombucha protects against oxidative stress and inflammatory processes. *Chemico-Biological Interactions*, 272, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.05.001>
- Vekic, J., Zeljkovic, A., Cicero, A. F. G., Janez, A., Stoian, A. P., Sonmez, A., & Rizzo, M. (2022). Atherosclerosis development and progression: The role of atherogenic small, dense ldl. *Medicina*, 58(2), 299. <https://doi.org/10.3390/medicina58020299>

- Vekic, J., Zeljkovic, A., Stefanovic, A., Jelic-Ivanovic, Z., & Spasojevic-Kalimanovska, V. (2019). Obesity and dyslipidemia. *Metabolism*, 92, 71-81. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.11.005>
- Villarreal-Soto, S. A., Bouajila, J., Pace, M., Leech, J., Cotter, P. D., Souchard, J.-P., Taillandier, P., & Beaufort, S. (2020). Metabolome-microbiome signatures in the fermented beverage, Kombucha. *International Journal of Food Microbiology*, 333, 108778. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108778>
- Vitas, J., Malbasa, R., Grahovac, J., & Loncar, E. (2013). The antioxidant activity of kombucha fermented milk products with stinging nettle and winter savory. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 19(1), 129-139.
- Vukmanović, S., Vitas, J., & Malbaša, R. (2020). Valorization of winery effluent using kombucha culture. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(8). <https://doi.org/10.1111/jfpp.14627>
- Vukmanović, S., Vitas, J., Ranitović, A., Cvetković, D., Tomić, A., & Malbaša, R. (2022). Certain production variables and antimicrobial activity of novel winery effluent based kombucha. *LWT*, 154, 112726. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112726>
- Watawana, M. I., Jayawardena, N., Gunawardhana, C. B., & Waisundara, V. Y. (2015). Health, wellness, and safety aspects of the consumption of kombucha. *Journal of Chemistry*, 2015, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2015/591869>
- Wei, J., Wang, S., Zhang, Y., Yuan, Y., & Yue, T. (2019). Characterization and screening of non-Saccharomyces yeasts used to produce fragrant cider. *LWT*, 107, 191-198. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.028>
- Wondmkun, Y. T. (2020). Obesity, Insulin Resistance, and Type 2 Diabetes: Associations and Therapeutic Implications. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 13, 3611-3616. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S275898>
- Xaviera, G. S., Gijón E., Prieto, B. (2010). Fisiología médica. Intersistemas: UNAM. pp 107-114
- Xue, H., Zhao, J., Wang, Y., Shi, Z., Xie, K., Liao, X., & Tan, J. (2024). Factors affecting the stability of anthocyanins and strategies for improving their

- stability: A review. *Food Chemistry*: X, 24, 101883. <https://doi.org/10.1016/j.foodch.2024.101883>
- Yang, F., Chen, C., Ni, D., Yang, Y., Tian, J., Li, Y., Chen, S., Ye, X., & Wang, L. (2023). Effects of fermentation on bioactivity and the composition of polyphenols contained in polyphenol-rich foods: A review. *Foods*, 12(17), 3315. <https://doi.org/10.3390/foods12173315>
- Yang, Z., Ji, B., Zhou, F., Li, B., Luo, Y., Yang, L., & Li, T. (2009). Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of kombucha tea in high cholesterol fed mice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(1), 150-156. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3422>
- Yavari, N., Mazaheri-Assadi, M., Mazhari, Z. H., Moghadam, M. B., & Larijani, K. (2017). Glucuronic acid rich kombucha-fermented pomegranate juice. *Journal of Food Research*, 7(1), 61. <https://doi.org/10.5539/jfr.v7n1p61>
- Zhou, D.-D., Saimaiti, A., Luo, M., Huang, S.-Y., Xiong, R.-G., Shang, A., Gan, R.-Y., & Li, H.-B. (2022). Fermentation with tea residues enhances antioxidant activities and polyphenol contents in kombucha beverages. *Antioxidants*, 11(1), 155. <https://doi.org/10.3390/antiox11010155>
- Ziemlewska, A., Nizioł-Łukaszewska, Z., Zagórska-Dziok, M., Bujak, T., Wójciak, M., & Sowa, I. (2022). Evaluation of cosmetic and dermatological properties of kombucha-fermented berry leaf extracts considered to be by-products. *Molecules*, 27(7), 2345. <https://doi.org/10.3390/molecules27072345>
- Zubaidah, E., Afgani, C. A., Kalsum, U., Srianta, I., & Blanc, P. J. (2019). Comparison of in vivo antidiabetes activity of snake fruit Kombucha, black tea Kombucha and metformin. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 17, 465-469. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.12.026>
- Zurita, J., Díaz-Rubio, M. E., & Saura-Calixto, F. (2012). Improved procedure to determine non-extractable polymeric proanthocyanidins in plant foods. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(8), 936-939. <https://doi.org/10.3109/09637486.2012.681634>

