

# ESTUDIO DEL KÉFIR DE AGUA COMO BASE PARA BEBIDAS CARBONATADAS

## STUDY OF SUGARY KEFIR AS BASE FOR CARBONATED DRINKS

Mogro Crespín, S.<sup>1</sup>; Guerberoff, G. K.<sup>2</sup>; Olmedo, R. H.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Químicas. Centro de Química Aplicada. Córdoba. Argentina.

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Laboratorio de Tecnología de Alimentos (LabTA) / Química Biológica. Córdoba. Argentina.

<sup>3</sup>CONICET. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos Córdoba (ICYTAC). Córdoba. Argentina.

<sup>3</sup>Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Química Orgánica. Córdoba. Argentina.

sofia.mogro@mi.unc.edu.ar

### RESUMEN

Actualmente el consumo de probióticos ha ido en aumento alrededor del mundo, el cual se basa principalmente en productos de origen lácteo, inclusive asociando ambos conceptos. Sin embargo se desconoce en su mayoría la existencia del kéfir que fermenta en agua y azúcar. La bebida resultante de la fermentación de los gránulos de kéfir en agua con azúcar, presenta un potencial alimento apto para consumidores con alergias alimenticias, veganos e intolerantes. El objetivo de este trabajo se ha centrado en realizar una bebida a base de kéfir de agua para cuantificar las características más relevantes propias de fermento: producción de dióxido de carbono, acidez y presencia de bacterias probióticas, además de su valor nutricional, para su posterior uso como base para bebida carbonatada.

Palabras clave: kéfir de agua, fermentación, probióticos, bebida carbonatada, azúcar.

### ABSTRACT

Currently the consumption of probiotics has been increasing around the world, which is based mainly on dairy products, even associating both concepts. However, the existence of kefir that ferments in water and sugar is mostly unknown. The drink resulting from the fermentation of kefir granules in sugar water, presents a potential food suitable for consumers with food allergies, vegans and intolerants. The objective of this work has focused on making a drink based on water kefir to quantify the most relevant characteristics of ferment: production of carbon dioxide, acidity and presence of probiotic bacteria, in addition to its nutritional value, for its subsequent use as a base for carbonated drink.

Keywords: water kefir, fermentation, probiotics, carbonated drink, sugar.

### INTRODUCCIÓN

Los gránulos de kéfir de agua actúan como una cultura *starter* multi especies usada para producir bebidas fermentadas en soluciones de sacarosa con o sin extractos de fruta (Romero, et al., 2020).

Los tibicos pueden fermentar en diversos líquidos azucarados, alimentándose del azúcar para producir ácido láctico, etanol y dióxido de carbono, lo que hace que el agua esté carbonatada (Romero, et al., 2020).

Están constituidos por una matriz de polisacáridos, generalmente dextranas, dispuestos en dos capas, la externa es compacta y en ella se encuentran embebidas bacterias y levaduras, mientras que la interna presenta una estructura esponjosa debida a la acumulación de CO<sub>2</sub> producido durante la fermentación (López-Rojo, et al., 2017).

La mayoría de los alimentos que contienen probióticos y prebióticos son productos lácteos fermentados muchos de los cuales han sido consumidos por el hombre durante siglos (Olivo, 2016).

La bebida resultante del kéfir en soluciones azucaradas podría ser un producto altamente beneficioso para ciertos consumidores como veganos, personas intolerantes a la lactosa y alérgicos a productos de consumo diario (Gamba, et al., 2019).

El kéfir de agua ha ido incrementando su popularidad como bebida, en parte por el estilo de vida de los consumidores, y por otra parte, debido a que el kéfir de agua es visto como una bebida saludable que proporciona muchos beneficios, por lo que se debe entender la biología y dinámica del kéfir de agua (Lynch, 2021).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Preparación de la bebida

En un envase con capacidad suficiente, se adicionaron dos litros de agua y 30 gramos de azúcar. Aparte se pesó 150 gramos de los gránulos de kéfir y se añadieron al mismo envase. La temperatura osciló entre 20 a 25 °C. Se cubrió y dejó reposar por 48 horas donde se ejecutó la fermentación. Se filtró, envasó y almacenó a temperatura de refrigeración (Bolaños Ortega, 2014).

