



CARTA DE AUTORIZACIÓN

CÓDIGO

AP-BIB-FO-06

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

1 de 2

Neiva, 09 de junio del 2023

Señores

CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

Ciudad

El (Los) suscrito(s):

Claudia Camila Córdoba Cadena, con C.C. No. 1.016.106.424,

Yoliana Andrea Fiesco Cerquera, con C.C. No. 1.004.251.995,

Autor(es) de la tesis y/o trabajo de grado titulado Estudio de la factibilidad de la elaboración y producción de kombucha de cholupa (*Passiflora maliformis* L.) en Neiva, Huila.

presentado y aprobado en el año 2023 como requisito para optar al título de Ingeniero Agroindustrial;

Autorizo (amos) al CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN de la Universidad Surcolombiana para que, con fines académicos, muestre al país y el exterior la producción intelectual de la Universidad Surcolombiana, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Los usuarios puedan consultar el contenido de este trabajo de grado en los sitios web que administra la Universidad, en bases de datos, repositorio digital, catálogos y en otros sitios web, redes y sistemas de información nacionales e internacionales “open access” y en las redes de información con las cuales tenga convenio la Institución.
- Permita la consulta, la reproducción y préstamo a los usuarios interesados en el contenido de este trabajo, para todos los usos que tengan finalidad académica, ya sea en formato Cd-Rom o digital desde internet, intranet, etc., y en general para cualquier formato conocido o por conocer, dentro de los términos establecidos en la Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, Decreto 460 de 1995 y demás normas generales sobre la materia.
- Continúo conservando los correspondientes derechos sin modificación o restricción alguna; puesto que, de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación del derecho de autor y sus conexos.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, “Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores” , los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



CARTA DE AUTORIZACIÓN

CÓDIGO

AP-BIB-FO-06

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

2 de 2

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

Claudia Camila Córdoba Cadena

Firma: Camila Córdoba. C

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

Yoliana Andrea Fiesco Cerquera

Firma: YAF



TÍTULO COMPLETO DEL TRABAJO:

Estudio de la factibilidad de la elaboración y producción de kombucha de cholupa (*Passiflora maliformis* L.) en Neiva, Huila.

AUTOR O AUTORES:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Córdoba Cadena	Claudia Camila
Fiesco Cerquera	Yoliana Andrea

DIRECTOR Y CODIRECTOR TESIS:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Castro Camacho	Jennifer Katusca

ASESOR (ES):

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre

PARA OPTAR AL TÍTULO DE: Ingeniera Agroindustrial

FACULTAD: Ingeniería

PROGRAMA O POSGRADO: Ingeniería Agroindustrial

CIUDAD: Neiva

AÑO DE PRESENTACIÓN: 2023

NÚMERO DE PÁGINAS: 118

TIPO DE ILUSTRACIONES (Marcar con una X):

Diagramas Fotografías Grabaciones en discos ___ Ilustraciones en general Grabados ___
Láminas ___ Litografías ___ Mapas ___ Música impresa ___ Planos ___ Retratos ___ Sin ilustraciones ___ Tablas
o Cuadros

SOFTWARE requerido y/o especializado para la lectura del documento:

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



MATERIAL ANEXO:

PREMIO O DISTINCIÓN (En caso de ser LAUREADAS o Meritoria): Meritoria

PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS:

<u>Español</u>	<u>Inglés</u>	<u>Español</u>	<u>Inglés</u>
1. <u>Kombucha</u>	<u>Kombucha</u>	6. <u>Fermentación</u>	<u>Fermentation</u>
2. <u>SCOBY</u>	<u>SCOBY</u>	7. <u>Formulación</u>	<u>Formulation</u>
3. <u>Cholupa</u>	<u>Cholupa</u>	8. <u>Sustratos</u>	<u>Substrates</u>
4. <u>Té</u>	<u>Tea</u>	9. <u>Factibilidad</u>	<u>Feasibility</u>
5. <u>Tratamientos</u>	<u>Processing</u>	10. <u>Mercado</u>	<u>Market</u>

RESUMEN DEL CONTENIDO: (Máximo 250 palabras)

La kombucha es una bebida de té fermentado por un consorcio simbiótico de bacterias y levaduras denominado SCOBY, es refrescante, natural y posee múltiples beneficios. La presente investigación se basó en evaluar la factibilidad técnica para la elaboración y producción de kombucha de cholupa (*Passiflora maliformis* L.) en Neiva, Huila.

Se elaboraron 6 tratamientos, cada uno con las mismas concentraciones y distintos tipos de sustratos, utilizando un diseño experimental unifactorial, se midieron sus propiedades fisicoquímicas como: pH, sólidos solubles, acidez titulable y porcentaje de alcohol; capacidad antioxidante; organolépticas a través de dos pruebas sensoriales: analítica y hedónica; y microbiológicas corroborando los límites exigidos para garantizar la seguridad alimentaria. A su vez, se realizó un estudio de mercado para evaluar la oferta; demanda; mercado de materia prima, insumos y proveedores; y mezcla de marketing.

Con los resultados obtenidos se realizó un análisis de datos para establecer la formulación más aceptada de kombucha de cholupa que cumpla con los requerimientos sanitarios. En general, el mercado tiene atractivas posibilidades, todos los tratamientos cumplieron con las exigencias normativas a excepción del tratamiento T3 y fue más aceptado en su mayoría el tratamiento T2, teniendo en cuenta las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales evaluadas, y el grado de gusto de dicho tratamiento por parte de los posibles consumidores. De igual forma, se evidenció que dicha bebida ofrece variedad de sabores de acuerdo con sus parámetros de elaboración y materia prima, donde su composición es heterogénea y, por consiguiente, sus propiedades.

Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.



ABSTRACT: (Máximo 250 palabras)

Kombucha is a tea drink fermented by a symbiotic consortium of bacteria and yeast called SCOBY, it is refreshing, natural and has multiple benefits. The present investigation was based on evaluating the technical feasibility for the elaboration and production of cholupa kombucha (*Passiflora maliformis* L.) in Neiva, Huila.

6 treatments were elaborated, each one with the same concentrations and different types of substrates, using a unifactorial experimental design, their physicochemical properties were measured as: pH, soluble solids, titratable acidity and percentage of alcohol; antioxidant capacity; organoleptic through two sensory tests: analytical and hedonic; and microbiological corroborating the limits required to guarantee food safety. In turn, a market study was carried out to evaluate the offer; demand; raw material market, inputs and suppliers; and marketing mix.

With the results obtained, a data analysis was carried out to establish the most accepted formulation of cholupa kombucha that meets the sanitary requirements. In general, the market has attractive possibilities, all the treatments complied with the normative requirements with the exception of the T3 treatment and the T2 treatment was more widely accepted, taking into account the physicochemical, microbiological and sensory characteristics evaluated, and the degree of taste. of said treatment by potential consumers. In the same way, it was evidenced that said drink offers a variety of flavors according to its production parameters and raw material, where its composition is heterogeneous and, consequently, its properties.

APROBACION DE LA TESIS

Nombre presidente Jurado:

Firma:

Nombre Jurado:

Esp. Andrés Felipe Ortiz Alape

Firma:

Nombre Jurado:

MSc Néstor Enrique Cerquera Peña

Vigilada Mineducación

**ESTUDIO DE LA FACTIBILIDAD DE LA ELABORACIÓN Y PRODUCCIÓN DE
KOMBUCHA DE CHOLUPA (*Passiflora maliformis* L.) EN NEIVA, HUILA.**

Trabajo de grado presentado al departamento de Ingeniería Agroindustrial
como requisito para optar al título de: Ingeniero Agroindustrial

Autore(s)

Claudia Camila Córdoba Cadena: 20171159576

Yoliana Andrea Fiesco Cerquera: 20171157073

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

Facultad de Ingeniería

Programa de Ingeniería Agroindustrial

Neiva, Huila, Colombia.

2023

Firma

Director: Dra (C). Jennifer Katusca Castro Camacho

Nota de aceptación

Firma

Jurado: MSc. Néstor Enrique Cerquera
Peña

Firma

Jurado: Esp. Andrés Felipe Ortiz Alape

DEDICATORIA

A nuestros padres, que han estado junto a nosotras durante cada paso dado a través de los años, quienes con su esfuerzo, perseverancia y sacrificio construyeron lo que somos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos primero a Dios, porque nos dio el don de la vida y con ello todas las virtudes que pueden emanar de nuestro ser, a nuestra familia y amigos cercanos por brindarnos su apoyo constantemente, y por supuesto, a la Universidad, lugar donde se compartió con personas maravillosas, se recibieron múltiples aprendizajes y se ejecutó gran parte del proyecto.

A los docentes y auxiliares de laboratorio, por brindarnos un espacio y emplear su tiempo en enseñarnos frecuentemente; agradecemos especialmente a nuestra directora de proyecto de grado, Dra (C). Jennifer Katusca Castro Camacho y la auxiliar del laboratorio de microbiología Bibian Katherine Arguello Bernal, Microbióloga.

De forma general, agradecemos a todas las personas que contribuyeron de una u otra forma en la realización y culminación de la presente investigación.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	2
AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN	11
ABSTRACT	12
INTRODUCCIÓN	13
1. OBJETIVOS	15
1.1. <i>Objetivo General</i>	15
1.2. <i>Objetivos Específicos</i>	15
2. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL	16
2.1. <i>Antecedentes</i>	16
2.2. <i>Kombucha</i>	19
2.2.1. Posibles “defectos”	20
2.2.2. Base de kombucha	20
2.2.3. Vinagre	20
2.3. <i>SCOBY</i>	20
2.4. <i>Agua potable</i>	20
2.5. <i>Té</i>	21
2.5.1. Té negro	21
2.5.2. Té verde	21
2.6. <i>Azúcar</i>	21
2.6.1. Azúcar blanca	22
2.6.2. Azúcar morena	22
2.6.3. Panela	22
2.7. <i>Cholupa</i>	22
2.7.1. Usos	23
2.7.2. Valor nutricional	23
2.8. <i>Procesamiento de frutas</i>	24
2.8.1. Despulpado	24
2.9. <i>Materiales y principales factores de elaboración</i>	24
2.10. <i>Fermentación</i>	25
2.10.1. Tipos de fermentaciones	27
2.10.1.1. Fermentación alcohólica	27
2.10.1.2. Fermentación acética	27
2.10.1.3. Fermentación láctica	28
2.10.2. Composición bioquímica	28
2.11. <i>Vida útil</i>	28
2.12. <i>Toxicidad</i>	28
2.13. <i>Propiedades fisicoquímicas</i>	29
2.13.1. Sólidos solubles (grados Brix)	29
2.13.2. Acidez	29
2.13.3. PH	29
2.13.4. Porcentaje de alcohol	29
2.13.5. Capacidad antioxidante	30
2.14. <i>Propiedades microbiológicas</i>	30
2.14.1. Medios de cultivo	30

2.14.2. Conteo total	31
2.14.3. Identificación de microorganismos	31
2.14.3.1. Tinción de Gram	31
2.14.3.2. Otras pruebas	31
2.14.4. Crecimiento microbiano	32
2.15. Pruebas sensoriales	32
2.15.1. Jueces	32
2.15.1.1. Juez experto	32
2.15.1.2. Juez entrenado	33
2.15.1.3. Juez semientrenado o de laboratorio	33
2.15.1.4. Juez consumidor	33
2.15.2. Tipos de análisis	33
2.16. Factibilidad técnica	33
2.17. Estudio de mercado	34
3. MATERIALES Y MÉTODOS	35
3.1. Localización	35
3.2. Caracterización de la materia prima	35
3.3. Diseño experimental	35
3.4. Tratamientos objeto de estudio.	36
3.5. Proporciones de ingredientes para los tratamientos.	36
3.6. Selección y muestreo	36
3.7. Materiales y herramientas	37
3.7.1. Insumos	37
3.7.2. Utensilios	37
3.8. Proceso de elaboración	38
3.9. Categorías de la investigación	39
3.10. Análisis fisicoquímico	40
3.11. Capacidad antioxidante	40
3.12. Análisis organoléptico	41
3.12.1. Prueba analítica de los tratamientos	41
3.12.2. Prueba hedónica de los tratamientos	42
3.13. Análisis microbiológico	42
3.13.1. Recuento de mohos y levaduras	43
3.13.2. Recuento de aerobios mesófilos	43
3.13.3. Recuento de coliformes totales	43
3.13.4. Recuento de staphylococcus aureus	43
3.13.5. Recuento de probióticos	44
3.13.6. Identificación de microorganismos	44
3.14. Estudio de Mercado	44
3.15. Análisis estadístico de datos	45
3.16. Análisis de la vida útil, seguridad y calidad	45
3.17. Presupuesto de la investigación	45
3.18. Planeación y control de producción (PCP)	46
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
4.1. Caracterización de la materia prima	47
4.2. Análisis fisicoquímico	48

4.2.1. pH	48
4.2.2. Sólidos solubles expresados en °Brix	50
4.2.3. Acidez titulable	52
4.2.4. Porcentaje de alcohol	54
4.3. <i>Capacidad antioxidante</i>	55
4.4. <i>Análisis sensorial</i>	56
4.4.1. Prueba analítica de los tratamientos	56
4.4.2. Prueba hedónica de los tratamientos	57
4.5. <i>Análisis microbiológico.</i>	60
4.6. <i>Estudio de mercado</i>	62
4.6.1. Investigación del mercado	62
4.6.2. Análisis de la oferta	66
4.6.2.1. Identificación de la oferta	66
4.6.3. Análisis de la demanda	66
4.6.3.1. Segmentación	66
4.6.3.2. Tamaño del mercado	67
4.6.3.3. Consumo aparente	67
4.6.3.4. Demanda potencial	68
4.6.3.5. Participación deseada del mercado	68
4.6.4. Análisis de la competencia	68
4.6.5. Mercado de materia prima, insumos y proveedores	68
4.6.6. Mezcla de marketing	68
4.6.6.1. Producto	68
4.6.6.2. Presentación	69
4.6.6.3. Precio	69
4.6.6.4. Promoción	70
4.6.6.5. Plaza	70
4.6.6.6. Post venta.	70
4.7. <i>Vida útil, seguridad y calidad</i>	71
4.8. <i>Presupuesto de la investigación.</i>	71
4.8.1. Proveedores y precios.	71
4.9. <i>Planeación y control de producción (PCP) para empresa productora de “kombucha de cholupa”</i>	71
CONCLUSIONES	76
1. RECOMENDACIONES	77
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
ANEXOS	86

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1		26
	<i>Representación esquemática de la interacción simbiótica entre los microorganismos y los principales metabolitos producidos durante la elaboración de la kombucha.</i>	
Figura 2		39
	<i>Organizador lógico de variables</i>	
Figura 3		50
	<i>Representación gráfica del pH de los tratamientos en función del tiempo de fermentación</i>	
Figura 4		52
	<i>Representación gráfica de Sólidos solubles (°Brix) de los tratamientos en función del tiempo de fermentación</i>	
Figura 5		53
	<i>Representación gráfica de acidez titulable de los tratamientos en función del tiempo de fermentación</i>	
Figura 6		57
	<i>Resultados gráficos de los atributos de calidad en cada tratamiento (prueba hedónica)</i>	
Figura 7		63
	<i>Resultados gráficos de la primera parte del instrumento</i>	
Figura 8		64
	<i>Resultados experimentales de los ítems 3-10</i>	
Figura 9		65
	<i>Resultados experimentales de los ítems 11-16</i>	
Figura 10		69
	<i>Logo de contramarca para envases del producto “Kombucha de cholupa”</i>	
Figura 11		72
	<i>Mapa de procesos “Dream High Kombucha”</i>	
Figura 12		72
	<i>Organigrama propuesto “Dream High Kombucha”</i>	
Figura 13		73
	<i>Diseño propuesto de la instalación “Dream High Kombucha”</i>	
Figura 14		73
	<i>Cadena de suministros de la empresa “Dream High Kombucha”</i>	
Figura 15		74
	<i>Diagrama de Gantt “Dream High Kombucha”</i>	
Figura 16		75
	<i>Diagrama funcional “Dream High Kombucha”</i>	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	22
<i>Taxonomía de la cholupa.</i>	
Tabla 2	23
<i>Composición química y nutricional de la cholupa.</i>	
Tabla 3	35
<i>Diseño experimental planteado para la kombucha de cholupa</i>	
Tabla 4	36
<i>Cantidades utilizadas en cada tratamiento (formulación de proporción)</i>	
Tabla 5	47
<i>Composición de SCOBY</i>	
Tabla 6	47
<i>Caracterización fisicoquímica del jugo de Cholupa</i>	
Tabla 7	49
<i>Resultados experimentales de pH a través del tiempo de fermentación</i>	
Tabla 8	51
<i>Resultados experimentales de °brix a través del tiempo de fermentación</i>	
Tabla 9	53
<i>Resultados experimentales de acidez titulable a través del tiempo de fermentación</i>	
Tabla 10	54
<i>Resultados experimentales de porcentaje de alcohol por botella de kombucha</i>	
Tabla 11	57
<i>Puntajes experimentales de los factores de calidad en los tratamientos estudiados (prueba analítica).</i>	
Tabla 12	61
<i>Resultados microbiológicos de los tratamientos abordados</i>	
Tabla 13	67
<i>Probabilidad de consumo de kombucha al mes</i>	
Tabla 14	70
<i>Costo de elaboración y precio de venta del producto “Kombucha de cholupa” correspondiente al tratamiento 2</i>	

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A. Diagrama de flujo para la producción de la bebida fermentada “kombucha de cholupa	87
Anexo B. Ficha técnica de SCOBY utilizado en el proceso de elaboración de kombucha	88
Anexo C. Formulario de evaluación de los factores de calidad de la kombucha de cholupa.	89
Anexo D. Formulario del grado de satisfacción de la kombucha de cholupa.	89
Anexo E. Certificados de análisis de medios de cultivo utilizados para siembra	91
Anexo F. Fundamento de los medios de cultivo utilizados	94
Anexo G. Instrumento para el estudio de mercado de kombucha de cholupa	95
Anexo H. Cálculo del diseño de tamaño de muestra	97
Anexo I. Parámetros Normativos Importantes	98
Anexo J. Caracterización de la materia prima.	101
Anexo K. Resultados microbiológicos (reportes de 24 horas, 48 horas y 8 días)	103
Anexo L. Productores y Distribuidores de Kombucha en Colombia.	113
Anexo M. Ficha técnica “Dream high kombucha”	114
Anexo N. Imagen visual del producto final	115
Anexo O. Relación de presupuesto	116
Anexo P. Lista de verificación para el producto final para empresa productora de “kombucha de cholupa”	117

LISTA DE ABREVIATURAS

ABV: Alcohol por volumen.