## 9. ANEXOS

### Anexo 1. Resultados análisis microbiológicos

Folio: 24-122-01

#### DATOS DEL CLIENTE

Información proporcionada por el cliente  
**NOMBRE DEL CLIENTE:** Rosalía Reynoso Camacho  
**DOMICILIO:** Laboratorio Bioquímica Molecular, UAQ  
**CIUDAD:** Querétaro  
**ESTADO:** Querétaro  
**CORREO ELECTRÓNICO:** raul-jsfisica@hotmail.com  
**TELÉFONO:** 4131089368

Información generada por el laboratorio  
**FECHA DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS/MUESTREO:** 29/10/24  
**FECHA DE INFORME:** 31/10/24  
**LUGAR DE ANÁLISIS:** Instalaciones del LECRIMA  
**FECHA DE INICIO DE ANÁLISIS:** 29/10/24  
**FECHA DE TÉRMINO DE ANÁLISIS:** 31/10/24

**Descripción de las muestras recibidas:** Se recibe muestra en botella de vidrio color ámbar con aproximadamente 300 mL y una temperatura promedio de 3.9 °C.

#### RESUMEN DE SERVICIOS

Estimación de Coliformes fecales (CF) en muestra proporcionada por el cliente.

Código LECRIMA	Muestra <sup>1</sup>	CF <sup>2</sup> (NMP/mL)	Condiciones ambientales <sup>3</sup>
24-122-01	Kombucha Jamaica	< 3	23.4 °C/ 47 %HR
Valores de referencia	No aplica	No aplica	No aplica

<sup>1</sup>Método de análisis:

NOM-210-SSA1-2014. Productos y Servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.

<sup>2</sup>Resultado obtenido por el LECRIMA.

<sup>3</sup>Media de los valores obtenidos durante todas las pruebas.

Modificación al informe: No aplica.

\*Fin del informe\*

### INFORME DE RESULTADOS

Folio: 24-122-02

#### DATOS DEL CLIENTE

Información proporcionada por el cliente  
**NOMBRE DEL CLIENTE:** Rosalía Reynoso Camacho  
**DOMICILIO:** Laboratorio Bioquímica Molecular, UAQ  
**CIUDAD:** Querétaro  
**ESTADO:** Querétaro  
**CORREO ELECTRÓNICO:** raul-jsfisica@hotmail.com  
**TELÉFONO:** 4131089368

Información generada por el laboratorio  
**FECHA DE RECEPCIÓN DE MUESTRAS/MUESTREO:** 29/10/24  
**FECHA DE INFORME:** 31/10/24  
**LUGAR DE ANÁLISIS:** Instalaciones del LECRIMA  
**FECHA DE INICIO DE ANÁLISIS:** 29/10/24  
**FECHA DE TÉRMINO DE ANÁLISIS:** 31/10/24

**Descripción de las muestras recibidas:** Se recibe muestra en botella de vidrio color ámbar con aproximadamente 300 mL y una temperatura promedio de 3.5 °C.