### Determinaciones físico químicas

Se determinó gas carbónico con un medidor de volumen de gas carbónico y un termómetro. Se cubrió el envase y acopló el medidor sobre la tapa del envase, luego cerrar la válvula de escape. Se perforó la tapa mediante el vástago del aparato y se abrió momentáneamente la válvula de escape, de tal forma que la aguja del manómetro cayó a cero. Se cerró inmediatamente la válvula, luego se agitó fuertemente el envase hasta alcanzar la presión máxima en el manómetro. Anotar el valor correspondiente. Se abrió la válvula de escape para eliminar la presión interna. Se retiró el manómetro y se destapó el envase; se introdujo el termómetro y se determinó la temperatura de la muestra (NTE INEN 1082, 1983).

La determinación de acidez se realizó eliminando el gas carbónico de las muestras. Se colocó 50 ml de la muestra en un vaso de precipitación y se introdujo el electrodo del potenciómetro, evitando que toque fondo o paredes

del vaso. Se adicionó lentamente solución de Hidróxido de Sodio 0.1 N controlando la variación de pH hasta llegar al punto final de titulación (NTE INEN 1091, 1983). Para el análisis de pH, la muestra debe estar debidamente homogenizada y libre de  $CO_2$ . Dentro del vaso de precipitación se colocó aproximadamente 100 ml de muestra y se agitó levemente. El pH se determinó introduciendo el electrodo del medidor de pH cuidando que no toquen las paredes del recipiente (NTE INEN 1087, 2017).

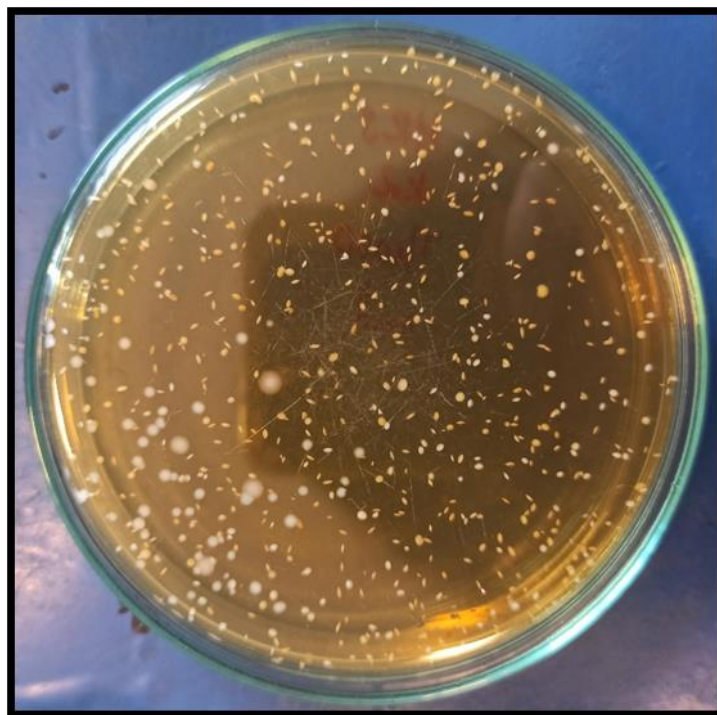
### Determinaciones microbiológicas

Se realizaron las diluciones necesarias para poder realizar contaje en placas, y por duplicado.

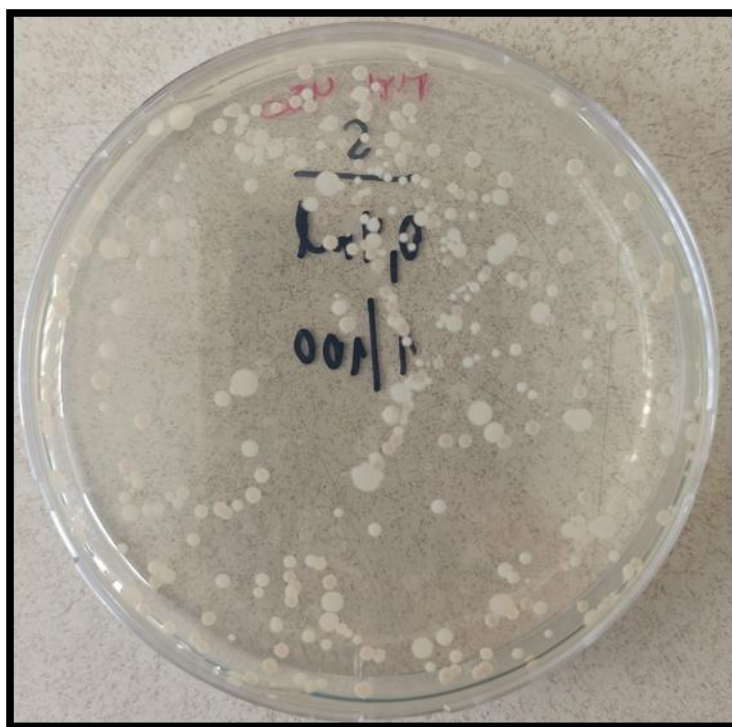
El análisis de bacterias BAL en agar MRS, previamente auto clavado, se realizó en profundidad inoculando 1 ml, haciendo doble capa de agar para el requerimiento de anaerobiosis. La **figura 1** indica el crecimiento típico (Britania, M.R.S Agar).