Agar MRS: Agar De Man, Rogosa y Sharpe.

Agar PDA: Papa Dextrosa Agar.

ANOVA: Análisis de varianza.

AOAC: Association of Analytical Communities (Asociación de Comunidades Analíticas).

Bacterias AAB: Bacterias del ácido acético.

° **Brix:** grados brix.

Cepass: Corporación Centro de Desarrollo Tecnológico de las Pasifloras de Colombia.

COA: Certificados de Análisis.

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo.

DUS: Draft Uganda Standard (Proyecto de Norma de Uganda).

EFSA: Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria.

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos.

INVIMA: Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos.

KBI: Kombucha Brewers International (Cerveceros de kombucha internacional).

LAB: Bacterias del ácido láctico.

MICROGEN: Microbiología y Genética.

NTC: Norma Técnica Colombiana.

PH: Potencial de hidrógeno.

SCOPY: Symbiotic Colony Of Bacteria and Yeast (Consortio Simbiótico de Bacterias y Levaduras).

SENA: Servicio Nacional de Aprendizaje.

UFC: Unidades formadoras de colonias.

RESUMEN

La kombucha es una bebida de té fermentado por un consorcio simbiótico de bacterias y levaduras denominado SCOBY, es refrescante, natural y posee múltiples beneficios para la salud del cuerpo humano. La presente investigación se basó en evaluar la factibilidad técnica para la elaboración y producción de kombucha de cholupa (*Passiflora maliformis* L.) en Neiva, Huila.

Se elaboraron 6 tratamientos, cada uno con las mismas concentraciones y distintos tipos de sustratos, utilizando un diseño experimental unifactorial, se midieron sus propiedades fisicoquímicas como: pH, sólidos solubles, acidez titulable y porcentaje de alcohol; capacidad antioxidante; organolépticas a través de dos pruebas sensoriales: analítica y hedónica; y microbiológicas corroborando los límites exigidos para garantizar la seguridad alimentaria. A su vez, se realizó un estudio de mercado para evaluar la oferta; demanda; mercado de materia prima, insumos y proveedores; y mezcla de marketing. Como resultados se pudo apreciar que el pH osciló entre $3,678 \pm 0,013$ y $3,867 \pm 0,025$; los sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix) entre $2,533 \pm 0,058$ y $4,433 \pm 0,153$; la acidez titulable (% ácido acético) entre 0,78 y 1,75; el porcentaje de alcohol entre 0,3 y 0,4; la capacidad antioxidante del tratamiento T2 fue igual a $45,728 \pm 1,482$ $\mu\text{mol ET/L}$ y para el tratamiento T5 fue igual a $55,119 \pm 1,968$ $\mu\text{mol ET/L}$. En la prueba analítica se destaca el tratamiento T1, tratamiento T2 y tratamiento T5, arroja un total de factores de calidad entre $17,000 \pm 2,523$ y $18,500 \pm 1,567$ y en la prueba hedónica resalto el tratamiento T2. Los límites microbiológicos fueron aceptados a excepción del tratamiento T3. Finalmente, el estudio de mercado mostro la idea como viable, con un 76,5% de personas que estarían dispuestas a consumir el producto y 61,8% de personas comprarían el producto.

Con los resultados completos se realizó un análisis de datos para establecer la formulación más aceptada de kombucha de cholupa que cumpla con los requerimientos sanitarios. En general, el mercado tiene atractivas posibilidades, todos los tratamientos cumplieron con las exigencias normativas a excepción del tratamiento T3 y fue más aceptado en su mayoría el tratamiento T2, teniendo en cuenta las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales evaluadas, y el grado de gusto de dicho tratamiento por parte de los posibles consumidores. De igual forma, se evidenció que dicha bebida ofrece variedad de sabores de acuerdo con sus parámetros de elaboración y materia prima, donde su composición es heterogénea y, por consiguiente, sus propiedades.

ABSTRACT

Kombucha is a tea drink fermented by a symbiotic consortium of bacteria and yeasts called SCOBY, it is refreshing, natural and has multiple health benefits for the human body. The present investigation was based on evaluating the technical feasibility for the elaboration and production of cholupa kombucha (*Passiflora maliformis* L.) in Neiva, Huila.

6 treatments were elaborated, each one with the same concentrations and different types of substrates, using a unifactorial experimental design, their physicochemical properties were measured as: pH, soluble solids, titratable acidity and percentage of alcohol; antioxidant capacity; organoleptic through two sensory tests: analytical and hedonic; and microbiological corroborating the limits required to guarantee food safety. In turn, a market study was carried out to evaluate the offer; demand; raw material market, inputs and suppliers; and marketing mix. As results it was possible to appreciate that the pH oscillated between 3.678 ± 0.013 and 3.867 ± 0.025 ; the soluble solids ($^{\circ}$ Brix) between 2.533 ± 0.058 and 4.433 ± 0.153 ; the titratable acidity (% acetic acid) between 0.78 and 1.75; the percentage of alcohol between 0.3 and 0.4; the antioxidant capacity of T2 was equal to $45.728 \pm 1.482 \mu\text{mol ET/L}$ and for T5 it was equal to $55.119 \pm 1.968 \mu\text{mol ET/L}$. In the analytical test, T1, T2 and T5 stand out, I show a total of quality factors between $17,000 \pm 2,523$ and $18,500 \pm 1,567$ and in the hedonic test I highlight T2. The microbiological limits were accepted except for T3. Finally, the market study showed the idea as viable, with 76.5% of people who would be willing to consume the product and 61.8% of people who would buy the product.

With the complete results, a data analysis was carried out to establish the most accepted formulation of cholupa kombucha that meets the sanitary requirements. In general, the market has attractive possibilities, all the treatments complied with the normative requirements with the exception of T3 and T2 was more widely accepted, taking into account the physicochemical, microbiological and sensory characteristics evaluated, and the degree of taste of said product. treatment by potential consumers. In the same way, it was evidenced that said drink offers a variety of flavors according to its production parameters and raw material, where its composition is heterogeneous and, consequently, its properties.

INTRODUCCIÓN

La industria colombiana se compone de diversos productos alimenticios que constituyen gran parte del mercado colombiano. La elaboración de estos se rige por un conjunto de normas con el fin de promover y mantener el aseguramiento de la calidad; donde influyen un conjunto de factores individuales, desde la materia prima empleada, el protocolo seguido y el producto final. En el caso de las bebidas, su proceso de elaboración y producción varía conforme a las especificaciones y características de las mismas, en distintos casos se observa variedad de sabores y colores, los cuales pueden derivarse de las frutas; en este último aspecto se observa que en Colombia la producción frutícola se ha tecnificado notablemente en los últimos años debido a la creciente demanda nacional e internacional de frutas tropicales, sin embargo, los recursos biológicos aún no son totalmente implementados en la industria colombiana, sólo algunas Pasifloras como el maracuyá, la gulupa y la granadilla han sido aprovechadas (Ocampo et al., 2015).

Por otro lado, actualmente las personas desean tener un estilo de vida sano, cuidándose y divirtiéndose sin sentirse cohibidos en su alimentación. Los consumidores buscan nuevos productos alimenticios más saludables, así, la industria alimentaria está motivada para desarrollar productos que contengan nutrientes esenciales e ingredientes bioactivos (Bueno et al., 2021).

Por lo cual, surge el interés y la necesidad de investigar la elaboración de una bebida refrescante, saludable y natural, denominada “kombucha”; la kombucha es una bebida de té fermentada por un consorcio simbiótico de bacterias y levaduras (SCOBY) (Dufresne y Farnworth, 2000 ; Jayabalan et al., 2014, como se citó en Andreson et al., 2022). Dentro de los aspectos beneficiosos de la bebida se encuentran sus propiedades antihiperoglucemiantes, antimicrobianas, antioxidantes, anticancerígenas y anti-hiperlipidemias (Neffe-Skocińska et al., 2017; Silva Júnior et al., 2021; Vitas et al., 2018).

En la bebida tradicional es posible aumentar los sabores y carbonatar al hacer una segunda fermentación agregando más azúcar a la kombucha ya fermentada, indicando que la actividad anterior se puede condimentar con jugo de frutas (Coelho et al., 2020), de modo que, se pretende elaborar kombucha tradicional y adicionar jugo de cholupa con el fin de suplantar la insuficiencia de industrialización respecto al rendimiento de la cholupa, producir bebidas con características sensoriales diferenciadas y usar este fruto como materia prima regional para atraer la atención del consumidor.

En Colombia no hay muchas empresas dedicadas a la producción y comercialización de la bebida, siendo elaborada en su mayoría de manera artesanal por un número limitado de personas conocedoras de los beneficios de la simbiosis. Actualmente a nivel internacional la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) está elaborando un documento para establecer los límites de variación para el plan de seguridad de kombucha (Nummer, 2013), en cambio, el Código de práctica de Kombucha ha establecido los estándares del producto y los requisitos de seguridad (Kombucha Brewers International [KBI], 2022). En suma, a nivel nacional no se cuenta con normativa al respecto.

Este tipo de investigación permitirá valorar la participación de la kombucha de cholupa en el mercado y su calidad por medio de 6 tratamientos distintos, primero, se estableció la formulación para la elaboración de la bebida, teniendo en cuenta el rango adecuado de atributos de calidad y parámetros de proceso, posteriormente, fueron evaluados por medio de factores como: pH, acidez total, sólidos solubles, porcentaje de alcohol, contenido microbiológico y análisis sensorial; para analizar estadísticamente los resultados.

Partiendo de lo anterior **¿Cuál será la formulación más aceptada de una bebida tipo “Kombucha” con adición de jugo de cholupa, que cumpla con las condiciones de salubridad adecuadas para convertirse en un beneficio múltiple al consumidor?**

En este trabajo de investigación se pretende evaluar la factibilidad técnica para la elaboración y producción de kombucha de cholupa (*Passiflora maliformis L.*) en Neiva, Huila; con este enfoque se propone una solución a dos problemáticas generales: la ingesta de alimentos que afectan indirectamente la salud y el desaprovechamiento de frutas colombianas.

1. OBJETIVOS

1.1. Objetivo General

Evaluar la factibilidad técnica para la elaboración y producción de kombucha de cholupa (*Passiflora maliformis* L.) en Neiva, Huila.

1.2. Objetivos Específicos

- ❖ Formular y realizar un análisis sensorial que permita encontrar la mejor formulación de kombucha de cholupa, permitiendo definirse como idónea de acuerdo con los tratamientos abordados.
- ❖ Evaluar los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de la bebida que se está elaborando, aportando conocimiento en el área para elaborar kombucha de cholupa como producto agroindustrial a pequeña escala.
- ❖ Realizar pruebas de producto con consumidores finales para evaluar su grado de satisfacción en un posible mercado.
- ❖ Elaborar un estudio de mercado para el producto kombucha de cholupa por medio de un instrumento de aplicación con el fin de determinar su viabilidad.

2. MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

2.1. Antecedentes

Desde hace algún tiempo las personas han venido preguntándose a sí mismas realmente qué es lo que consumen y que pueden causar estos alimentos en su organismo, buscando alimentos no solo bien tratados, sino también alimentos fuentes de nutrientes, que afecten positivamente la salud contribuyendo al bienestar, de allí el “boom” de los alimentos funcionales. Kaur & Singh (2017) (como se citó en Martínez Leal et al., 2018) afirman que los alimentos funcionales son aquellos que han demostrado científicamente sus efectos beneficiosos en el organismo, en una o más de sus funciones, proporcionando una óptima salud y bienestar, independientemente de su valor nutricional.

En este orden de ideas, Tur Y Bibiloni (2016) (como se citó en Martínez Leal et al., 2018) indican que para que un producto sea considerado como un alimento funcional, debe cumplir con los siguientes requisitos: ser un producto alimenticio, tener evidencia científica que sustente el beneficio del producto, tener efectos fisiológicos medibles y ser consumido diariamente como parte de una dieta normal; lo cual es una rama y una temática que continúa en aumento respecto a la bebida nutricional kombucha, además de la ausente reglamentación específica nacional. Ya que, realmente hoy en día el consumidor está experimentando un regreso a las formas de alimentación naturales y orgánicas. Ésta es una de las razones del gran atractivo y fascinación que presenta esta bebida en el mercado, al ser “kombucha” una simbiosis de levaduras y bacterias acéticas, mismas que se han utilizado desde épocas antiguas por varias culturas del mundo para la creación de bebidas fermentadas y alimentos que han promovido la salud de quien los consuma.

Aun así, una definición común y reconocida de kombucha es ausente, de ese modo, las características tecnológicas inciertas han permitido diversidad en el mercado de kombuchas, por su parte, el Código de Prácticas de Kombucha ha definido que la kombucha se elabora a partir de hojas de té y se fermenta con consorcios simbióticos de bacterias y levaduras (KBI, 2022). Sin embargo, la EFSA o la FDA no han declarado una definición oficial de kombucha. De acuerdo con Silva Júnior et al. (2021) el mercado de kombucha es un segmento de rápido crecimiento en la categoría de bebidas funcionales, la selección de estas en el mercado varía entre las kombuchas tradicionales y las de sabores.

No se conoce oficialmente como apareció la “Kombucha”, una versión asegura que fue un médico coreano quien descubrió el brebaje y lo difundió por los países asiáticos; su vocablo explica de lo que se trata: “kambu” significa en japonés “hongo”; “cha” se traduce como té (Vargas Mora, 2011). Se cree que el té de kombucha es originario de Manchuria, donde es consumido hace más de 3000 años; reduce los niveles de colesterol y la presión arterial; puede aumentar la pérdida de peso; mejorar las funciones hepática, glandular, inmunitaria y gástrica; reducir la calcificación del riñón; aumentar la vitalidad; combatir el acné; eliminar arrugas; purificar la vesícula biliar; mejorar el estreñimiento; aliviar el dolor de la artritis; inhibir la proliferación del cáncer; curar el SIDA; y muchos otros (Laureys et al., 2020). Sin embargo, estos beneficios no están en su mayoría fundamentados.

Asimismo, esta bebida fermentada a partir de la simbiosis “kombucha” al ser cien por ciento natural, tiene muy buena acogida en Japón, Rusia, Estados Unidos y en ciertos países de Europa (Carvajal, 2019). Por su parte, Jayabalan et al. (2008) y Fu et al. (2014), como se citó en Coelho et al. (2020), afirman que los efectos beneficiosos de la kombucha se atribuyen a la presencia de microorganismos probióticos (bacterias acéticas y lácticas), antibióticos,

aminoácidos, polifenoles del té, azúcares, ácidos orgánicos, etanol, vitaminas solubles en agua y una variedad de micronutrientes producidos durante la fermentación.

Por otro lado, el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (2021) asegura que las Pasifloras están presentes en 24 departamentos y 422 municipios, siendo las principales especies: maracuyá, gulupa, granadilla, curuba, cholupa y badea. En el caso de la cholupa, es un fruto declarado con denominación de origen por parte de la Superindustria mediante la Resolución No 43.536 del 21 de diciembre de 2007 a la Gobernación del Huila (Superintendencia Industria y Comercio, 2007), además, el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (2021) afirma que “a nivel nacional las cantidades representativas de producción y áreas sembradas de cholupa se encuentran en el departamento del Huila”.

Sabogal Palma et al. (2016) indican:

La importancia de las frutas tropicales está en su aporte de constituyentes químicos tales como antocianinas, flavonoides, vitamina C, A, E, taninos y ácidos orgánicos (Restrepo, 2008). Partiendo de la base de que a estos compuestos en pasifloras se les han encontrado múltiples funcionalidades biológicas (Jiménez et al., 2011), se considera que este género posee propiedades antibacteriales, insecticidas, sedativas, anti-envejecimiento y antiespasmódicas (Li et al., 2011; López, 2013), que posibilitan su aplicación en la industria cosmética, alimenticia o farmacológica (Ota y Yokoyama, 2010).

Por lo cual, ya centrando la temática en la búsqueda de experiencias novedosas para el consumidor final, se tiene una variación de kombucha, específicamente es la adición de jugo de fruta natural para crear experiencias de sabor, en este caso se trata de kombucha de cholupa, fruta escogida a partir de las necesidades detectadas de la población huilense conforme a la productividad desempeñada, fortaleciendo así la fruticultura en el departamento.

La cholupa (*Passiflora maliformis* L.) es originaria del norte de Ecuador, Colombia, Venezuela y las Antillas. Las frutas son uno de los grupos alimenticios con gran cantidad de nutrientes indispensables para el normal desempeño del organismo humano, dentro de los mismos se encuentran los beneficios de carbohidratos, vitaminas (A, B3, B12 y C), minerales, fibras y antioxidantes (Ocampo et al., 2015). Contiene un sabor ligeramente ácido con un penetrante aroma.

Según Adalberto et al. (2015) (Montealegre et al., 2017) la Cholupa se viene cultivando por más de 30 años en el departamento del Huila y al ser reconocida con el sello de denominación de origen protegida a partir del año 2007, la gobernación del Huila ha invertido varios esfuerzos para su promoción, penetración de mercado y sobre todo para tener precisión en las tomas de decisiones por parte de los cultivadores para su correcta producción. Encima esta pasiflora presenta actividades altas de las enzimas polifenoloxidasas (51,81 UAE) y peroxidasa (106,81 UAE) y un rendimiento de jugo relativamente bajo (7,11 ml/ fruto). En la industria se ha obtenido licor a partir de esta fruta con elevado “fusse” (contenido de volátiles: alcoholes, acetonas y aldehídos) debido a lo cual, aroma agradable y buen sabor (Consejo Nacional de Pasifloras, 2012).

Respecto a los estudios realizados referentes a la fruta y a la bebida de interés, para esta última, de acuerdo con el reporte por parte de Leonarski et al., (2022), en la base de SCOPUS utilizando la palabra clave “kombucha” y limitada a los años 2016–2021, se evidencia el creciente interés por la kombucha en el período reciente, teniendo en cuenta que solo se seleccionaron artículos publicados en inglés, totalizando 207 artículos; así mismo en su artículo se muestra un aumento en el número de estudios en los últimos años, para un total de 57 artículos en 2020. En marzo de 2021, el número de estudios hasta la fecha de búsqueda era de 22. Los países responsables se nombran a continuación en orden descendente: Estados Unidos (26 artículos); Irán (23 artículos); India y Serbia (ambos con 15 artículos); Francia (13); China (12); Brasil, Alemania,

Polonia (11 artículos cada uno) e Indonesia (10 artículos). Los demás países presentaron menos de 10 estudios publicados en los últimos cinco años. Haciendo una prueba en la base de datos ScienceDirect, para agosto de 2022 utilizando la palabra clave “kombucha” arroja 905 resultados sin establecer ningún tipo de filtro o rango, estos resultados de búsqueda de artículos son mayores para los años 2021 y 2022 (175 y 151 respectivamente).