#### RESUMEN DE SERVICIOS

Estimación de Coliformes fecales (CF) en muestra proporcionada por el cliente.

Código LECRIMA	Muestra <sup>1</sup>	CF <sup>2</sup> (NMP/mL)	Condiciones ambientales <sup>3</sup>
24-122-02	Kombucha subproducto	< 3	23.4 °C/ 47 %HR
Valores de referencia	No aplica	No aplica	No aplica

<sup>1</sup>Método de análisis:

NOM-210-SSA1-2014. Productos y Servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.

<sup>2</sup>Resultado obtenido por el LECRIMA.

<sup>3</sup>Media de los valores obtenidos durante todas las pruebas.

Modificación al informe: No aplica.

\*Fin del informe\*

## Anexo 2. Formato de reclutamiento.



**“Desarrollo de un análogo de kombucha a base de los cálices y subproducto de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*) y evaluación sobre las alteraciones metabólicas en un modelo in vivo de obesidad”**

Aprobado por Comité de Bioética  
CBQ24/066E

La actividad consiste en formar parte de un panel de consumidores en la evaluación sensorial de muestras de bebidas tipo kombucha a base de cáliz de jamaica

**Para participar deben cumplir con los siguientes requisitos:**

- Genero indistinto.
- Mayores de 18 años.
- No estar en tratamiento médico.
- No tener enfermedades que alteren su percepción del sabor.
- No estar embarazada.
- No ser alérgico o intolerante a alguno de los ingredientes

 Laboratorio de Análisis Sensorial, CAIDEP. Parque Biotecnológico



**Martes 26 de noviembre de 9:30 am a 2:00 pm**

### **Anexo 3. Consentimiento informado**

**Título del proyecto:** “Desarrollo de un análogo de kombucha a base de los cálices y subproducto de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y evaluación sobre las alteraciones metabólicas en un modelo in vivo de obesidad”

**Sede donde se realizará el estudio:** Laboratorio de Evaluación Sensorial, CAIDEP, 2 piso Parque Biotecnológico.

**INVITACIÓN** La invitación para participar en la evaluación sensorial se difundirá mediante un póster en redes sociales, con el propósito de reclutar voluntarios para este estudio de investigación. A continuación, se presenta la información esencial del proyecto, para que usted pueda conocer y entender sus objetivos. Podrá plantear cualquier duda o pregunta relacionada con el estudio para aclarar cualquier inquietud. Una vez que haya comprendido el procedimiento y decida participar, se le solicitará firmar el consentimiento informado, del cual recibirá una copia debidamente firmada y foliado.

#### **I. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

El sobrepeso y la obesidad son problemas graves en México, afectando a una gran parte de la población. Esto aumenta el riesgo de enfermedades como la diabetes y las enfermedades cardiovasculares. Por lo que se busca abordar este problema con alternativas saludables, como las bebidas tipo kombucha, que tienen beneficios para la salud. En esta investigación se está explorando el uso del subproducto de la jamaica para crear un análogo de kombucha con propiedades antiobesogénicas, ofreciendo así una opción más saludable para los consumidores.

#### **II. OBJETIVOS DEL ESTUDIO**

Evaluar la concentración óptima de cálix de jamaica y su subproducto aceptable para el consumidor y su preferencia ante diferentes tiempos de fermentación.

#### **III. BENEFICIOS DEL ESTUDIO**

No obtendrá algún tipo de beneficio económico por su colaboración en el estudio y su participación será completamente voluntaria.