Para determinar levaduras se utilizó agar Mohos y Levaduras previamente auto clavado. Se inoculó 0.4 ml en superficie, con cuidado se esparció la muestra con el ansa, se tapó e incubó por cinco días a 25°C. La **figura 2** indica el crecimiento típico (Britania, Hongos y Levaduras Medio).

Para la viabilidad y acción probiótica de las bacterias y levaduras presentes en la bebida de kéfir, se realizó una simulación gastrointestinal estática utilizando el pH y tiempo como principales parámetros (Minekus, 2014).



**Figura 1.** Crecimiento de BAL en agar MRS. Fuente: Elaboración propia



**Figura 2.** Crecimiento de levaduras en agar mohos y levaduras. Fuente: Elaboración propia.

### Determinaciones bromatológicas

El análisis de proteína se realizó por método Kjeldahl. Se preparó la muestra en los tubos de digestión, se agregó catalizador para después llevar a calentamiento por cuatro horas; al finalizar la digestión debe quedar un líquido color verde brillante. Se traspasó la muestra con cuidado a los tubos de destilación, añadiendo 60 ml de agua destilada y 50 ml de hidróxido de sodio. El líquido en el tubo se tornó de color negro. Para recibir el destilado, en un erlenmeyer se agregó 25 ml de ácido bórico, se arma el equipo y empieza a destilar. Cuando se haya destilado, se prepara la titulación hasta viraje de color azul a amarillo (AOAC, 1990).

La determinación de grasa se realizó por el método de extracción con ampolla. Se pesó la muestra en un vaso de precipitación, se ejecutó la extracción con éter etílico y éter de petróleo (25 ml). Se adicionó 15 ml de agua destilada con la muestra y los éteres; se agitó un minuto, posterior a eso se dejó reposar por una hora de tal forma que se separaron las fases acuosa y orgánica. La parte acuosa se decantó en un vaso de precipitación, mientras que la fase orgánica se recuperó filtrando con sulfato de sodio a través de papel filtro. Esta extracción se realizó dos veces más con 15 ml de los reactivos. Una vez realizada la tercera extracción, el vaso de precipitación con los éteres y la materia orgánica se lleva a evaporación en rota vapor. Se dejó enfriar y se pesó (AOAC, 1990).

El análisis de azúcar se realizó a través de visualización de grados Brix en un refractómetro. Se colocó la muestra

en el equipo con una pipeta y se visualizó la escala a través del lente. (AOAC, 2005).

### RESULTADOS

Según los análisis bromatológicos, la bebida fermentada con kéfir de agua tiene valores muy bajos, cercanos a cero, como se detalla en la **Tabla 1**. El cálculo para la acidez se realizó con el peso molecular del ácido láctico, por el potencial de BAL en su contenido; y debido a su naturaleza de fermento, el pH es bajo.

**Tabla 1.** Resultados bromatológicos. Fuente: Elaboración propia.

RESULTADOS BROMATOLÓGICOS		
Parámetro	Resultado	Unidad
Grasa	0,0135	%
Proteína	0	%
Grados Brix	5	%
pH	3,6	-
Acidez	0,045	%

Los análisis microbiológicos detallados en la **Tabla 2** indican el contenido elevado de BAL y levaduras, el cual superó el mínimo requerido para ambos parámetros.

La simulación gástrica se realizó de manera sencilla tomando como factores principales el pH y el tiempo. Así se obtuvieron los resultados de la **Tabla 3**, los que indican la resistencia de las levaduras y BAL a pH 7, lo cual le confiere una conducta de probiótico.