Entre el año 2021 y 2022 los estudios referentes a este tema han ido incrementando considerablemente (tendencia evidenciada en bases de datos). Sin embargo, en Colombia son pocas las personas que conocen este término, posiblemente es la razón por la cual no se presentan variadas investigaciones aplicadas al respecto, tal es el caso de un artículo aplicado a la ingeniería de procesos denominado “Análisis y producción de una bebida kombucha (*manchurian fungus*) con sustratos de té y panela”, realizado en la Universidad Mariana en Pasto por los autores Ramírez Solarte, Cuastumal Riascos, Verdugo González y Coral Medina (2021), donde se planteó la obtención de una bebida fermentada, como alternativa a las bebidas comerciales, gaseosas, néctares y jugos procesados; se realizó la fermentación, usando dicho consorcio y soluciones de té verde y panela, como sustratos.

Cabe mencionar que se encuentran textos colombianos como guía y soporte en estudios de la kombucha, por ejemplo el artículo denominado “Evaluación de la capacidad probiótica "in vitro" de una cepa nativa de *Saccharomyces Cerevisiae*”, cuyos autores son: Ortiz, Reuto, Fajardo, Sarmiento, Aguirre, Arbeláez, Gómez, & Quevedo (2008), dicho artículo se menciona en la tesis de grado para la obtención del título de bioquímico farmacéutico, elaborada por Morales (2014) y titulada: “Desarrollo, elaboración y optimización bromatológica de una bebida de té negro fermentada a base de Manchurian fungus (kombucha) y evaluación de su actividad como potencial alimento funcional”, este proyecto de grado se realizó en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (Ecuador) y el texto de apoyo anteriormente nombrado no es el único de origen colombiano presente en la tesis de grado.

Ahora bien, haciendo referencia al área de aplicación del programa en el territorio latinoamericano, en la Universidad agraria del Ecuador, Villamar (2021) presentó un trabajo experimental como requisito para la obtención del título de Ingeniería Agrícola mención Agroindustrial denominado: “Evaluación de la capacidad antioxidante y conteo de probióticos de una bebida kombucha (*manchurian fungus*) elaborada con jackfruit (*artocarpus heterophyllus*)”, cuya hipótesis fue: ¿Podrá la “Kombucha” representar una bebida con potencial efecto nutricional, para ser considerada como una alternativa a una posible propuesta de alimento funcional?. En cambio, respecto a la fruta de interés, el contexto es completamente diferente, ya que, a nivel nacional se cuentan con distintos estudios referentes al fruto, además, es una fruta tropical autóctona del departamento del Huila, en consecuencia, en la Universidad Surcolombiana se realizó un proyecto de grado que se relaciona con la presente investigación denominado “Obtención de bebidas fermentadas a partir de maracuyá (*Passiflora edulissims*) y cholupa (*Passiflora maliformis L.*)” por parte de los estudiantes Bernal López y Castro Cabrera (2014) para optar por el título de Ingeniero Agrícola.

En esta investigación dentro de las características particulares de la elaboración de la kombucha de cholupa se encuentra su proceso de doble fermentación, para efectos del proyecto se denomina primera fase de fermentación y segunda fase de fermentación, ya que es un proceso de fermentación constante, solo que con componentes y condiciones diferentes: la primera fase, un proceso de fermentación donde participan la asociación simbiótica de microorganismos conocida como SCOBY, el té (té verde o té negro) y sustrato (azúcar blanca, azúcar morena o panela) en condiciones aerobias; la segunda fase, es otro proceso fermentativo donde participa la kombucha

tradicional (bebida resultante de la primera fase) y el jugo de fruta de cholupa en condiciones anaeróbicas, siendo posible aumentar el sabor y carbonatar la bebida.

En cuanto a la normatividad vigente, a nivel nacional no se tienen normas que abarquen la elaboración, producción y comercialización de esta bebida, el “SCOBY” es un ingrediente que actualmente no ha sido autorizado por el Invima para su uso en alimentos y bebidas, en la resolución 3929 de 2013: por la cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios que deben cumplir las frutas y las bebidas con adición de jugo (zumo) o pulpa de fruta o concentrados de fruta, clarificados o no, o la mezcla de éstos que se procesen, empaquen, transporten, importen y comercialicen en el territorio nacional; no se menciona el término anteriormente expuesto, del mismo modo sucede con la “Kombucha”. Lo anterior teniendo en cuenta que esta es una bebida fermentada no alcohólica, sin embargo, al ser producto de una fermentación y no tener información clara sobre la kombucha se tiene en cuenta la normativa nacional vigente a bebidas alcohólicas en términos de calidad, como es el caso del Decreto 162 de 2021: por medio del cual se modifica el Decreto 1686 de 2012, en este último, se establece el reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios que se deben cumplir para la fabricación, elaboración, hidratación, envase, almacenamiento, distribución, transporte, comercialización, expendio, exportación e importación de bebidas alcohólicas destinadas para consumo humano.

Igualmente, acorde con las bases de datos no existe aún una kombucha de cholupa en el mercado, y la información comprobada sobre todas las especificaciones y demás asuntos propios sobre la bebida se comprenden en su mayoría estos últimos años por parte de otros países (año 2021 y 2022 especialmente), de tal forma que, se considera necesario medir sus propiedades y evaluar el producto, a modo de contribuir a la falta de información concluyente y el gran vacío respecto a la reglamentación nacional.

El Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA), a través de la alerta sanitaria No. 024-2020 del 19 de febrero de 2020 muestra el informe sobre la situación sanitaria presentada para alimentos que se comercializan en Colombia y que contienen la expresión “kombucha” debido a que se han presentado solicitudes de autorización de comercialización; el KBI, asociación comercial a nivel global que representa la categoría de bebidas embotelladas de Kombucha Tea promocionando, educando y promoviendo la legislación y la investigación; ha respondido en este mismo año al INVIMA ante la alerta sanitaria presentada en el país indicando que es posible la preparación comercial segura de la bebida. Así mismo, Uganda National Bureau of Standards (Oficina Nacional de Normas de Uganda) emitió un proyecto de norma de Uganda (DUS 2037:2018) con el fin de garantizar la inocuidad de los alimentos de este tipo, en el documento notificado se especifican requisitos y métodos de toma de muestras y ensayos para la kombucha (bebida).

Aun así, la comercialización de este tipo de bebida en Colombia se encuentra en etapas iniciales, uno de los ejemplos es la marca Kombucha La Jaguara (anteriormente denominada La Fantástica), quienes ofrecen la bebida natural de té fermentado, se encuentran inicios de elaboración desde el 2014 de forma artesanal, sin embargo, fue hasta el 2020 que la marca obtuvo el permiso y los registros sanitarios concedidos por el Invima en la modalidad de fabricar y vender; como bebidas embriagantes con té en diferentes variedades y pueden llevar la expresión Kombucha (INVIMA, 2020).

2.2. Kombucha

La kombucha es una bebida de té fermentado que se elabora añadiendo un cultivo simbiótico de bacterias y levaduras (SCOBY) a una solución de té y azúcar (KBI). Por otro lado,

Watawana et al. (2015) afirman que es una bebida producida por la fermentación aeróbica, principal y tradicionalmente de té negro (también existen otras variedades que pueden usarse como base para su preparación, como el té verde y oolong, también conocido como té azul); con azúcar añadido como sustrato para la fermentación y con una combinación simbiótica de levaduras y bacterias inmovilizadas en una película de celulosa.

2.2.1. Posibles “defectos”

Durante el proceso de fermentación e incluso después del embotellado, la bacteria continúa prosperando y produce un subproducto de la fermentación; esta masa de celulosa similar a un gel, que a menudo se asemeja a una medusa, es completamente inofensiva y puede consumirse o desecharse. Así son los “flotadores” o “medusas” que se ven en la Kombucha. En cualquier etapa, la bebida se puede filtrar para eliminar el exceso de levadura (KBI, 2022).

2.2.2. Base de kombucha

Es un producto intermediario que no se vende directamente a los consumidores. Se produce a través de una fermentación tradicional a largo plazo (30 días o más), puede contener una mayor cantidad y variedad de ácidos y nutrientes (KBI, 2022).

2.2.3. Vinagre

El té puede modificarse a vinagre, donde el contenido de azúcares y gas carbónico es nulo, ya que si el té fermentado se deja con un SCOBY durante mucho tiempo (aproximadamente de 1 a 3 meses) se produce un vinagre similar al de manzana. La madre de kombucha usada para este fin, no se debe reutilizar en un nuevo lote de kombucha, puesto que la formulación de microorganismos puede variar bastante (Vargas Mora, 2011).

2.3. SCOBY

SCOBY significa Cultivo simbiótico de bacterias y levaduras (KBI, 2022). De acuerdo con Granda Castro y Estupiñán Huila (2019) el SCOBY es una colonia macroscópica plana que se establece en la superficie del sustrato, este contiene diferentes grupos de microorganismos, entre los mismos se encuentran generalmente las bacterias acéticas: *Acetobacterxylinum*, *Acetobacterxylinoides*, *Bacteriumgluconicum*, *Acetobacteraceti*, *Acetobacterpasteurianus*; y se encuentran levaduras pertenecientes al género *Zygosaccharomyces*, *Pichia*, *Brettanomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Sacharomycodes*, *Torulospora* y *Candida*. Al pasar el tiempo de fermentación (7-10 días) el cultivo original con el cual se inoculó la infusión produce una capa secundaria que suele ser llamada bebé o hijo, por consiguiente, el original suele denominarse madre (González Tellez et al., 2018).

2.4. Agua potable

Se denomina agua potable o agua para consumo humano, al agua que puede ser consumida sin restricción. El término se aplica al agua que cumple con las normas de calidad promulgadas por las autoridades locales e internacionales (Cordero Ordóñez y Ullauri Hernández, 2011). Para elaborar kombucha se sugiere utilizar agua de excelente calidad con el fin de evitar la contaminación de la bebida, en tal caso se sugiere utilizar agua destilada, embotellada o filtrada,

ya que el cultivo adquiere los nutrientes necesarios del té y del azúcar, y el agua puede ser portadora de bacterias patógenas resistentes al calor (Rubio, 2012 y Stevens, 2000; como se citó en Morales, 2014).

2.5. Té

El té es una bebida sin azúcar que se obtiene al remojar las hojas de la planta *Camellia sinensis* en agua. Igual que el licor de té. Las variaciones de *Camellia sinensis* incluyen: té negro, verde, blanco, oolong, amarillo, pu-erh, entre otros (KBI, 2022). La elaboración de la kombucha requiere de té, por su contenido mineral y de nitrógeno. Se conoce que todos los tipos de té provienen de la misma planta. No obstante, su procesamiento es el que determina las distintas variedades. De acuerdo con Laureys et al. (2020) el té utilizado para preparar kombucha afecta el proceso de fermentación y la evaluación sensorial de la bebida de kombucha resultante.

2.5.1. Té negro

El té negro se elabora a partir de las hojas fermentadas de la planta, contiene del 2% al 4% de cafeína, lo que afecta el pensamiento y el estado de alerta. También contiene antioxidantes y otras sustancias que podrían ayudar a proteger el corazón y los vasos sanguíneos. Ahora bien, Tearubiginas son los pigmentos marrones en el té negro y teaflavinas son los pigmentos amarillos en el té negro (Roberts, 1958). Durante la fermentación de la kombucha, las concentraciones de tearubiginas disminuyen mientras que las de teaflavinas aumentan, probablemente porque las tearubiginas se convierten en teaflavinas. Esto puede explicar por qué la kombucha adquiere un color más claro (del té marrón oscuro al té de kombucha marrón claro) durante el proceso de fermentación. En general, el contenido total de fenoles aumenta en el transcurso del proceso de fermentación de la kombucha, así como la actividad antioxidante (Chakravorty et al., 2016; Chu & Chen, 2006; Jayabalan et al., 2017; Kallel et al., 2012).

2.5.2. Té verde

El té verde se elabora a partir de las hojas frescas de la planta, es una de las bebidas más antiguas del mundo. Según cuenta la leyenda china, fue descubierto accidentalmente por un emperador hace 4.000 años. Desde entonces, el té verde ha permanecido como bebida de preferencia en los países asiáticos. Los principales principios activos a los que el té verde debe su actividad son: bases xánticas y polifenoles: flavonoides, catecoles, taninos catéquicos y ácidos fenólicos (López Luengo, 2002).

2.6. Azúcar

El azúcar es un endulzante de origen natural, sólido, cristalizado, constituido esencialmente por cristales sueltos de sacarosa, obtenidos a partir de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L) o de la remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L) mediante procedimientos industriales apropiados. La caña de azúcar contiene entre 8 y 15% de sacarosa (es económicamente atractiva para la industrialización de azúcar), el jugo obtenido de la molienda de dicha caña se concentra y cristaliza al evaporarse el agua por calentamiento. Los cristales formados son el azúcar crudo o, de ser lavados, el azúcar blanco (Fuentes Navarro, 2006).

De igual forma, Laureys et al. (2020) afirman que la sacarosa se convierte en glucosa y fructosa durante la fermentación de la kombucha. La fructosa se consume más rápido en la

kombucha que la glucosa, dejando a la glucosa como el principal carbohidrato residual en la kombucha (Neffe-Skocińska et al., 2017).

2.6.1. *Azúcar blanca*

Es el azúcar con más grado de pureza, alrededor de 99% de sacarosa. Es fruto de un proceso de refinamiento moderno (Fuentes Navarro, 2006).

2.6.2. *Azúcar morena*

Es el azúcar que se obtiene del jugo de caña de azúcar al cristalizar y centrifugar (no se realiza refinación). Este producto integral, debe su color a una película de melaza que envuelve cada cristal. Normalmente tiene entre 96 y 98 grados de sacarosa y su contenido de mineral es ligeramente superior al azúcar blanco (Fuentes Navarro, 2006).

2.6.3. *Panela*

La panela, o azúcar integral de caña, contiene un alto porcentaje de nutrientes, vitaminas y minerales, debido a su procesamiento. El principal constituyente de la panela es la sacarosa, cuyo contenido varía entre un 75 y un 85 %. Posee menos calorías que el azúcar blanco, ya que contiene de 310 a 350 calorías por 100 gramos frente a las 400 calorías del azúcar blanco (Obando, 2010).

2.7. *Cholupa*

La cholupa es una fruta redonda o alargada de 5 a 9 cm de diámetro, de cascara de color verdoso, aún durante la madurez, muy dura, con una cubierta fina y cerosa, con tonos amarillos en su interior (pulpa que contiene las semillas negras envueltas); su sabor es entre dulce y ácido, similar al maracuyá; y hace parte del mismo género de plantas de la granadilla, la curuba y la badea: *Passifloras* (Rodríguez et al., 2015). El Huila es el principal productor de este fruto en el país, cuenta con más de 150 ha cultivadas, donde Rivera es el municipio que más lo produce (Ocampo et al., 2015).

Tabla 1

Taxonomía de la cholupa.

Nombre científico	<i>Passiflora maliformis</i> L.
Reino	Vegetal
División	Angiospermae
Subdivisión	Dicotyledonae
Clase	Arquiclamiidae
Orden	Parietales
Familia	Passifloraceae
Género	<i>Passiflora</i>
Especie	<i>Maliformis</i>
Variedades	Sin identificar

Nota. La cholupa fue clasificada por Carlos Lineo, bajo el nombre de *Passiflora maliformis* L. Información recopilada de Rodríguez et al. (2015).

2.7.1. Usos

Los usos de la Cholupa son diversos, desde su participación en los mercados regionales en el departamento del Huila (Colombia) como fruta fresca, hasta en distintas presentaciones de bebidas, también se comercializa como pulpa liofilizada e interviene en la elaboración de postres y helados. Su penetrante aroma y su riqueza en vitamina C y minerales, le permitiría ser utilizado como complemento de productos multivitamínicos y en la generación de nuevos sabores en la industria de jugos y bebidas especialmente en los países desarrollados (Ocampo et al., 2015).

2.7.2. Valor nutricional

El peso del fruto varía entre 21 y 223 g, presenta en su interior un promedio de 135 a 243 semillas recubiertas por un mucílago (arilo) que varía de color (amarillo, anaranjado o carmelita) con agradable aroma, donde se encuentran los azúcares, vitaminas y minerales. El porcentaje promedio de la pulpa (mucílago) más la semilla varía entre 12,5 y 70% del peso total del fruto, de los cuales el 5,4 al 7,8% corresponden al peso de las semillas. El sabor del jugo es similar al del maracuyá, ligeramente ácido, pero más dulce, y lo hace más apetecido para el consumo como fruta fresca (Carvajal et al., 2014).

Tabla 2

Composición química y nutricional de la cholupa.

Componentes	Cantidad
Agua (%)	75,7 - 86
Humedad (%)	80,6 %
Proteínas (g)	1,1 - 2,34
Calorías (Kcal)	40,0 - 95,74
Carbohidratos (g)	118 – 21,56
Grasas (%)	0,02
Fibras (g)	0,30
Cenizas (%)	0,91
Calcio (g)	7,0
Fósforo (mg)	30,0
Hierro (mg)	0,80
Riboflavina – B12 (mg)	0,10
Niacina – B3 (mg)	2,1
Vitamina C (mg)	10,74 – 20,00
Sólidos solubles totales (°Brix)	10 – 18
Acidez (como ácido cítrico, %)	3,0
pH	3,2 – 3,8

Nota. Datos recopilados a través de la Resolución 43536 de 2007.

Por otro lado, la NTC 5468 de 2012: “Jugo (zumo), pulpa, néctar de frutas y sus concentrados” tiene por objetivo establecer los requisitos y los métodos de ensayo que deben cumplir los jugos (zumos), pulpas, néctares de frutas y sus concentrados, para consumo directo o elaboración ulterior; la misma contiene los valores aceptables de la acidez titulable y los sólidos solubles de las frutas a 20 °C, en ella no se registran datos establecidos para la pulpa de cholupa,

por lo cual, se toman de referencia los parámetros establecidos para la pulpa de maracuyá, los mismos corresponden a una acidez titulable mínima de 1,8 y un contenido de sólidos solubles mínimo de 12 °Brix.

2.8. Procesamiento de frutas

2.8.1. Despulpado

El proceso de despulpado consiste en separar la pulpa de las frutas de las semillas y otros elementos que no sean parte de la pulpa. Existen diferentes equipos para el despulpado de frutas, entre los más populares están las despulpadoras de tambor horizontales. El despulpado se realiza mediante movimientos rotatorios de un conjunto de rascadores unidos a un eje, cuya potencia es dada por un sistema de poleas (sistema de transmisión), que a su vez regulan y reducen las revoluciones que vienen del motor (Almanza et al., 2016).