#### **IV. CRITERIOS DE RECLUTAMIENTO**

El estudio contará con la participación de 50 panelistas, tanto hombres como mujeres, con edades entre 18 y 35 años, pertenecientes a la comunidad universitaria. Los participantes deberán tener habilidades para comunicar y describir las sensaciones gustativas, además de ser consumidores habituales de bebidas fermentadas. Este rango etario fue seleccionado porque las células de las papilas gustativas, responsables de la percepción del sabor, están más activas y en mayor cantidad en adultos jóvenes, lo que mejora su capacidad sensorial (Xaviera et al., 2010). Asimismo, el mercado de bebidas tipo kombucha se orienta principalmente a este grupo de edad (Kim et al., 2022; Macedo Dantas Coelho et al., 2023).

La convocatoria se realizará a través de una invitación difundida en redes sociales. Se excluirá a quienes presenten condiciones médicas que puedan alterar la percepción del gusto, estén bajo tratamiento médico, estén embarazadas o tengan alergias o intolerancias a alguno de los ingredientes del producto.

#### **V. PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO**

Durante la evaluación, se ofrecerán entre 4 y 6 muestras en vasos plásticos de 50 mL, distribuidas de manera aleatoria y codificadas con tres números para su identificación. Estos vasos se colocarán frente al panelista, quien degustará las muestras en orden de izquierda a derecha, recibiendo aproximadamente 35 mL por muestra. Se les indicará que enjuaguen su boca con agua y consuman un trozo de galleta 'habaneras' entre cada degustación para limpiar el paladar.

Las muestras serán evaluadas mediante una escala hedónica que va desde 'me gusta muchísimo' hasta 'me disgusta muchísimo'. Los participantes registrarán su nivel de aceptación para cada muestra en un formato proporcionado. La prueba tendrá una duración aproximada de 15 minutos

#### **VI. RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO**

El producto cumple con los estándares de calidad y requisitos microbiológicos necesarios para reducir al mínimo los riesgos para la salud; no obstante, como en cualquier estudio de intervención, existe un riesgo mínimo para los participantes.

En caso de que durante la evaluación algún participante presente malestar relacionado con la prueba sensorial, será excluido del estudio y se le acompañará a los servicios médicos del equipo 'Su Salud', ubicado en el edificio 1, planta baja de la Facultad de Química. Los gastos médicos serán cubiertos por el equipo de investigación o, de ser necesario, se canalizará al participante a otras instituciones de salud correspondientes.

Los posibles riesgos vinculados al estudio incluyen:

- Reacciones alérgicas a los componentes de la kombucha.
- Malestares gastrointestinales tales como náuseas, flatulencias o diarrea, ocasionados por la fermentación y el contenido probiótico.
- Interacciones con medicamentos que podrían verse afectadas por los ingredientes de la kombucha.
- Reacciones adversas derivadas de la ingestión de microorganismos vivos, especialmente en personas con sistemas inmunitarios debilitados.

Además de los riesgos durante la prueba, es importante señalar que, aunque poco frecuentes, pueden presentarse efectos secundarios posteriores, tales como reacciones alérgicas tardías o molestias gastrointestinales prolongadas. Si un participante experimenta algún síntoma dentro de las 24 horas siguientes a la evaluación, deberá comunicarlo a los responsables del proyecto para recibir la atención médica adecuada (Tel: 413 108 93 68).

Todas las muestras serán preparadas siguiendo estrictamente las buenas prácticas de higiene establecidas en la Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009 (Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios), así como las recomendaciones de las buenas prácticas establecidas por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de Estados Unidos.

## **VII. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO**

Esta sección se llenará una vez se realicen los análisis correspondientes

## **VIII. ACLARACIONES**

- La participación en la evaluación sensorial es totalmente voluntaria.
- Usted puede decidir retirarse del estudio en cualquier momento, sin necesidad de justificar su decisión.

- No recibirá compensación económica por su colaboración en este proyecto.
- Los datos obtenidos durante el estudio serán manejados con absoluta confidencialidad por el equipo de investigación y se utilizarán exclusivamente con fines estadísticos.
- Antes de iniciar la evaluación, se le solicitará proporcionar un número telefónico de contacto para emergencias relacionadas con la participación en la prueba sensorial.