**Tabla 2.** Resultados microbiológicos. Fuente: Elaboración propia

RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS			
Parámetro	Agar	Resultado	Mínimo
BAL	MRS	$5,9 \times 10^7$	$10^6$
Levaduras	MyL	$1,6 \times 10^5$	$10^4$

**Tabla 3.** Resultados de simulación gástrica. Fuente: Elaboración propia.

RESULTADOS SIMULACIÓN GÁSTRICA			
Parámetro	Recuento fase inicial	Recuento fase gástrica	Recuento fase intestinal
BAL	$1,3 \times 10^6$	$3 \times 10^4$	$2,4 \times 10^4$
Levaduras	$3,9 \times 10^4$	$2,1 \times 10^4$	$10^4$

## CONCLUSIONES

De acuerdo al comportamiento de la muestra, y los resultados de análisis, se puede concluir que el kéfir de agua sin ningún tipo de agregado, no aporta valores nutricionales significativos, ya que los valores de proteína, grasa y acidez son muy cercanos a cero.

Los valores de bacterias ácido lácticas y levaduras son bastante elevados incluso superando el mínimo requerido, lo que indica su potencial como probiótico incluso habiéndose mantenido en refrigeración por varios días.

El efecto probiótico ha demostrado ser satisfactorio al sobrevivir las BAL y las levaduras a pH 7 por dos horas, considerando que su pH óptimo para crecer está alrededor de 3.

Con estos resultados, la viabilidad para que el kéfir de agua sea la base para una nueva bebida es bastante alentadora, además el mismo kéfir proporciona las variables necesarias para una bebida carbonatada: acidez, carbonatación, y el agregado probiótico desvinculado de los lácteos. Sin embargo es menester aclarar que para eso se necesitaría la realización del mismo refresco y su evaluación sensorial pertinente.

## BIBLIOGRAFÍA

Bolaños Ortega, V. V. (2014). *Elaboración de dos bebidas, fermentadas con gránulos de Kéfir en agua y leche, para corroborar si son bebidas probióticas según la Norma INEN 2395-2011* (Bachelor's thesis, Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas).

Britania. (s.f.). *BritaniaLab*. Obtenido de Hongos y Levaduras Medio: [https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl\\_60706bd879bdf.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_60706bd879bdf.pdf)

Britania. (s.f.). *BritaniaLab*. Obtenido de Hongos y Levaduras Medio:

[https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl\\_60706bd879bdf.pdf](https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_60706bd879bdf.pdf)

Gamba, R. R., Yamamoto, S., Sasaki, T., Michihata, T., Mahmoud, A. H., Koyanagi, T., & Enomoto, T. (2019). Microbiological and functional characterization of kefir grown in different sugar solutions. *Food Science and Technology Research*, 25(2), 303-312.

INEN 1087, 2017. Bebidas gaseosas o carbonatadas. Requisitos. Instituto Ecuatoriano de Normalización. (NTE INEN 1101) Cuarta Revisión.

López-Rojo, J. P., García-Pinilla, S., Hernández-Sánchez, H., & Cornejo-Mazón, M. (2017). Estudio de la fermentación de kéfir de agua de piña con tibicos. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(2), 405-414.

Lynch, K. M., Wilkinson, S., Daenen, L., & Arendt, E. K. (2021). An update on water kefir: Microbiology, composition and production. *International Journal of Food Microbiology*, 345, 109-128.

Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T. O. R. S. T. E. N., Bourlieu, C., & Brodkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food—an international consensus. *Food & function*, 5(6), 1113-1124.

NTE INEN 1082, Bebidas gaseosas. Determinación del gas carbónico.

NTE INEN 1091, Bebidas gaseosas. Determinación de la acidez titulable.

NTE INEN 1087, Bebidas gaseosas. Determinación del pH.

Official Methods of Analysis of AOAC (1990): fat, sugar, protein.

Olivo, D., Galván, M., López-Rodríguez, G., Suárez-Diéguez, T., González-Unzaga, M., Anaya-Cisneros, L., & López-Piña, D. Actividad biológica y potencial terapéutico de los probióticos y el kefir del grano de kéfir.

Romero-Luna, H. E., Peredo-Lovillo, A., Hernández-Mendoza, A., Hernández-Sánchez, H., Cauch-

Sánchez, P. I., Ribas-Aparicio, R. M., & Dávila-Ortiz, G. (2020). Probiotic potential of *Lactobacillus paracasei*

CT12 isolated from water kefir grains (Tibicos). *Current Microbiology*, 77(10), 2584-2592.