2.9. Materiales y principales factores de elaboración

La elaboración de la bebida conlleva a utilizar sustratos sencillos y fáciles de conseguir como sacarosa, té negro o verde y el SCOBY, por lo que resulta un producto fácil de obtener por los bajos requerimientos que demanda la fermentación. Laureys et al. (2020) afirma que la fermentación se realiza en condiciones aeróbicas y a una temperatura ambiente entre 18 - 28 ° C, por un período de 8 a 14 días, el recipiente de fermentación se cubre con una tela para evitar la entrada de moscas de la fruta y otras plagas. Evitando también la acumulación de presión en el recipiente debido a la producción de dióxido de carbono al tiempo que permite la entrada de oxígeno. Donde una de las actividades del procedimiento a emplear, la adición de té previamente fermentado reduce el pH inicial, lo que puede inhibir el crecimiento de patógenos humanos como *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* y *Clostridium botulinum*., ya que estos microorganismos no crecen en un ambiente por debajo de pH 4,7. Los efectos antimicrobianos de la kombucha podrían atribuirse principalmente al ácido acético.

La fermentación exitosa de la kombucha se realiza en recipientes de vidrio en condiciones estáticas, sobre sustratos que contienen átomos de fuente de carbono (principalmente sacarosa) y nitrógeno (diferentes componentes del té), protegidos de la luz solar directa a temperatura ambiente (Vitas et al., 2018). Estas características coinciden con otros autores, por ejemplo, Vargas Mora (2011) indica que por el pH ácido que alcanza la bebida, se recomienda para la fermentación no utilizar utensilios metálicos, en su defecto utilizar ollas esmaltadas para preparar el caldo de cultivo y paletas de madera para mezclar durante la preparación. En cuanto al reposo fermentativo se recomienda realizarlo en botellas de vidrio, ya que al utilizar utensilios metálicos se producirán compuestos tóxicos debido a la reacción de los ácidos con los metales.

De forma similar, KBI (2022) indica que un intervalo de 10-12 días parece ser el tiempo de fermentación típico para la kombucha, aunque puede variar según el gusto personal del consumidor, el tamaño y la forma del recipiente, la temperatura y la humedad, el tipo de sustrato, la cantidad de líquido iniciador/SCOBY agregado, entre otros; como regla general, cuanto más larga es la fermentación, más agria es la kombucha. Ahora bien, a nivel comercial, por el tamaño de producción la kombucha a menudo puede tardar entre 20 y 30 días (tamaño del lote). En cuanto a la temperatura de fermentación puede variar, aunque normalmente oscila entre un mínimo de 72 °F (22 °C) y un máximo de 95 °F (32 °C), la cantidad de SCOBY y/o líquido iniciador difiere entre los fabricantes de kombucha y en las distintas regiones del mundo, aunque se requiere un mínimo

del 10 % por razones de seguridad alimentaria. Se recomienda que el pH sea de 4,5 o inferior después de agregar líquido iniciador y/o SCOBY.

Así mismo, Martínez Leal et al. (2018) señala que la producción típica de la bebida de kombucha se basa en té negro, verde u oolong. Para su producción se pueden utilizar 5 g de hojas de té por litro de agua, luego se le agrega azúcar, que servirá de sustrato para las bacterias y levaduras fermentadoras del té. Aproximadamente 50 g de azúcar por litro de agua son suficientes. Es extremadamente importante usar utensilios desinfectados y trabajar en áreas limpias mientras se hace kombucha, para tener control sobre el crecimiento de microorganismos y prevenir contaminación no deseada (Watawana et al., 2015). Asimismo, es importante controlar los niveles de pH durante la fermentación de la kombucha, y preferiblemente detener este proceso cuando se alcance un nivel de pH de 4.2, ya que la sobreproducción de ácido acético puede ser contraproducente (Kovacevic et al., 2014; como se citó en Martínez Leal et al., 2018).

Ahora bien, el proceso de elaboración de kombucha varía de acuerdo con la materia prima utilizada inicialmente; de este modo se puede encontrar: la bebida llamada tradicional elaborada a base de té (con aditivos, y hiervas o leche) y la bebida similar a la kombucha según las diferentes materias primas utilizadas como sustrato, estas pueden ser frutas o subproductos agroindustriales líquidos y sólidos. Cuando se utiliza jugo de fruta en una bebida de este tipo se debe pasteurizar. Distintos autores han utilizado frutas en este tipo de bebidas, así lo menciona Leonarski et al. (2022) en su artículo, en el caso de la uva fue por parte de Ayed et al., 2017; la manzana por parte de Zubidah et al., 2018; la piña por Wispen et al., 2020 y la guayaba por parte de Khaleil et al., 2020.

Por último, es importante considerar el método de elaboración inicial de kombucha, hay artículos donde se puntualiza acerca de la influencia de diferentes técnicas de fermentación, esto incluye la forma de realización de la kombucha, es decir, si lleva un inóculo (SCOBY), si lleva dos inóculos (SCOBY y líquido iniciador), kombucha liofilizada o solamente el líquido iniciador (kombucha fermentada sin pasteurizar y sin el SCOBY). En la investigación de Fabricio et al. (2022) se estudió la correlación entre la comunidad microbiana y la evolución de los metabolitos a lo largo de la fermentación, se exploró en una kombucha producida tradicionalmente al evaluar su comunidad microbiana y los principales metabolitos producidos, del mismo modo, se investigaron los efectos de los cultivos iniciadores donde se concluyó que diferentes cultivos iniciadores dan como resultado productos con diferentes composiciones microbianas y bioquímicas. El usar únicamente el líquido iniciador puede influir en la aparición de bacterias patógenas de la familia *enterobacteriaceae* y aumentar el grado alcohólico (debido básicamente a las *zymomonas* que metabolizan la glucosa y la convierten en alcohol). Sin embargo, es importante realizar una investigación avanzada de las técnicas para lograr un control total del proceso de fermentación en kombucha. Entonces es posible prever un inóculo microbiano práctico para aplicaciones industriales y estandarizar los metabolitos esperados del producto final, dando como resultado un producto seguro que puede considerarse beneficioso para la salud.

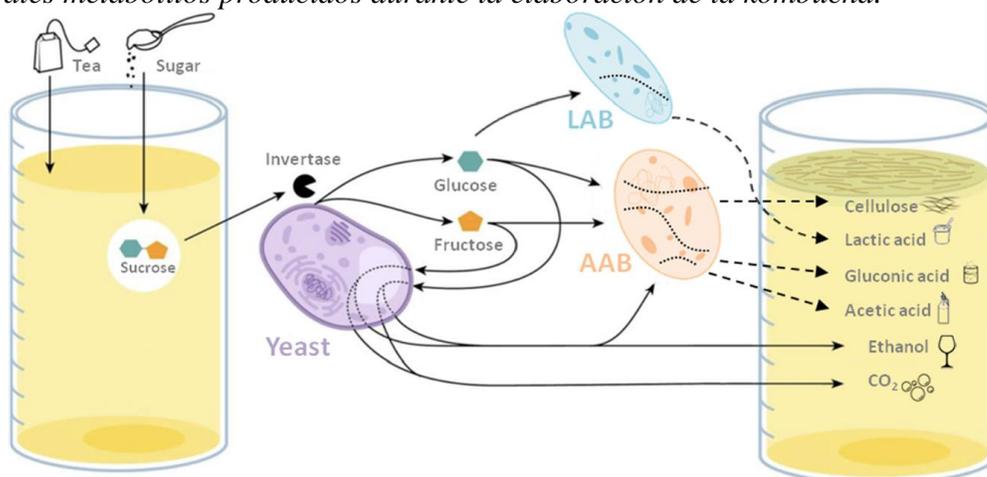
2.10. Fermentación

La fermentación es un proceso catabólico realizado por elementos vivos (bacterias, levaduras o células animales) o no vivos (enzimas) que mediante una serie de reacciones un compuesto orgánico se oxida parcialmente en ausencia de oxígeno para obtener energía química. En las fermentaciones, la glucosa no se degrada totalmente a CO₂ y H₂O, sino que se produce una degradación incompleta de la cadena carbonada. La fermentación es uno de los métodos más

antiguos para la conservación de alimentos y es uno de los menos comprendidos (Caycedo Lozano et al., 2021).

Figura 1

Representación esquemática de la interacción simbiótica entre los microorganismos y los principales metabolitos producidos durante la elaboración de la kombucha.



Nota. Tomado de Diez-Ozaeta & Astiazaran (2022).

En la kombucha durante el transcurso del proceso de fermentación de una semana (o más), los cultivos metabolizan los componentes del azúcar y el té para producir una bebida carbonatada natural, con un sabor ligeramente agrídulce, llena de componentes saludables como vitaminas B, ácidos orgánicos y antioxidantes, y trazas de alcohol. En general, el resultado es un líquido efervescente picante, ligeramente dulce, con bajos niveles de alcohol y sin tratamiento térmico adicional después de la fermentación. La fermentación secundaria (segunda fase de fermentación para efectos del presente proyecto) produce naturalmente dióxido de carbono y etanol que agrega carbonatación y niveles variables de "efervescencia" a la bebida de Kombucha; este tipo de bebida en la etiqueta puede indicarse como "naturalmente efervescente" o "naturalmente carbonatada", suponiendo que no se utilice ninguna forma de carbonatación forzada o reacción química para producir carbonatación adicional (KBI, 2022).

De acuerdo con Laureys et al. (2020) al principio, el medio es aerobio, rico en sacarosa y ligeramente ácido debido a la adición del inóculo. Gradualmente, la oxigenación del licor disminuye debido al desarrollo de una capa de celulosa encima del licor de fermentación y al consumo de oxígeno por los microorganismos en la estera zooglélica y el licor (AAB y / o levaduras). El crecimiento y metabolismo de las levaduras, las bacterias del ácido acético (AAB) y las bacterias del ácido láctico (LAB) dan como resultado la acumulación de ácidos orgánicos y, por lo tanto, disminuyen los valores de pH. Las concentraciones de sustrato disminuyen gradualmente debido al metabolismo de los microorganismos y la producción de la capa de celulosa. Hacia el final del proceso de fermentación, caracterizado por una película de celulosa bien desarrollada en la parte superior del licor, y un alto número de levaduras y bacterias del ácido acético, puede surgir un ambiente más anaeróbico con bajas concentraciones de sustrato y alta acidez. El proceso de fermentación relativamente largo probablemente permite una sucesión de diferentes microorganismos, como se puede derivar de resultados anteriores. Esto implica que el producto final de esta fermentación natural puede contener microorganismos que no se adaptan óptimamente al inicio del proceso de fermentación y viceversa.

En la figura 1 se observa cómo coexisten las fermentaciones láctica, acética y alcohólica. Brevemente, las especies de levadura que presentan actividad invertasa hidrolizan la sacarosa en fructosa y glucosa. Continúan el proceso de metabolización del azúcar y convierten la glucosa en CO_2 y etanol. Una vez que la glucosa y la fructosa son utilizadas libremente por LAB y AAB, las LAB convierten los azúcares principalmente en ácido láctico a través de la vía de Embden-Meyerhof, y los AAB oxidan la glucosa en múltiples ácidos orgánicos, como ácido glucónico, ácido glucurónico o ácido acético. AAB convertirá la fructosa en ácido acético y también oxidará el etanol producido por la levadura en ácido acético. Esta es la razón por la cual la concentración inicial de azúcar no da una cantidad significativa de etanol (ya que 17 g/L de azúcar deberían dar 1 % v/v de etanol). Es decir, la oxidación de etanol a ácido acético realizada por AAB asegura una bebida con bajo contenido de etanol (Diez-Ozaeta & Astiazaran, 2022). Otro elemento clave de la elaboración de Kombucha es la producción de biocelulosa. Aunque se considera que el principal productor es *Komataeibacter xylinum*, otras especies de AAB han sido descritas como productoras de celulosa (Chakravorty et al., 2016 ; Villarreal-Soto et al., 2019). En resumen, las especies convierten la glucosa en glucosa-6-fosfato, que a su vez conduce a la producción de uridina difosfo-glucosa (UDPGlc). Finalmente, a través de la celulosa sintasa, UDPGlc se convierte en celulosa. El ensamblaje de fibrillas de celulosa en estructuras complejas da como resultado la producción de una nueva biopelícula en la superficie, que aumenta su espesor a medida que avanza el tiempo de fermentación (Diez-Ozaeta & Astiazaran, 2022).

2.10.1. Tipos de fermentaciones

Hay varios tipos de fermentación dependiendo de la ruta metabólica seguida (Jayabalan et al., 2007).

2.10.1.1. Fermentación alcohólica

Es un proceso anaeróbico producido por levaduras, mohos y algunas bacterias, que producen cambios químicos en las sustancias orgánicas. Las levaduras transforman los carbohidratos (generalmente azúcares: glucosa, fructosa, sacarosa, almidón, etc.) en etanol ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$), dióxido de carbono (CO_2) y ATP que consumen los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico. La fermentación alcohólica tiene como objetivo proporcionar energía anaeróbica a los microorganismos unicelulares (levaduras) en ausencia de oxígeno a partir de la glucosa. El oxígeno es el desencadenante inicialmente de esta fermentación, ya que las levaduras lo van a necesitar en su fase de crecimiento. Siendo mínima la cantidad de oxígeno al final de la fermentación para evitar la pérdida de etanol y la aparición en su lugar de ácido acético. En este tipo de fermentación se desprende energía en forma de calor (proceso exotérmico), siendo necesario controlar este aumento de temperatura ya que si sobrepasa los 25 – 30°C las levaduras comienzan a morir deteniendo el proceso fermentativo. Otro producto de la fermentación es el anhídrido carbónico (CO_2) responsable del burbujeo, la ebullición y el aroma característico de un producto fermentado (Vázquez, 2007; como se citó en Morales, 2014).

2.10.1.2. Fermentación acética

Es producida por el *Acetobacter*, un género de bacterias aeróbicas que utiliza como sustrato el alcohol para originar ácido acético. Estas bacterias a diferencia de las levaduras productoras de alcohol requieren gran cantidad de O_2 para su crecimiento y actividad. El proceso metabólico se

basa en la conversión del etanol en acetaldehído y del acetaldehído hidratado en ácido acético por la acción de la enzima acetaldehído deshidrogenasa (Jayabalan et al., 2007).

2.10.1.3. Fermentación láctica

El ácido pirúvico es reducido a ácido láctico por medio del $\text{NADH}^+ \text{H}^+$, de esta forma el NAD^+ se recupera y pueden ser degradadas nuevas moléculas de la glucosa. Mediante la fermentación láctica se originan un conjunto de ácidos que son los responsables de disminuir el pH de la disolución. Los ácidos presentes son: ácido láctico, tartárico, málico y en menor cantidad cítrico (aparece a partir del tercer día de su fermentación). Todos estos ácidos son los responsables de proporcionar el sabor ácido característico al Kombucha (Jayabalan et al., 2007).

2.10.2. Composición bioquímica

Se han publicado diversas investigaciones respecto a la presencia de metabolitos en el té de kombucha. A pesar de que se ha llegado a un consenso en los análisis de la composición bioquímica de la kombucha, la estructura del té y del hongo no fueron similares en todos los informes, esto se debe a que la composición microbiana varía de región y país lo cual causa una variación en los metabolitos. También esta variación puede deberse a la cantidad de azúcar, sustrato, SCOBY y el tiempo de fermentación empleados (Jayabalan et al., 2017).

Entre los metabolitos secundarios presentes en la Kombucha como resultado de procesos metabólicos, bioquímicos y químicos originados durante su cultivo se tiene: ácido acético, ácido fólico, ácido carbónico, ácido glucurónico, ácido glucónico, ácido L-láctico, ácido úsnico. También se encuentran presentes las vitaminas del complejo B (B1, B2, B3, B6, B12), vitamina C entre otras, enzimas, una sustancia anticoagulante denominada Heparina y distintos oligoelementos en concentraciones trazas. El producto final contiene una pequeña cantidad de alcohol (0,5 -1%) y de azúcar no utilizada (Jayabalan et al., 2017).

2.11. Vida útil

La vida útil de un alimento se define como el tiempo finito después de su producción en condiciones controladas de almacenamiento, en las cuales, sus propiedades sensoriales y fisicoquímicas se pueden modificar, así mismo, esto sucede con el perfil microbiológico. Entre los factores que pueden afectar la duración de la vida útil de un alimento se encuentran: el tipo de materia prima, la formulación del producto, el proceso aplicado, las condiciones sanitarias del proceso, envasado, almacenamiento y distribución y las prácticas de los consumidores (Carrillo Inungaray y Reyes Munguía, 2013). En este orden de ideas, la kombucha como producto terminado se embotella y se tapa con un sellado hermético y se almacena a temperaturas de refrigeración entre 40 °F (4,4 °C) y 48 °F (9 °C) a lo largo de su cadena de distribución, para inhibir la fermentación adicional que podría conducir a un mayor contenido de alcohol y una vida útil reducida. Además, la adopción de sabores desagradables (KBI, 2022).

2.12. Toxicidad

La intoxicación alimentaria se define como aquella intoxicación provocada por cualquier alimento o producto alimenticio que por contener sustancias tóxicas, gérmenes, metales, aditivos, hormonas, etc. provocan una intoxicación. En la mayoría de las estadísticas, las toxiinfecciones

alimentarias provocadas por bacterias, protozoos y virus no son contabilizadas como intoxicaciones, sino como infecciones (Pinillos et al., 2003). Ahora bien, tras realizar análisis microbiológicos y bioquímicos se llegó a la conclusión de que la kombucha no es un riesgo para la salud humana, dichas pruebas se realizaron en 1995 en los laboratorios Kappa en Miami, Florida y the Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos; así mismo, con unas pruebas de laboratorio al alimentar ratas con kombucha durante 90 días, 35 resultados no arrojaron signos de toxicidad en los animales, incluso otro estudio con ratas alimentadas con diferentes concentraciones de kombucha (dosis normal, 5 y 10 veces aumentada) dejaron en evidencia que las pruebas de los animales de estudio estaban dentro de los límites clínicos (Jayabalan et al, 2014).

No obstante, otros estudios indican efectos adversos a la salud cuando la bebida es preparada de forma errónea. Los autores indican que debe evitarse su consumo excesivo en individuos con condiciones preexistentes que pueda conducirlos a una acidosis metabólica. Hay casos en donde los pacientes han reportado dolores de cabeza, mareo, reacciones alérgicas, dolor de cuello, ictericia, entre otros, tras consumir este tipo de productos. Se conoce que debe evitarse el consumo en mujeres embarazadas y lactantes; en cuanto a su ingesta con otras drogas o medicamentos es aconsejable evitarlo por su contenido alcohólico (Martini, 2018).