## **IX. INFORMACIÓN DE CONTACTO**

Si tiene alguna pregunta sobre su participación en este estudio o desea conocer los resultados del proyecto, puede ponerse en contacto con la investigadora responsable, la Dra. Rosalía Reynoso Camacho, a través del correo electrónico rrcamachomx@yahoo.com.mx o al número de celular 442 230 0371. También puede comunicarse con el estudiante encargado del estudio, Raúl Herrera Jr., vía correo electrónico raul-jsfisica@hotmail.com o por teléfono celular al 413 108 9368.

## **X. ACEPTACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Yo, \_\_\_\_\_, declaro haber leído y comprendido en detalle la información proporcionada acerca del proyecto y los riesgos asociados a mi participación en este estudio. He sido informado y comprendo que los datos recolectados podrán ser publicados o difundidos con fines científicos. Acepto participar voluntariamente en esta investigación y recibiré una copia firmada y fechada de este consentimiento.

---

Nombre, fecha y firma del participante

---

Tel. de emergencias.

He explicado a \_\_\_\_\_ los objetivos y el alcance del estudio, así como los posibles riesgos y beneficios derivados de la participación. Respondí todas las preguntas planteadas y confirmé si existía alguna duda adicional sobre el proyecto. Declaro haber leído y estar familiarizado con la normativa vigente para la realización de investigaciones en seres humanos, a la cual me comprometo a cumplir. Finalizada la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a la firma del presente documento.

---

\_\_\_\_\_  
Nombre, fecha y firma del investigador

Testigo 1 (Nombre y firma):

Testigo 2 (Nombre y firma):

#### **Anexo 4. Revocación de consentimiento informado**

#### **CARTA DE REVOCACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

**Título del proyecto:** “Desarrollo de un análogo de kombucha a base de los cálices y subproducto de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y evaluación sobre las alteraciones metabólicas en un modelo in vivo de obesidad”

**Investigadora responsable:** Dra. Rosalía Reynoso Camacho

**Alumno responsable:** IQ. en Al. Raúl Herrera Jr.

**Sede donde se realizará el estudio:** Laboratorio de Evaluación Sensorial, CAIDEP, segundo piso Parque Biotecnológico.

**Nombre del participante:**

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de esta investigación por las siguientes razones (opcional):

- 
- 

---

Nombre, fecha y firma del participante

## Anexo 5. Formato de evaluación

### Evaluación de análogos de kombucha a base de cálices de jamaica y su subproducto.

Edad: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

¿Es usted consumidor frecuente de bebidas fermentadas? Sí: \_\_\_\_\_ No: \_\_\_\_\_

**Instrucciones:** Tiene frente a usted cuatro muestras de bebidas tipo kombucha, cada una identificada con un código distinto. Anote en la hoja de evaluación el código correspondiente a la muestra que está analizando. Con base en su preferencia personal, califique los atributos solicitados marcando el número que refleje su percepción. Para asegurar una evaluación objetiva, se recomienda enjuagar la boca con agua y consumir galletas entre cada muestra con el fin de neutralizar el paladar

PUNTAJE	CALIFICACIÓN
9	Me gusta muchísimo
8	Me gusta mucho
7	Me gusta bastante
6	Me gusta ligeramente
5	Ni gusta ni me disgusta
4	Me disgusta ligeramente
3	Me disgusta bastante
2	Me disgusta mucho
1	Me disgusta muchísimo

Atributo	Muestra:	Muestra:	Muestra:	Muestra:
Color				
Olor				
Sabor				
Dulzor				
Acidez				
Agrado general				
Observaciones y/o comentarios				

Finalmente ordene las muestras de la que más le gusto a la que menos le gusto:

\_\_\_\_\_ > \_\_\_\_\_ > \_\_\_\_\_ > \_\_\_\_\_