2.13. Propiedades fisicoquímicas

Un aspecto fundamental en el aseguramiento de la calidad de los alimentos lo constituye el análisis de las propiedades fisicoquímicas, por medio del cual se puede determinar su valor nutricional para dar cumplimiento a los requisitos exigidos por los organismos de salud pública. Además, a través de este análisis es posible detectar adulteraciones y falsificaciones, tanto en los alimentos terminados, como en las materias primas (FAO, 1992).

2.13.1. Sólidos solubles (grados Brix)

Es la cantidad de sólidos disueltos en la bebida, expresada en grados Brix (porcentaje de masa). Los sólidos solubles equivalen al contenido de azúcar en disolución. En cuanto a las concentraciones finales de azúcar en la kombucha, difieren fácilmente de una fermentación a otra, ya que la ruta metabólica no siempre sigue el mismo camino (Villarreal-Soto et al., 2019).

2.13.2. Acidez

En alimentos el grado de acidez indica el contenido en ácidos libres. Se determina mediante una valoración (volumetría) con un reactivo básico. El resultado se expresa como el % del ácido predominante en el material. Método Volumétrico: Titulación con fenolftaleína (Jayabalan et al., 2017).

2.13.3. PH

Indicativo de acidez o alcalinidad de una solución acuosa. Se define como el logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno en moles por litro. El valor de pH es de 1 a 14, que indica la concentración de iones hidrógeno presentes en una solución acuosa. El nivel de pH adecuado de kombucha está entre 2,3 y 3,8. El nivel de pH de la kombucha es importante ya que protege la infusión de microorganismos dañinos (KBI, 2022).

2.13.4. Porcentaje de alcohol

La bebida Kombucha contiene trazas de alcohol, un subproducto natural del proceso de fermentación que conserva la infusión y la protege de microorganismos dañinos. Las trazas de

alcohol son similares a las de un jugo de frutas sin pasteurizar. Así mismo, la kombucha se considera halal porque no es embriagadora y el etanol sirve como conservante, se conoce una categoría denominada "Kombucha dura artesanal", donde se agregan levaduras no nativas más adelante en el proceso de fermentación para producir intencionalmente un mayor contenido de alcohol (KBI, 2022).

2.13.5. Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante es una medida de los moles de radicales libres captados por una solución de prueba específica, independiente de la actividad de cualquier antioxidante presente en la mezcla (Benítez-Estrada et al., 2020). En la capacidad de la kombucha y de los extractos de kombucha para ejercer actividades antioxidantes, la mayoría de los autores suelen correlacionar esta actividad con los fenoles. Por ejemplo, Lorenzo & Munekata (2016) y Xu et al. (2017) (Morales, 2020) indican que las hojas de té contienen una interesante diversidad de compuestos fenólicos antioxidantes como los flavanoles (catequina, epicatequina, epigalocatequina, galato de epicatequina, galato de epigalocatequina, teaflavinas, tearubiginas). Además, la capacidad de la fermentación para aumentar el poder antioxidante y las características sensoriales finales sitúa al té como la principal fuente para desarrollar bebidas funcionales de kombucha.

Del mismo modo, Fabricio et al. (2022) atribuye la propiedad antioxidante de la kombucha a la infusión de té de *Camelia sinensis*, dicha propiedad se relaciona con los polifenoles y flavonoides presentes en el té, donde el proceso de fermentación puede aumentar o disminuir esta propiedad debido a la formación o bioconversión de compuestos bioactivos como ácidos orgánicos, minerales y vitaminas hidrosolubles. Además, la variación de los compuestos está fuertemente correlacionada con la cantidad significativa de posibles variables de proceso, como el tipo de té y la comunidad microbiana (Fabricio et al., 2022).

2.14. Propiedades microbiológicas

En los procesos de elaboración, manipulación, transporte, almacenamiento y entrega al consumidor final, suelen contaminarse los alimentos a causa de microorganismos procedentes de diversas fuentes que encuentran en estos productos los nutrientes necesarios para desarrollarse y lograr su colonización. Algunos de estos microorganismos pueden causar enfermedades, para evitar este tipo de problemas, se realizan los análisis microbiológicos a través de diferentes técnicas adecuadamente elegidas y correctamente ejecutadas, que bajo condiciones extremas de asepsia y a través de medios de cultivo, proveen los nutrientes necesarios para el crecimiento y desarrollo de los microorganismos analizados, para su posterior selección e identificación (FAO, 2002).

2.14.1. Medios de cultivo

Un medio de cultivo es un sustrato estéril que contiene elementos inhibitorios o nutricionales que permiten o regulan el crecimiento y la multiplicación bacteriana (Barrero, 2016). La clasificación de medios de cultivo de acuerdo con Cuesta (2005) es la siguiente:

- ❖ Según su composición pueden ser: Naturales o complejos y sintéticos.
- ❖ Según su estado pueden ser: Líquidos, fluidos (0.1% de agar), semisólidos (0.2 a 0.8% de agar) y sólidos (1.5 a 2% de agar).
- ❖ Según su finalidad pueden ser: Enriquecidos o nutritivos, de enriquecimiento, selectivos, diferenciales, de transporte y de mantenimiento o conservación de pruebas bioquímicas.

Para temas de investigación suelen emplearse los medios sintéticos, cuya composición es completamente conocida.

2.14.2. *Conteo total*

De acuerdo con la NTC 4092, se establecen las directrices para realizar análisis microbiológicos de conformidad con normas internacionales (ISO 7218 de 1997). En la muestra es fundamental que la siembra se realice a partir de diluciones consecutivas e inocular los volúmenes correctos (0.1 ml para superficie y 1 ml para profundidad).

En cada caso después del periodo especificado de incubación se cuentan las unidades formadoras de colonias (UFC) presentes en las cajas que contengan entre 15 y 300 UFC, los análisis que aplica dicho rango son para: aerobios mesófilos, coliformes, recuento de bacterias termófilas, proteolíticas y lipolíticas. De forma similar ocurre para mohos, levaduras y levaduras osmofílicas, con un rango entre 15 UFC y 150 UFC.

2.14.3. *Identificación de microorganismos*

Existen diferentes tipos de microorganismos los cuales se pueden estudiar y analizar en una muestra de laboratorio. A su vez estos se pueden aislar en medios de cultivo que aportarán nuevos nutrientes para su desarrollo. Aislar es separar un tipo de microorganismo a partir de una población heterogénea de microorganismos (Rojas, 2011).

Para la identificación de microorganismos se realizan una serie de pruebas fenotípicas, entre ellas la observación macroscópica y microscópica (tinción de gram para el caso de las bacterias y tinción de azul de lactofenol para los hongos) de las colonias.

Los hongos por su parte son unicelulares (levaduras) o pluricelulares (mohos) heterótrofos que no forman auténticos tejidos y que tienen estructura de tallo. Se reproducen de dos formas: por medio de esporas y conidias o blastoconidias, pudiendo ser su reproducción sexual o asexual respectivamente (Castiglia et al., 2013). Mientras las bacterias son organismos unicelulares procariotas sin núcleo diferenciado, aunque presentan un nucleoide, una estructura que contiene una molécula circular de ADN; sin organelos con membrana; presentan varias formas y se pueden encontrar prácticamente en cualquier ambiente (suelos, aguas, aire, y como simbioses o patógenos del humano, otros animales y plantas) (Carrillo y Audisio, 2007).

2.14.3.1. Tinción de Gram

La tinción de Gram es una tinción diferencial, ya que utiliza dos colorantes y clasifica a las bacterias en dos grandes grupos: bacterias Gram negativas y bacterias Gram positivas. Los principios de la tinción de Gram están basados en las características de la pared celular de las bacterias, la cual le confiere propiedades determinantes a cada microorganismo. La pared celular de las bacterias Gram negativas está constituida por una capa fina de peptidoglicano y una membrana celular externa, mientras que las bacterias Gram positivas poseen una pared celular gruesa constituida por peptidoglicano, pero no cuentan con membrana celular externa; así pues, la composición química y el contenido de peptidoglicano en la pared celular de las bacterias Gram negativas y Gram positivas explica y determina las características tintoriales. Las bacterias Gram positivas se observan de color morado, mientras que las Gram negativas se observan de color rosa a rojo (López et al, 2014).

2.14.3.2. Otras pruebas

Existen pruebas que se utilizan en la identificación preliminar, con lectura inmediata: como la catalasa que es una enzima presente en la mayoría de los microorganismos que poseen citocromos. Las bacterias que sintetizan catalasa hidrolizan el peróxido de hidrógeno en agua y

oxígeno gaseoso que se libera en forma de burbujas. El principal objetivo de esta prueba es separar Micrococcaceae (Positiva) de *Streptococcus spp.* y *Enterococcus spp.* (Negativa) (Lagunas y Vega, 2013).

2.14.4. Crecimiento microbiano

Cuando se requiere investigar el contenido de microorganismos viables en un alimento, la técnica comúnmente utilizada es la cuenta en placa. La técnica se basa en contar las unidades formadoras de colonias o UFC presentes en un gramo o mililitro de muestra. Se considera que cada colonia que se desarrolla en el medio de cultivo de elección después de un cierto tiempo de incubación a la temperatura adecuada proviene de un microorganismo o de un agregado de ellos, de la muestra bajo estudio; este microorganismo o microorganismos son capaces de formar la colonia, es decir una UFC. Para que las colonias puedan contarse de manera confiable, se hacen las diluciones decimales necesarias de la muestra, antes de ponerla en el medio de cultivo (Camacho et al., 2009).

Al efectuar los cálculos y obtener el número de colonias se puede elaborar la curva de crecimiento según Madigan et al. (2009) es la representación gráfica que describe un ciclo completo de crecimiento y puede dividirse en distintas fases, llamadas fase de latencia, fase exponencial, fase estacionaria y fase de muerte.

2.15. Pruebas sensoriales

El análisis sensorial es una disciplina útil para conocer las propiedades organolépticas de los alimentos por medio de los sentidos. Una persona desde el momento que prueba realiza un juicio referente al producto, por ejemplo, si le gusta o disgusta, además, reconoce sus características de sabor, olor, textura, entre otros (García Ahued, 2014). De acuerdo con Anzaldúa Morales (1994) las propiedades sensoriales son los atributos de los alimentos que se detectan por medio de los sentidos. Hay algunas propiedades que se perciben por medio de un solo sentido, mientras que otras son detectadas por dos o más sentidos. En la figura 9 se puede observar la relación entre estos atributos sensoriales y los cinco sentidos.

2.15.1. Jueces

El éxito y validez de las pruebas suele depender de la selección y el entrenamiento de las personas que harán parte de la evaluación sensorial. Se debe determinar el número de jueces, seleccionarlos, explicarles la evaluación y entrenarlos. Ahora bien, el número de jueces depende del tipo de juez que se vaya a emplear. Existen cuatro tipos de jueces: el juez experto, el juez entrenado, el juez semi entrenado o de laboratorio, y el juez consumidor (Anzaldúa Morales, 1994).

2.15.1.1. Juez experto

Es una persona con gran experiencia en probar un determinado tipo de alimento, posee una gran sensibilidad para percibir las diferencias entre muestras y para distinguir y evaluar las características del alimento. Por lo general, intervienen en degustaciones de productos caros, ya que su entrenamiento es muy largo y costoso. Así mismo, para una prueba “sólo es necesario contar con su respuesta” (Anzaldúa Morales, 1994).

2.15.1.2. Juez entrenado

Es una persona que posee bastante habilidad para la detección de alguna propiedad sensorial o algún sabor o textura en particular, que ha recibido cierta enseñanza teórica y práctica acerca de la evaluación sensorial, y que sabe que es exactamente lo que se desea medir en una prueba, así mismo, suele realizar pruebas sensoriales con cierta periodicidad (Anzaldúa Morales, 1994). El número requerido de participantes para pruebas sensoriales con este tipo de jueces debe ser al menos de siete, y como máximo 15. Con menos de siete los resultados carecen de validez y con más de 15 es más difícil dirigir el grupo y el número de datos es innecesariamente grande (Larmond, 1977; como se citó en Anzaldúa Morales, 1994). Por último, se emplean principalmente para pruebas sensoriales descriptivas o para pruebas discriminativas complejas.

2.15.1.3. Juez semientrenado o de laboratorio

Es la persona que ha recibido un entrenamiento teórico similar al de los jueces entrenados. Se trata de personas que realizan pruebas sensoriales con frecuencia y poseen suficiente habilidad, pero que generalmente solo participan en pruebas discriminativas sencillas, las cuales no requieren de una definición muy precisa de términos o escalas; estas pruebas deben efectuarse con un mínimo de 10 jueces y un máximo de 20 (Larmond, 1973, 1977; como se citó en Anzaldúa Morales, 1994).

2.15.1.4. Juez consumidor

Se trata de personas que no tienen que ver con las pruebas, ni trabajan con alimentos como investigadores o empleados de fábricas procesadoras de alimentos, no han efectuado evaluaciones sensoriales periódicas. Por lo general son personas tomadas al azar, ya sea en la calle, o en una tienda, escuela, entre otros. Este tipo de jueces se emplea para pruebas afectivas y 30 es el número mínimo de jueces indicados para que los datos tengan validez estadística (Anzaldúa Morales, 1994).

2.15.2. Tipos de análisis

El análisis sensorial de los alimentos se lleva a cabo de acuerdo con diferentes pruebas, según sea la finalidad para la que se efectúe. Existen diversas formas de clasificar las pruebas que pueden ser utilizadas. De acuerdo con Anzaldúa Morales (1994) existen tres tipos principales de pruebas: las pruebas afectivas, las discriminativas y las descriptivas.

Por otro lado, de acuerdo con otros autores estas se dividen en dos grandes grupos: las pruebas analíticas y las pruebas afectivas. Cualquiera que sea la prueba que se vaya a emplear, es necesario que los jueces entiendan la necesidad de efectuar la misma de la manera más objetiva posible, demuestren su capacidad para seguir las instrucciones y ejecuten la misma de manera correcta (Espinosa Manfugás, 2007).

2.16. Factibilidad técnica

El estudio de la factibilidad sirve para recopilar datos relevantes sobre el desarrollo de un proyecto y en base a ello tomar la mejor decisión, si procede su estudio, desarrollo o implementación. La factibilidad técnica específicamente tiene como objetivos la mejora de un sistema actual y la disponibilidad de tecnología que satisfaga las necesidades (Kendall y Kendall, 2005).

2.17. Estudio de mercado

El estudio de mercado es más que el análisis y la determinación de la oferta y la demanda, o de los precios del proyecto. Ya que los costos de operación pueden preverse simulando una situación futura y especificando las políticas y los procedimientos que serán utilizados como estrategia comercial; por ejemplo, la estrategia publicitaria o la distribución del producto final (Sapag Chain et al., 2014).

Metodológicamente, los aspectos que deben estudiarse según Sapag Chain et al. (2014) son cinco:

- ❖ El consumidor y las demandas del mercado y del proyecto, actuales y proyectadas.
- ❖ La competencia y las ofertas del mercado y del proyecto, actuales y proyectadas.
- ❖ La comercialización del producto o servicio generado por el proyecto.
- ❖ Los proveedores, así como la disponibilidad y el precio de los insumos, actuales y proyectados.
- ❖ El mercado externo como contexto de competencia y oportunidades.

Por último, de acuerdo con Andreson et al. (2022) el mercado de kombucha es un segmento de rápido crecimiento en la categoría de bebidas funcionales. En este mismo hay dos variaciones de la bebida: las kombuchas tradicionales y las de sabores. En concreto, el mercado de la kombucha es relativamente heterogéneo. La ausencia de estudios clínicos es un problema importante que debe abordarse para probar los beneficios de esta bebida en la salud humana. De todos modos, dado que ha sido considerada como una bebida funcional entre la población, está experimentando un tremendo crecimiento en el mercado global. Según los datos del mercado, el tamaño del mercado de Kombucha valía USD 1670 millones en todo el mundo en 2019 y se espera que se expanda a una CAGR (tasa de crecimiento anual compuesto) basada en los ingresos del 19,7 % durante 2021- 2026 (Grand View Research, 2020; como se citó en Diez-Ozaeta & Astiazaran, 2022).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización

Para el desarrollo de esta propuesta de investigación, los insumos requeridos en los diferentes tratamientos para la elaboración de la bebida fermentada de kombucha de cholupa fueron obtenidos de los productores colombianos, centrándose para algunos insumos en los productores del departamento del Huila.

El montaje para la puesta en marcha de los distintos tratamientos y su trazabilidad se realizó en el laboratorio de Procesos Agroindustriales de la Facultad de Ingeniería, el análisis microbiológico se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, el porcentaje de alcohol se logró determinar en el laboratorio de Química de la misma facultad, y la identificación de la fruta, mediante comparación con el herbario SURCO de la Universidad Surcolombiana, en la ciudad de Neiva, Huila, Colombia. Por último, la capacidad antioxidante de dos de los tratamientos se midió en el Nodo La Angostura del SENA ubicado en Campoalegre, Huila, Colombia.

3.2. Caracterización de la materia prima

La morfología de la planta de la cholupa (*Passiflora maliformis* L.) se observó en el herbario SURCO de la Universidad Surcolombiana y se comparó con la planta de origen de donde se obtuvo el fruto para la presente investigación. En el laboratorio de Procesos Agroindustriales de la Universidad Surcolombiana, se realizó la caracterización del jugo de cholupa (*Passiflora maliformis* L.), determinando variables como: pH con el potenciómetro digital (handylab 100) por el método del potenciómetro, AOAC-981.12; sólidos solubles con el refractómetro digital (Pocket & quot) por el método del refractómetro, AOAC-932.12; y la acidez, en porcentaje de ácido cítrico por el método AOAC-942.15.

3.3. Diseño experimental

Para la obtención de la bebida se realizó un diseño experimental por tratamientos, con el fin de encontrar los tipos de sustratos óptimos para su producción. Los tratamientos se formaron de acuerdo con las posibles combinaciones entre el factor: tipo de sustrato.

Tabla 3

Diseño experimental planteado para la kombucha de cholupa

Tipo de sustrato		Tratamientos
Tipo de té (nitrógeno)	Tipo de azúcar (carbono)	
N	B	NB
	M	NM
	P	NP
V	B	VB
	M	VM
	P	VP

Nota. Donde N: té negro, V: té verde, B: azúcar blanca, M: azúcar morena y P: panela (materia prima orgánica), tras la combinación para efectos del presente estudio se abordaron como tratamientos (T), siendo así, NB: T1, NM: T2, NP: T3, VP: T4, VM: T5 y VP: T6.

3.4. Tratamientos objeto de estudio.

Los tratamientos estudiados en esta investigación fueron los siguientes:

- ❖ T1: té negro orgánico + azúcar blanca orgánica, proporción 6%:5,6%
- ❖ T2: té negro orgánico+ azúcar morena orgánica, proporción 6%:5,6%
- ❖ T3: té negro orgánico+ panela orgánica, proporción 6%:5,6%
- ❖ T4: té verde orgánico +azúcar blanca orgánica, proporción 6%:5,6%
- ❖ T5: té verde orgánico +azúcar morena orgánica, proporción 6%:5,6%
- ❖ T6: té verde orgánico +panela orgánica, proporción 6%:5,6%

Tras obtener la infusión, a cada tratamiento se le adiciono un disco de SCOBY junto al starter iniciador para realizar la primera fase de fermentación. Después de terminar el lapso adecuado de la primera fase, se adiciono el jugo de fruta, en este caso la cholupa (para la segunda fase de fermentación se retiró el disco de SCOBY). Estos materiales se adicionan debido a que son insumos importantes que se presentan para la elaboración de una bebida de kombucha.

3.5. Proporciones de ingredientes para los tratamientos.

Tradicionalmente la bebida tipo “kombucha” se elabora a base de té verde o té negro. Las proporciones de té, azúcar, el tiempo y temperatura de fermentación utilizados en la producción de Kombucha pueden variar según cada región o preferencias del consumidor de acuerdo con Jayabalan et al. (2016) (como se citó en Coelho et al., 2020). A continuación, se plasma una tabla de cantidades utilizadas en cada uno de los tratamientos para la elaboración de kombucha de cholupa.

Tabla 4

Cantidades utilizadas en cada tratamiento (formulación de proporción)

Ingredientes	Porcentaje	Cantidad	Unidad	Detalles
Agua	100%	2000	MI	pH neutro
Cholupa	25%	500	G	pH ácido
Té (verde o negro)	6%	120	G	En Hojas y orgánico
Azúcar o panela	5,6%	112	G	Orgánico
Starter iniciador	12%	240	MI	De lotes previos
SCOBY	-	1	U	Saludable y en buen estado

Nota. La tabla representa el resultado de la revisión bibliográfica respecto a los insumos y materia prima necesaria para elaborar una bebida tipo kombucha y sus respectivas concentraciones. Adaptado de Vargas Mora, 2011; Coelho et al., 2020; Villarreal et al., 2019; Martínez Leal et al., 2018.

3.6. Selección y muestreo

El muestreo se realizó teniendo en cuenta la normatividad existente en la elaboración de kombucha, como se mencionaba anteriormente es poca y no es concluyente, se tomó como referencia el material proveniente de la asociación comercial Kombucha Brewers International (KBI) con el fin de cumplir requerimientos de seguridad alimentaria, también, se tuvieron en

cuenta las especificaciones existentes tras la creación del proyecto de norma de Uganda. A su vez, el contenido de literatura práctica en las diferentes evaluaciones realizadas de la bebida fue clave, puesto que cada kombucha posee una composición distinta.

Cabe resaltar el papel de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, según esta misma (2002) todo sistema nacional para el control de los alimentos debe contar con el servicio de análisis de laboratorio para la revisión de la calidad e inocuidad de los productos alimenticios y así proteger la salud y resguardar el bienestar de los consumidores mediante la prevención de riesgos químicos y biológicos derivados del manejo inadecuado de los alimentos y así mantener un estándar general de calidad.

Para la realización de cada tratamiento se seleccionaron frutos en el mejor estado de calidad, de igual forma ocurrió con el agua, el té verde, el té negro, el azúcar (blanca y morena) y la panela. Por último, como proveedor de SCOBY y starter iniciador, fue una de las marcas aprobadas por el INVIMA, Kombucha La Jaguará.

3.7. Materiales y herramientas

3.7.1. Insumos

- ❖ Azúcar blanca: Sirve como alimento para el SCOBY.
- ❖ Azúcar morena: Sirve como alimento para el SCOBY.
- ❖ Panela: Sirve como alimento para el SCOBY.
- ❖ Cholupa: Debe ser fruta con un estado de madurez medio a avanzado, con la ayuda de la fruta se aumentará brevemente el contenido de azúcar de la kombucha básica en la segunda fase de fermentación.
- ❖ Té verde: Empleado para realizar la infusión y utilizarlo como sustrato.
- ❖ Té negro: Empleado para realizar la infusión y utilizarlo como sustrato
- ❖ Agua: Debe ser preferiblemente filtrada o de botellón con pH neutro, es importante que sea lo más pura posible, ya que es usada como medio para el sustrato.
- ❖ SCOBY: Saludable, obtenido de otro fabricante de kombucha. Agregado al sustrato para comenzar la fermentación.

3.7.2. Utensilios

- ❖ Balanza: Empleada para el pesaje de materias primas, insumos, producto intermedio y producto terminado. Digital para obtener medidas más precisas.
- ❖ Envases de vidrio: De grado alimenticio de 2000 ml para realizar la fermentación.
- ❖ Botellas de vidrio: Preferiblemente con tapa a presión para envasar la bebida al terminar la fermentación.
- ❖ Colador de tela: Se filtra cualquier material indeseado dentro del proceso de elaboración.
- ❖ Papel filtro: Empleado para filtrar de forma rigurosa la bebida.
- ❖ Embudo: Para envasar adecuadamente el producto
- ❖ Olla: Debe ser de acero inoxidable preferiblemente esmaltada, ya que el metal puede ser perjudicial para la kombucha.
- ❖ Guantes: Deben ser de nitrilo, para prevenir contaminación durante la manipulación.
- ❖ Tela o papel toalla: Debe ser respirable y es empleada para prevenir que la suciedad o los insectos ingresen en el envase.
- ❖ Ligas: De goma para sostener en su lugar la tela o toalla de papel.

3.8. Proceso de elaboración

Se revisó que todos los insumos presentes en el proceso estuviesen completos y sin caducar, productos caducados o en mal estado alterarían los parámetros de la formulación, los tiempos de la fermentación y los resultados finales. Para el presente orden se empleó el procedimiento estandarizado, es decir, utilizado por distintos autores (adaptado de Vargas Mora, 2011; Coelho et al., 2020; Villarreal et al., 2019; Martínez Leal et al., 2018). Así mismo, se presenta en el anexo A el diagrama de flujo para la producción de kombucha.

- ❖ Selección: Seleccionar un SCOBY que esté saludable y en buen estado para que la fermentación no sufra ningún contratiempo. Un SCOBY enfermo y en mal estado puede ser causante de contaminación microbiológica y provocar intoxicación al consumir la kombucha resultante del proceso. Se seleccionó el SCOBY de Kombucha La Jaguara, denominado de acuerdo con su ficha técnica (ver anexo B) como: Cultivo iniciador de kombucha *Saccharomyces boulardii*.
- ❖ Medición: Pesar y medir el volumen de todos los ingredientes a emplear según la formulación para un resultado óptimo: azúcar (blanca o morena) o panela, té verde o negro, agua y líquido iniciador.
- ❖ Preparación: Esterilizar los envases a utilizar por la infusión con agua a 100°C.
- ❖ Infusión: Se debe infusionar en el agua a 75°C el té (verde o negro) por un lapso aproximado de 3 minutos para poder extraer todas sus propiedades.
- ❖ Colado: Con el colador de tela se filtra la infusión en los envases de vidrio correspondientes.
- ❖ Mezclado: Mezclar la infusión con el sustrato correspondiente (azúcar blanca, azúcar morena o panela), dejar reposar unos minutos hasta que esté a temperatura ambiente (25-28°C) para que el SCOBY pueda empezar la fermentación, esta fase de enfriamiento no debe prolongarse por más de 2 horas debido a que microorganismos indeseados pueden invadir el líquido.
- ❖ SCOBY: Adición del SCOBY al sustrato. La temperatura debe estar aproximadamente en 20°C.
- ❖ Starter: Inocular la mezcla de té con el starter o líquido iniciador para arrancar la fermentación, el starter es un caldo concentrado que al agregarlo a la nueva infusión ayudará a bajar el pH súbitamente y prevenir la formación de microorganismos dañinos.
- ❖ Primera fase de fermentación: La mezcla puesta en los envases de vidrio se tapa con el paño de tela (en este caso tela garza) y se sujeta con ligas, luego se deja fermentar en la oscuridad a temperatura ambiente por los días necesarios (alrededor de 8-14 días, en este caso 13 días). El paño de tela previene que las moscas y demás insectos sean atraídos por la sustancia endulzada y que esta termine contaminada, este tipo de lienzo permite el ingreso de aire lo cual es necesario para la fermentación. Durante este periodo se debe seguir diariamente el desarrollo del SCOBY para revisar que este no sea invadido por moho u otros patógenos.
- ❖ Filtrado: transcurrido el periodo de fermentación, se retira el SCOBY y se filtra (con tela de filtrado en este caso) para obtener un líquido limpio sin presencia de restos de SCOBY o sedimentos propios de la fermentación.

En esta fase la kombucha se puede consumir tal cual, pero en este caso se dará una segunda fase de fermentación para obtener el gas carbónico (CO₂). En esta etapa también se puede saborizar la kombucha con frutas o especias, en este caso se hará con jugo de chولupa.

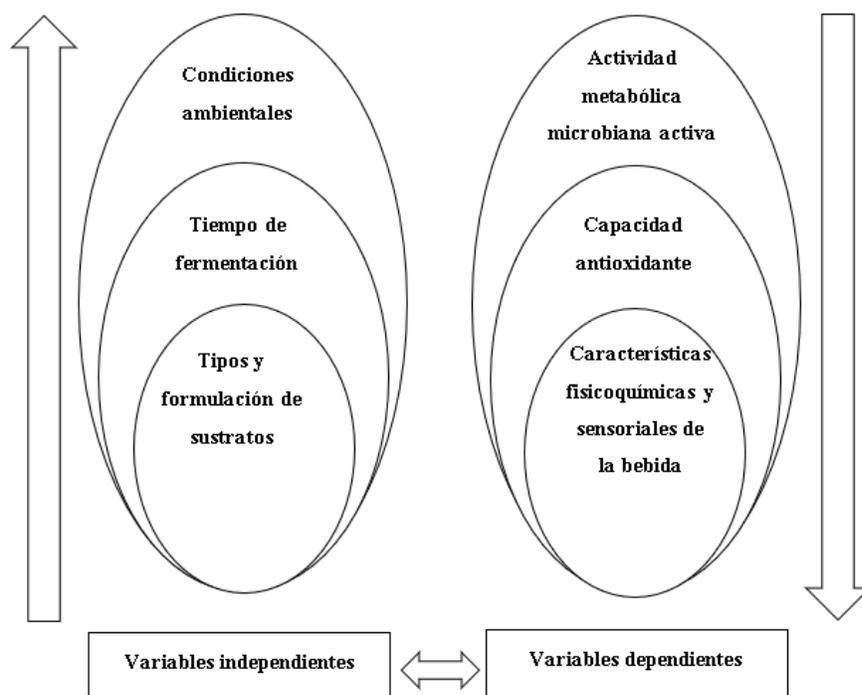
Segunda fase de fermentación:

- ❖ Adición de jugo de fruta: El jugo de fruta debe estar previamente listo (hervido de 30-45 segundos entre 80-100°C), y adicionarse a la kombucha tradicional, la misma se deja a temperatura ambiente por 4 días para que desarrolle CO₂. Se sugiere destapar diariamente las botellas para que el exceso de gas carbónico que se forma en esta etapa pueda escapar, ya que permitiendo que la bebida respire durante esta fermentación se evitará la presión en las botellas debido a la formación de CO₂ y que estas puedan llegar a estallar.
- ❖ Filtrado: Transcurrido el periodo de fermentación (en este caso de 4 días), se filtra la bebida (se utilizó un colador de tela y papel filtro) para obtener el líquido.
- ❖ Embotellado: Se debe embotellar en envases de vidrio (con seguro hermético preferiblemente). Debe permanecer un espacio entre el producto y la tapa del recipiente (aproximado de 2 centímetros), además, dichos envases de vidrio deben esterilizarse previamente (temperatura aproximada de 180°C durante 60 minutos) y colocar boca abajo para garantizar el sellado hermético.
- ❖ Almacenamiento: se debe almacenar la kombucha terminada en los envases correspondientes y refrigerar a una temperatura de 4°C, esto debido a que la temperatura ayuda a detener la fermentación y así se reducirá la producción de CO₂. Puede almacenarse por un periodo de mes y medio a tres meses, tiempo durante el cual la fermentación sigue en curso lentamente y puede ir cambiando el sabor de la bebida.

3.9. Categorías de la investigación

Figura 2

Organizador lógico de variables



La figura anterior muestra las variables que intervienen dentro de la presente investigación aplicada, partiendo de forma general a específica con la premisa de que la kombucha puede ser heterogénea de un fabricante a otro, característica otorgada en su mayoría por los parámetros y condiciones de elaboración. Por lo cual, como variables independientes se inicia con los tipos y formulación de sustratos, es decir, se tienen tres tipos de insumos azucarados (azúcar blanca orgánica, azúcar morena orgánica y panela orgánica), dos tipos de té (té negro y té verde) y jugo de fruta (cholupa); luego interviene el tiempo de fermentación, considerado en este caso dividido en dos fases, y por último, las condiciones ambientales, las cuales a su vez intervienen en el tiempo de fermentación, especialmente por la temperatura; también es necesario tener en cuenta una baja humedad (prevención de fuentes de contaminación), poca luz, buena ventilación y no aplicar movimiento a las muestras.

Como resultado en conjunto a las variables anteriormente mencionadas, las actividades metabólicas microbianas son diversas y pueden ocurrir a diferentes velocidades, dando como resultado un tamaño distinto en microorganismos benéficos, de ese mismo modo ocurre con la capacidad antioxidante concedida en su mayoría por el té, y finalmente, las características fisicoquímicas (pH, sólidos solubles, acidez titulable y porcentaje de alcohol) y las características sensoriales (de acuerdo a la calidad final del producto y el gusto del consumidor).

3.10. Análisis fisicoquímico

Se revisó si las características fisicoquímicas de la bebida varían durante la fermentación, por lo cual se hicieron medidas (por triplicado) de los resultados experimentales tomados en cada lapso (lapsos de 48 horas, variable de acuerdo con la fase de experimentación), con el fin de observar la variación de los siguientes parámetros a lo largo de la fermentación:

- ❖ PH: Se efectuaron lecturas de pH determinadas con el equipo portátil Handylab 100 modelo pH 11 SI-ANALYTICS. Método del potenciómetro (AOAC-981.12).
- ❖ Sólidos solubles: Se determinó el contenido de sólidos solubles por medio del Refractómetro "Pocket" Portátil Digital con Doble Uso modelo PAL-BX/RI y de una pipeta pasteur. Método del refractómetro (AOAC-932.12).
- ❖ Acidez titulable: Se realizó a cada tratamiento este procedimiento, la determinación se hizo por titulación con una solución valorada de hidróxido de sodio 0.1N y se aplicó la ecuación. Método AOAC-942.15.
- ❖ Porcentaje de alcohol: La determinación de alcohol en la bebida elaborada se realizó mediante la destilación del alcohol, conociendo así el volumen de alcohol que hay presente en una muestra, en este caso se tomaron 300 ml de muestra. La determinación del porcentaje de alcohol se realizó con la ecuación de Gay Lussac.

3.11. Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de dos muestras de kombucha (N y V) se midió utilizando el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) descrito por Brand-Williams et al. (1995). Las muestras de té negro y té verde se midieron por triplicado. Para la preparación de estas se utilizó metanol acidificado al 60% (50 ml) junto a 0,833 g de bebida. Para la extracción se empleó baño María con ultrasonido por 30 minutos a una temperatura <45 °C (balones aforados de 50 mL sellados previamente), seguidamente; la centrifugadora a 3000 revoluciones por minuto (RPM) por 10 min a una temperatura de 10 °C. Los extractos obtenidos pasaron por un filtro de Nylon de

0,45 μm . Posteriormente, el extracto de muestra (50 μL) y la solución de trabajo de DPPH (1450 μL) se colocaron juntos en un tubo de ensayo y se incubaron en la oscuridad durante 60 min. A partir de 300 μL de preparado se hizo la lectura, la absorbancia óptica se determinó a 515 nm usando un espectrofotómetro UV (ELISA SpectraMax ABS Plus), y se empleó como estándar Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman- ácido 2-carboxílico) (Adaptado de Thaipong et al., 2006). Los resultados se expresaron como μmol de equivalentes de Trolox por litro de kombucha ($\mu\text{mol ET/L}$).

3.12. Análisis organoléptico

Se realizaron pruebas con el fin de evaluar las propiedades organolépticas del producto terminado, las cuales fueron de dos tipos: analítica y hedónica, de este modo se determinó la calidad y la aceptación de cada uno de los tratamientos estudiados, su instrumento de análisis principal consistió en pruebas en físico aplicadas a estudiantes de la Universidad Surcolombiana, sede Neiva y en hogares pertenecientes a la misma localidad (Neiva, Huila); por medio de esta evaluación se logró conocer si los parámetros de calidad se cumplen y conocer por parte de los posibles consumidores sus preferencias.

El análisis sensorial se describe a continuación:

3.12.1. Prueba analítica de los tratamientos

El documento elaborado de catación contiene las siguientes características evaluadas en la bebida: ausencia de defectos, color, consistencia, sabor y aroma. Esta prueba se realiza con jueces entrenados, sin embargo, debido a distintos factores fue efectuada a jueces semientrenados o de laboratorio (cantidad requerida: 10-20; Anzaldúa Morales, 1994).

Puntajes de los factores de calidad de la kombucha de cholupa:

Ausencia de defectos

- 4 Libre de sustancias extrañas como: semillas, hojas, etc.
- 0-2 Con semillas u hojas, residuos de SCOBY.

Color:

- 4 Anaranjado, amarillo y matizado.
- 3 Ligeramente claro, opaco o pardo.
- 0-2 No característico de la fruta.

Sabor y aroma

- 8 Característico del té y la fruta, buen balance dulce-ácido
- 4-6 Muy dulce o ácido, astringente, oxidado.
- 0-2 Avinagrada.

Consistencia

- 4 Homogénea.
- 3 Muy espesa o muy clara.
- 0-2 No homogénea, pastosa, babosa.

Adaptado de Mahecha Latorre (1985).

En el anexo C se evidencia el instrumento utilizado para la prueba sensorial de tipo analítica.

3.12.2. Prueba hedónica de los tratamientos

La kombucha en su presentación natural tiene un ligero parecido al olor de la cerveza, con notas de vinagre y una característica parte ácida. Ahora bien, el documento de este análisis se diseñó con el fin de cuantificar el grado de satisfacción del producto terminado (cantidad requerida: mínimo 30; Anzaldúa Morales, 1994).

Grados de gusto o disgusto empleados:

- Me disgusta extremadamente: 1
- Me disgusta mucho: 2
- Me disgusta moderadamente: 3
- Me disgusta poco: 4
- Ni me gusta ni me disgusta: 5
- Me gusta poco: 6
- Me gusta moderadamente: 7
- Me gusta mucho: 8
- Me gusta extremadamente: 9

En el anexo D se evidencia el instrumento utilizado para la prueba sensorial de tipo hedónica.

3.13. Análisis microbiológico

El análisis microbiológico se realizó teniendo en cuenta el tipo de microbiota presente en la bebida de acuerdo con la literatura, tal es el caso de las levaduras, bacterias del ácido acético (AAB) y en menor medida, bacterias del ácido láctico (LAB). Así mismo, es indispensable cumplir con los parámetros establecidos en el DUS 2037 de 2018 y el Código de práctica de Kombucha de KBI, se siguió la NTC 4092 de 2016 (implementación de las normas sobre microbiología de alimentos) y los resultados se obtuvieron por el recuento estándar en Placa (AOAC 990.12.).

El análisis se realizó por medio de diluciones seriadas (1/10), seis diluciones por cada tratamiento, previamente son añadidos aproximadamente 9 ml de solución salina (s/s) a treinta y seis tubos de ensayo de 16x150 cm estériles, se rotulan los tubos de ensayo de acuerdo al número de dilución (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}) y al tratamiento (T1, T2, T3, T4, T5 y T6), y se transfiere 1 ml de cada bebida (desde el T1 a T6) a un tubo de ensayo rotulado con 10^{-1} (que contiene 9 ml de (s/s) al 0.85% estéril), a partir del tubo 10^{-1} se transfiere 1 ml de manera seriada por medio de una micropipeta (descartar la punta tras cada dilución) al tubo rotulado con 10^{-2} , luego del tubo 10^{-2} se transfiere a 10^{-3} , y así sucesivamente hasta el rotulado con 10^{-6} .

Para efectuar la siembra, la misma se llevó a cabo en las respectivas placas (medios de cultivo previamente preparados y otros adquiridos ya hidratados) por superficie transfiriéndose con ayuda de una pipeta 0,1 ml (100 μ l) de las diluciones 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} (de la más diluida a la más concentrada), para el caso de las bacterias, estas placas son incubadas a 37° C, y los hongos y las

levaduras a temperatura ambiente. Se realizaron los recuentos de las placas de las siembras realizadas a las 24h, 48h y 8 días (de acuerdo con el tiempo estipulado de cada medio). De este modo, se sacan de la incubadora, se revisa si hay presencia de contaminantes, se señalan las colonias y se lleva a cabo la respectiva descripción morfológica de las colonias. Todos estos procedimientos se realizaron en la cabina de flujo laminar para garantizar un ambiente aséptico. En este orden de ideas se implementaron los siguientes recuentos:

3.13.1. Recuento de mohos y levaduras

Para realizar el recuento de mohos y levaduras se utilizó el medio de cultivo agar dextrosa de patata (PDA) (adaptado de Leonarski et al., 2021), se aplicó con el fin de aislar hongos de una muestra de cada tratamiento de la bebida y así descartar la existencia de contaminantes bacterianos. Las placas fueron almacenadas a temperatura ambiente (20°C a 25° C) y observadas a los 8 días después tras la siembra, en este caso, el medio fue adquirido ya hidratado por parte de MICROGEN LTDA.

3.13.2. Recuento de aerobios mesófilos

Se realizó el recuento de aerobios mesófilos en agar nutritivo (como reemplazo de PCA); debido a la productividad que está presente. De acuerdo con Cultimed (2003) está basada en el elevado contenido nutricional de sus elementos, de esta manera favorece el incremento de gran parte de los microorganismos, sin necesitar otros aditivos. Las placas fueron incubadas a una temperatura de 37° C y observadas a las 24 horas, en este caso, el medio fue adquirido ya hidratado por parte del laboratorio de Microbiología y Genética LTDA (MICROGEN LTDA).

3.13.3. Recuento de coliformes totales

El recuento de coliformes totales se efectuó en el fundamento del agar macconkey, el cual es utilizado para aislar y diferenciar los bacilos gram negativos fermentadores y no fermentadores de lactosa, de acuerdo con Cultimed (2003) las bacterias capaces de fermentar la lactosa acidifican el medio conformando colonias rojas o rosadas, mientras las bacterias lactosa-negativas proporcionan colonias incoloras. Para realizar este recuento la muestra de la bebida se deberá sembrar directamente en superficie. Las placas fueron incubadas a una temperatura de 37° C y observadas a las 24h y 48h, en este caso, el medio fue adquirido ya hidratado por parte de MICROGEN LTDA.

3.13.4. Recuento de *staphylococcus aureus*

Para realizar el recuento de *Staphylococcus aureus* se empleó el agar manitol rojo de fenol, es un medio de cultivo que permite el crecimiento de bacterias Gram-positivas mientras inhibe el crecimiento de Gram-negativas. El manitol Salt Agar, es un medio diferencial y selectivo para el aislamiento y enumeración de *Staphylococcus spp.* de muestras clínicas y no clínicas, en base a su capacidad de fermentar o no el manitol (Britanialab, 2021) se empleó con una incubación a 25 ° C (temperatura ambiente) durante 8 días.

3.13.5. Recuento de probióticos

El recuento de probióticos se efectuó por medio del agar MRS (agar De Man, Rogosa y Sharpe); este medio se emplea para el cultivo y recuento de Lactobacilos en productos alimenticios (Cultimed, 2003). Las placas fueron almacenadas a temperatura ambiente (20°C a 25° C) y observadas a las 48 horas, adicionalmente, se hizo una verificación 8 días después tras la siembra, en este caso, el medio de cultivo fue preparado, esterilizado en la autoclave y servido en la cabina de flujo laminar en el laboratorio de microbiología de la facultad de ciencias exactas y naturales de la Universidad Surcolombiana en Neiva, Huila.

Finalmente, en el anexo E se observan los certificados de análisis (COA) expedidos por MICROGEN LTDA y en el anexo F se observan en su totalidad los medios de cultivo junto con su respectivo fundamento.

3.13.6. Identificación de microorganismos

Para determinar los microorganismos presentes en la bebida de kombucha se realizó tinción Gram en las colonias seleccionadas, con el fin de distinguir las bacterias gram positivas y gram negativas, para ello primero se tomó una muestra de cada colonia con ayuda de un asa curva estéril, se extiende la muestra sobre un portaobjetos dejándolo secar para luego fijar la mediante un alcohol y aplicar el Cristal violeta sobre el portaobjetos dejándolo reposar por un minuto, después se procederá a realizar un lavado con etanol que arrastrará el colorante solamente en las Gram negativas, mientras que en las Gram positivas el colorante quedará retenido y las células permanecerán azules. Las células Gram (-) se teñirán después con un colorante de contraste (safranina) para que logren observarse (Rodríguez y Arenas, 2018). Adicionalmente, se efectuó la prueba de catalasa a cada colonia en una lámina, en este caso la colonia se extrae y extiende con un palillo con el fin de evitar errores de medición.

3.14. Estudio de Mercado

La investigación de mercado ayuda a conocer las intenciones de compra de los consumidores y da retroalimentación acerca del crecimiento del mercado al que se pertenece. Se efectuó un estudio de mercado de modo tal que la investigación arrojó datos relevantes para entender mejor el panorama comercial al que se enfrenta este tipo de bebida, puesto que se trata de un producto posible y aparentemente nuevo para la población en general. A modo de análisis se abordaron los siguientes ítems:

- ❖ Investigación del mercado: Involucra el estudio de la encuesta tipo, ficha técnica, resultados gráficos y conclusiones.
- ❖ Análisis de la oferta: Contiene la identificación de la oferta, debilidades y fortalezas de la competencia y participación de la competencia en el mercado.
- ❖ Análisis de la demanda: Abarca la segmentación, el tamaño del mercado, el consumo aparente, la demanda potencial y la participación deseada del mercado.
- ❖ Análisis de la competencia: menciona las marcas que se distribuyen y que cuentan con el registro INVIMA en Colombia.
- ❖ Mercado de materia prima, insumos y proveedores: Abarca la estructura del mercado y los proveedores y precios.

- ❖ Mezcla de marketing: Involucra el producto, el precio, plaza y post venta.

El instrumento realizado se presenta en el anexo G, es una encuesta aplicada de forma magnética por medio de Google Forms. El cuestionario consta de 15 preguntas, de las cuales trece son destinadas a evaluar la viabilidad económica y comercial del producto: kombucha de cholupa. Esta encuesta tiene como objetivo principal explorar y describir la percepción de un grupo de encuestados, obteniendo las diferentes opiniones, actitudes, motivaciones o sentimientos de posibles consumidores del producto. Para un nivel de seguridad del 90% se requiere encuestar a no menos de 106 personas (ver anexo H).

3.15. Análisis estadístico de datos

Para el análisis estadístico de datos se emplearon los siguientes programas informáticos: Statgraphics centurión XVI.I y la herramienta Microsoft Excel desarrollada para Windows. Se efectuó un análisis de varianza simple (ANOVA) y conjuntamente la prueba de rangos múltiples de HSD Tukey (prueba de comparación múltiple) con un nivel de significancia $p < 0,05$ y utilizando un diseño completamente al azar para los resultados de los 6 tratamientos abordados. Tal es el caso de los resultados de las propiedades fisicoquímicas de los tratamientos (fases y vida útil) y los resultados de las pruebas sensoriales (analítica y hedónica).

El fundamento consiste en comprobar por la prueba ANOVA si existe alguna diferencia significativa entre medias y en caso afirmativo con la prueba de Tukey identificar las medias que son estadísticamente diferentes.

Hipótesis global:

Ho: Hipótesis nula: Las medias de los tratamientos son iguales

H1: Hipótesis alterna: Algún par de medias de los tratamientos difieren.

De manera simbólica se muestra como:

Ho: Hipótesis nula: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu$

H1: Hipótesis alterna: $\mu_i \neq \mu_j$

Para el estudio de mercado se determinó la confiabilidad del instrumento por medio del coeficiente alfa de Cronbach, dando fiabilidad a la recolección de la información. Así mismo, se realizó un análisis descriptivo básico con los datos obtenidos.

3.16. Análisis de la vida útil, seguridad y calidad

Se comparó a cada uno de los tratamientos de acuerdo con el monitoreo realizado hasta transcurrir 90 días, evaluando las propiedades fisicoquímicas de los mismos a los tres meses de refrigeración.

3.17. Presupuesto de la investigación

Se realizó un análisis de precio y calidad de acuerdo con los posibles proveedores para la producción de la bebida, obteniendo de esta forma el presupuesto de la investigación de acuerdo con los proveedores seleccionados.

3.18. Planeación y control de producción (PCP)

Con el fin de planificar, distribuir y controlar cada uno de los pasos de la cadena productiva, se realizó la planificación y el control de la producción para el producto en específico (Kombucha de cholupa).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La investigación arrojó resultados cuantitativos, ya que se realizó constantemente un análisis de laboratorio para determinar respuestas experimentales medibles durante la fermentación como: pH, sólidos solubles, acidez titulable y grados de alcohol. De igual forma, tras terminar el proceso fermentativo (producto terminado) se aplicaron pruebas para conocer su seguridad y calidad alimentaria, sin ignorar sus características sensoriales y el estudio de mercado con el fin de estudiar su viabilidad. En el anexo I se presenta la normatividad aplicable al producto.

4.1. Caracterización de la materia prima

La caracterización de la materia prima en su totalidad de forma descriptiva de acuerdo con el proveedor se encuentra en el anexo J. A continuación, se muestra específicamente la composición del SCOBY según la ficha técnica, y los resultados de los parámetros fisicoquímicos de la cholupa (*Passiflora maliformis* L.).

Tabla 5
Composición de SCOBY

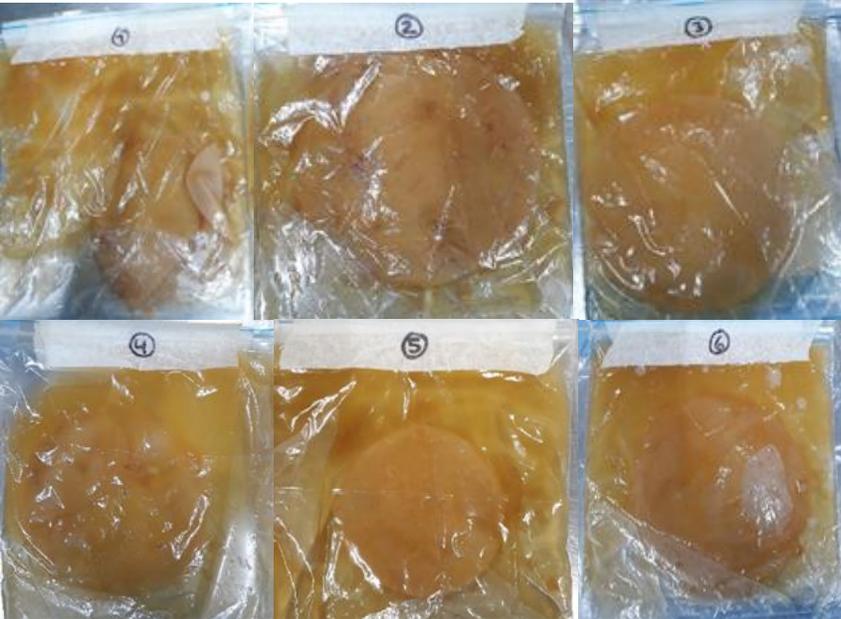
Imágenes	Composición
	<p>49% de <i>Saccharomyces boulardii</i> (levadura) y 49% <i>Gluconacetobacter</i> (bacteria).</p> <p>Otras posibles levaduras: <i>Saccharomyces</i>, <i>Saccharomycodes</i>, <i>Candida</i>, <i>Torulospora</i>, <i>Koleckera</i>, <i>Pichia</i>, <i>Micotorula</i> y <i>Micoderma</i>.</p> <p>Otras posibles bacterias: <i>Acetobacter</i> y <i>Lactobacilo</i>.</p>

Tabla 6
Caracterización fisicoquímica del jugo de Cholupa

Jugo de cholupa	pH	Sólidos solubles (° Brix)	Acidez titulable (A. cítrico)
	3,310±0,005	12,100±0,346	2,278

Nota. Los valores se presentan como media ± desviación estándar (n = 3).

En la Tabla 5 se registra la información correspondiente a la composición del SCOBY suministrada por el proveedor Kombucha La Jaguará. Así mismo, en la Tabla 6 se muestra la caracterización fisicoquímica del jugo de cholupa (requerido para la segunda fase de fermentación), dichos parámetros se encuentran en el rango suministrado por la Resolución 43536 de 2007 y cumple la NTC 5468 de 2012.

4.2. Análisis fisicoquímico

El tiempo de fermentación por lo general está influenciado por la temperatura y la cantidad de cultivo utilizado para los ingredientes, así como la forma del recipiente. En esta investigación se evaluó el tiempo de fermentación en días de la bebida con cada tratamiento realizado. De acuerdo con Chakravorty et al. y Jayabalan et al. (2019 & 2017) el proceso de fermentación de la kombucha en la primera fermentación dura entre 8 a 14 días a temperatura ambiente, donde las propiedades de esta pueden cambiar considerablemente. Por otra parte, siguiendo lo propuesto por los autores tras la adición de fruta y la kombucha ya embotellada, debe permanecer a temperatura ambiente por 3 días. En cuanto a la temperatura de fermentación, la misma suele oscilar entre 22 °C a 32 °C (KBI, 2022), mientras que Laureys et al. (2020) recomienda un rango entre 18 °C a 28 °C.

Como resultado en la presente investigación la primera fase de fermentación de los tratamientos de estudio fue de 13 días a temperatura ambiente de laboratorio en Neiva, Huila (aproximadamente 26 °C), la segunda fase tuvo una duración total de 4 días (a la misma temperatura), inmediatamente fue refrigerada (a una temperatura aproximada de 4 °C) por 4 días, envasada (200 ml por botella) y dividida de acuerdo con las pruebas a aplicar (incluida vida útil). En ese orden de ideas durante el proceso fermentativo se logró estudiar la bebida para los siguientes días: 3, 5, 7, 13, 17, 21 y 90.

4.2.1. pH

El nivel de pH de la kombucha se conoce que es ácido, está entre 2,3 y 3,8 (KBI, 2022). Ahora bien, los valores de pH seguros para el consumo humano van de 2,5 a 4,2 (Nunmer, 2013). De acuerdo con el modelo del Código Alimentario de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), el pH de las kombuchas comerciales debe estar en el rango de $2.5 \leq \text{pH} < 4$. Principalmente se debe a que los valores por debajo de pH 2,5 tienen una alta concentración de ácido acético, lo que representa un riesgo para la salud de los consumidores. Asimismo, valores de pH >4,2 pueden comprometer la seguridad microbiológica de la bebida (Cardoso et al., 2020).

A partir de la tabla 7 se observan los resultados de pH obtenidos, de los mismos es posible afirmar que los tratamientos: 2, 3, 4 y 5 cumplen con el nivel de pH recomendado por la KBI (4,5 o inferior después de agregar líquido iniciador y/o SCOBY). Sin embargo, T1 y T6 no cumplen solo por una diferencia decimal mínima. Así mismo, tras el envasado se puede observar que todos los tratamientos se encuentran dentro del rango permitido de acuerdo con el código de práctica de kombucha (2022). A su vez, se observa que transcurridos 90 días (tres meses) el pH sigue encontrándose dentro del rango permitido y mayor a 2,5 (valor seguro para el consumo humano).

En la tabla 7 también se observan diferencias estadísticamente significativas entre las medias de acuerdo con el efecto que tiene el tiempo de fermentación y el efecto de los tratamientos en cada caso, los grupos a los que pertenecen los resultados de pH se muestran por letras minúsculas y mayúsculas respectivamente. En el caso del T1 las medias no son estadísticamente diferentes en el tiempo 5-17, este mismo comportamiento se observó en el T2, estos dos tiempos

representan la segunda medición tras iniciar la primera y segunda fase de fermentación consecutivamente. En el caso del T3 no se observaron diferencias significativas entre el tiempo 13-21, para el T5 entre 5-7, y finalmente para el T6 no hay diferencias entre los tiempos: 5-7 y 17-21. Por tratamientos, se evidenció en el tiempo 3 que T1-T6 no presentan diferencias estadísticamente significativas, de igual forma, T2-T5. Para el tiempo 5, los T3-T4 no presentan diferencias, en el tiempo 7 esto no ocurre con los tratamientos (todos los niveles son estadísticamente diferentes), en el día 13; T1, T2 y T3 no presentan diferencias, de igual forma, para el 17, el único tratamiento que no es similar a otro es el T2, esto mismo se presenta el día 21 con el T6 y finalmente, para la vida útil se evidencia que el T6 presenta diferencias estadísticamente significativas en comparación con los otros tratamientos, teniendo el valor de pH más alto.

Tabla 7

Resultados experimentales de pH a través del tiempo de fermentación

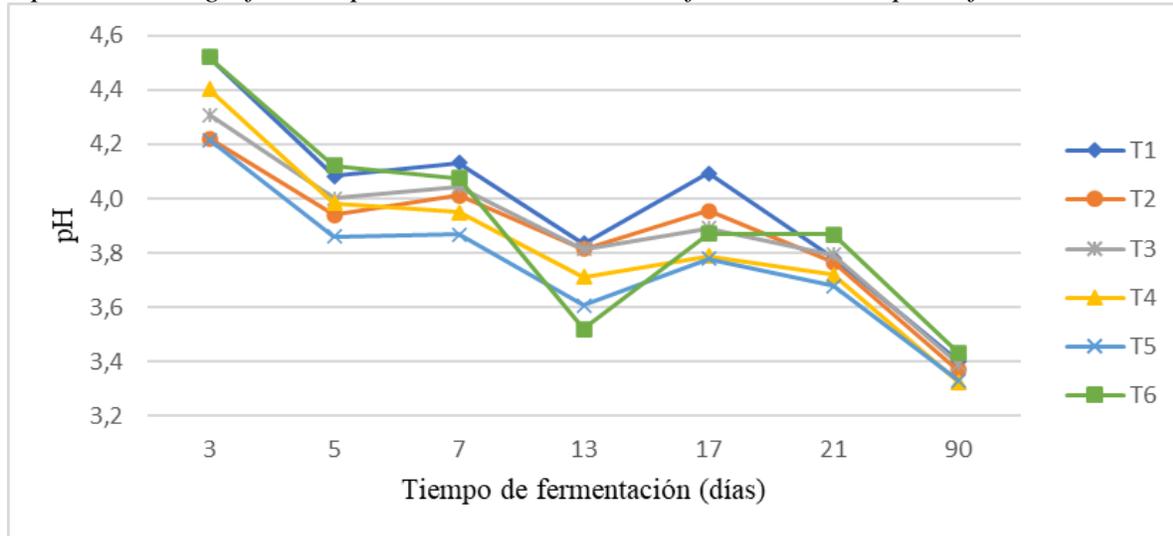
Tratamiento	Tiempo de fermentación						
	1 fase			2 fase			Vida útil
	3	5	7	13	17	21	90
T1	4,520±	4,083±	4,131±	3,835±	4,093±	3,782±	3,403±
	0,008fD	0,016dD	0,001eF	0,003cD	0,008dD	0,020bC	0,012aC
T2	4,221±	3,940±	4,011±	3,815±	3,954±	3,766±	3,369±
	0,002fA	0,006dB	0,009eC	0,016cD	0,010dC	0,009bBC	0,010aB
T3	4,309±	4,001±	4,044±	3,814±	3,891±	3,795±	3,392±
	0,003fB	0,004dC	0,001eD	0,013bD	0,014cBC	0,030bC	0,008aBC
T4	4,403±	3,984±	3,950±	3,712±	3,789±	3,720±	3,327±
	0,004eC	0,020dC	0,008dB	0,014bC	0,019cA	0,010bAB	0,014aA
T5	4,217±	3,859±	3,867±	3,608±	3,778±	3,678±	3,330±
	0,006fA	0,012eA	0,008eA	0,008bB	0,003dA	0,013cA	0,006aA
T6	4,519±	4,122±	4,076±	3,520±	3,872±	3,867±	3,434±
	0,009eD	0,003dE	0,005dE	0,035bA	0,051cB	0,025cD	0,013aD

Nota. Los valores se presentan como media \pm desviación estándar ($n = 3$). Las letras minúsculas representan el efecto del tiempo de fermentación (filas). Las letras mayúsculas representan el efecto de los tratamientos (columnas). Letras diferentes indican una diferencia significativa ($\alpha = 0.05$).

Ahora bien, en la figura 3 se observa el comportamiento gráfico del pH, permitiendo observar que el comportamiento de cada uno de los tratamientos fue similar, incluso los valores de estos.

Figura 3

Representación gráfica del pH de los tratamientos en función del tiempo de fermentación



Por consiguiente, los resultados en promedio de los tratamientos abordados no son estadísticamente diferentes. Además, la gráfica muestra cómo a medida que avanza el tiempo disminuye el valor del pH (a excepción del tiempo 17 que aumenta debido a la adición de jugo de Cholupa para la segunda fase de fermentación). Esta disminución se atribuye principalmente a la producción de ácidos orgánicos a partir de la fermentación, pero la adición de frutas ácidas también puede contribuir a una reducción del pH (Silva Júnior et al., 2021). De este modo, de acuerdo con los valores obtenidos de pH, los tratamientos entre sí no presentan diferencias estadísticamente significativas.

4.2.2. Sólidos solubles expresados en °Brix

El contenido de sólidos solubles disminuye durante el almacenamiento, con valores menos expresivos en la kombucha tradicional (Silva Júnior et al., 2021). El DUS 2037 de 2018 indica un máximo de azúcares totales por inversión de 50 g/L.

En la tabla 8, se puede observar que la cantidad normativa en cada uno de los tratamientos se cumple, así mismo, se evidencian las diferencias estadísticamente significativas según el efecto del tiempo de fermentación entre cada tratamiento y el efecto de los tratamientos en cada día de fermentación. Para el caso del T1 en el tiempo 21-90 no hay diferencias estadísticamente significativas, este comportamiento presente en el tiempo de envasado y el analizado para su vida útil teórica es igual para el T3, T4, T5 y T6. Para el T2 hay diferencias estadísticamente significativas por el tiempo de fermentación en todos los lapsos estudiados, mientras, los tiempos 5, 7 y 17 en el tratamiento 3 no presentan diferencias estadísticamente significativas, de la misma forma ocurre con el tiempo 7-17 en el T4, 13-17 y los tiempos ya nombrados (21 y 90) junto al tiempo 7 para T5, y finalmente, el tiempo 7-13 para el T6. Efectuando un análisis de acuerdo con el total de sólidos solubles en la kombucha se observa claramente que la fermentación no está completa en su totalidad (°brix distintos a 0), de tal modo se suele consumir la kombucha, por lo cual, se comprueba que la kombucha está terminada y en su estado para ser consumida.

Tabla 8*Resultados experimentales de °brix a través del tiempo de fermentación*

Tratamiento	Tiempo de fermentación						Vida útil
	1 fase			2 fase			
	3	5	7	13	17	21	
T1	7,033±	4,133±	2,633±	2,400±	2,900±	3,433±	3,300±
	0,058fD	0,058eD	0,058bA	0,000aB	0,000cA	0,058dB	0,100dB
T2	5,167±	2,900±	2,600±	2,167±	3,200±	4,433±	3,733±
	0,058gA	0,100cA	0,000bA	0,058aA	0,100dB	0,153fD	0,058eC
T3	7,600±	3,367±	3,300±	2,733±	3,300±	4,067±	4,033±
	0,000dE	0,153bB	0,000bB	0,115aC	0,100bBC	0,058cC	0,058cD
T4	6,767±	4,500±	3,467±	2,867±	3,333±	4,067±	3,967±
	0,153eC	0,000dE	0,153bB	0,058aC	0,058bBC	0,058cC	0,058cD
T5	7,000±	5,407±	4,333±	3,300±	3,433±	4,333±	4,300±
	0,000dCD	0,006cF	0,058bC	0,000aD	0,058aC	0,058bD	0,100bE
T6	6,333±	3,733±	3,400±	3,500±	2,967±	2,533±	2,600±
	0,153eB	0,058dC	0,000cB	0,000cE	0,058bA	0,058aA	0,100aA

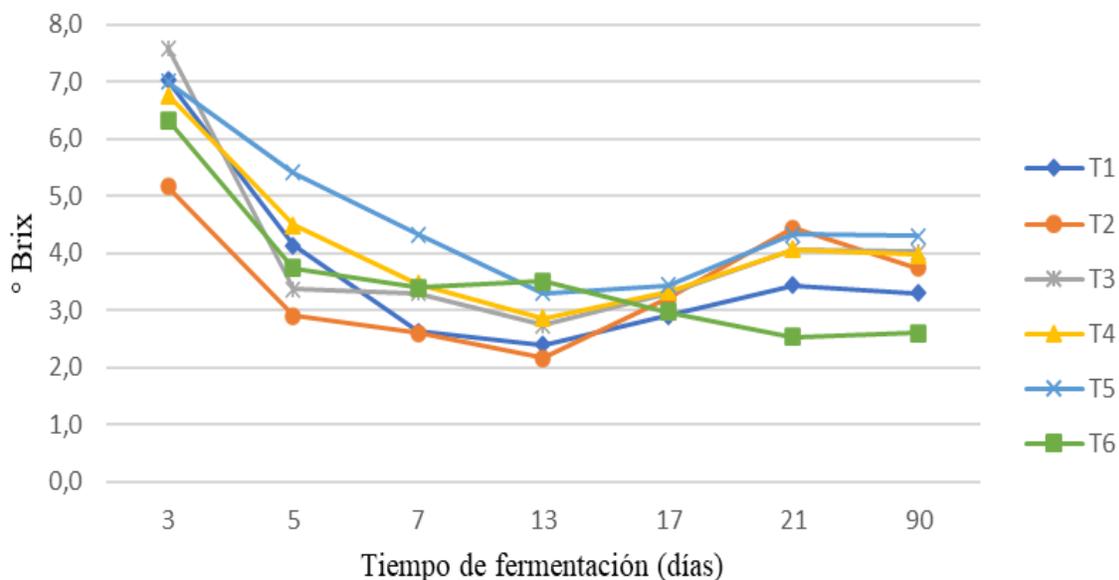
Nota. Los valores se presentan como media \pm desviación estándar ($n = 3$). Las letras minúsculas representan el efecto del tiempo de fermentación (filas). Las letras mayúsculas representan el efecto de los tratamientos (columnas). Letras diferentes indican una diferencia estadísticamente significativa ($\alpha = 0.05$).

Por otro lado, entre los tratamientos se observan también diferencias estadísticamente significativas entre las medias, específicamente en el tiempo 3 el T4-T5 y T1-T5 no presentan diferencias; para el tiempo 5 todos los tratamientos son diferentes, mientras en el tiempo 7, los T1-T2 y los T3, T4 y T6 no presentan diferencias estadísticamente diferentes entre sí respectivamente, en el tiempo 13 no hay diferencias entre T3-T4, en el tiempo 17 al menos uno de los tratamientos no es estadísticamente diferente a otro, para el día 21 el T1 y T6 son los únicos que son estadísticamente diferentes entre el total de los mismos, y, a los 90 días no presentan diferencias los T2-T3.

De forma general, en la figura 4 se puede observar gráficamente el comportamiento de los tratamientos en función del tiempo transcurrido de fermentación, se afirma que los sólidos solubles están relacionados con el contenido de azúcares en el medio que se reducen con el tiempo de fermentación, ya que los microorganismos utilizan estos compuestos como sustratos energéticos (Chakravorty et al., 2016), comportamiento observado en la mayoría de los tratamientos de la presente investigación, de igual forma Silva Junior et al. (2021) identificaron esta reducción de azúcares (glucosa y fructosa) en todas las bebidas que evaluaron, aun así, en este caso se visualiza al T6 con un comportamiento distinto al de los demás, en el tiempo 7 a 13 no disminuye como normalmente ocurre debido al consumo de azúcar, además, tras adicionar el jugo de cholupa los °Brix no aumentan sino que continúan disminuyendo. Probablemente se deba a la composición de microorganismos en el tratamiento.

Figura 4

Representación gráfica de Sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix) de los tratamientos en función del tiempo de fermentación



Finalmente, se puede evidenciar que el tratamiento 2 alcanzó la mayor cantidad de sólidos solubles: $4,433 \pm 0,153fD$, continuando el tratamiento 5 con $4,333 \pm 0,058bD$, no obstante, a los 90 días en el primer caso los mismos disminuyen a $3,733 \pm 0,058eC$, y en el segundo a $4,300 \pm 0,100bE$, por lo cual, el T5 muestra mayor estabilidad frente al T2. De acuerdo con la prueba experimental de Aung & Eun (2021) los valores del contenido de sólidos solubles totales ($^{\circ}$ Brix) pueden disminuir del rango de 5,37 a 6,30 en 0 días al rango de 6,20 a 3,83 en 14 días para todas las bebidas fermentadas de kombucha.

4.2.3. Acidez titulable

Los ácidos orgánicos son los principales responsables de aumentar la acidez titulable total de las kombuchas (Vitas et al., 2018). En esta investigación el resultado se expresa como el % de ácido acético. De acuerdo con el DUS 2037 de 2018 la misma debe ser igual a 2, mientras, el código de prácticas de kombucha reporta un rango de 0.27-2.03%; en este caso, todos los tratamientos cumplen con el parámetro requerido, sin embargo, al transcurrir tres meses de elaboración de la bebida solamente el T1 y T2 cumplen con dicho parámetro.

Ahora bien, debido a la cantidad de datos no se realizó un análisis estadístico de cada resultado para evaluar el efecto del tiempo de fermentación y el efecto de los tratamientos. Por lo cual, se realizó dicho análisis solamente con el total de los datos recolectados por cada tratamiento. A partir del mismo, se encontró que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las muestras (tabla 9).

Tabla 9

Resultados experimentales de acidez titulable a través del tiempo de fermentación

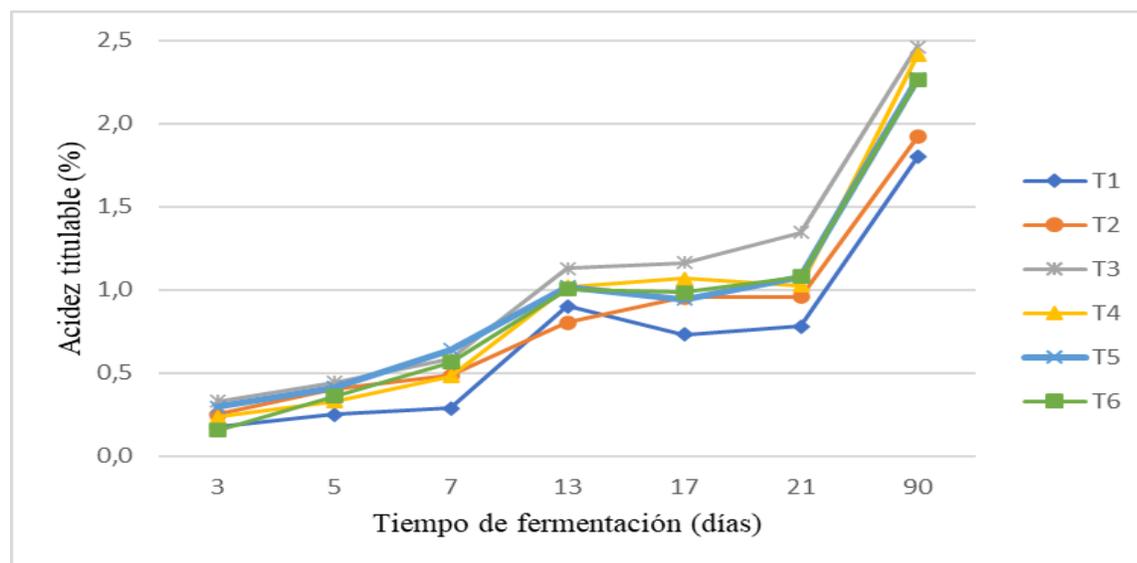
Tratamiento	Tiempo de fermentación							Total
	1 fase			2 fase			Vida útil	
	3	5	7	13	17	21	90	$\bar{X} \pm S$
T1	0,17	0,25	0,29	0,90	0,73	0,78	1,802	0,703±0,565
T2	0,25	0,40	0,49	0,80	0,95	0,96	1,922	0,825±0,557
T3	0,33	0,44	0,58	1,13	1,17	1,35	2,462	1,066±0,732
T4	0,23	0,33	0,48	1,02	1,07	1,03	2,414	0,939±0,741
T5	0,29	0,41	0,64	1,02	0,94	1,08	2,270	0,950±0,657
T6	0,16	0,36	0,56	1,00	0,98	1,08	2,264	0,915±0,691

Nota. Los valores totales se presentan como media \pm desviación estándar (n = 7).

De igual forma, en la figura 5 se puede observar la representación del comportamiento de la acidez titulable como porcentaje de ácido acético, en la cual se evidencia el comportamiento similar entre los tratamientos, aun así, en el caso del T1, T5 y T6 hay una disminución de esta en el lapso del tiempo 13 al 17 (adicción de pulpa de fruta), de forma contraria, en el T2, T3 y T4 en dicho tiempo, la acidez de los tratamientos aumentó (aunque no considerablemente). Finalmente, de forma general el T1 tuvo una acidez titulable menor a lo largo del tiempo de fermentación $0,703 \pm 0,565$ y el T3 mostró una cantidad de acidez mayor respecto a los demás tratamientos $1,066 \pm 0,732$.

Figura 5

Representación gráfica de acidez titulable de los tratamientos en función del tiempo de fermentación



Jayabalan et al. (2014) indica que la sacarosa es hidrolizada en glucosa y fructosa, a partir de estos monosacáridos, las levaduras producen etanol; mientras que las bacterias utilizan la glucosa para producir ácido glucónico, y el etanol para producir ácido acético. Por lo cual, tiene una relación directa el contenido de sacarosa y la acidez total; en estudios como el de Bueno Rojas

(2022) la bebida preparada con adición de pulpa muestra una acidez más alta en comparación con las bebidas tradicionales (solamente té negro y té verde). De forma similar lo reporta Silva Júnior et al. (2021) en su estudio, citando comportamientos similares, ya que, de acuerdo con los autores, se observó un aumento en la acidez en estudios con fruta de serpiente (*Salaca zalacca* (Gaerth.) Voss) por parte de Zubidah et al. (2018), jugo de uva (*Vitis vinifera*) por parte de Ayed et al. (2017) y gojiberry rojo y negro por parte de Abuduaibifu & Tamer (2019).

4.2.4. Porcentaje de alcohol

Según el Decreto 1686 de 2012 el alcohol se define como el etanol o alcohol etílico procedente de la destilación de la fermentación alcohólica de mostos adecuados. Este mismo decreto define una bebida alcohólica como un producto apto para consumo humano que contiene una concentración no inferior a 2,5 grados alcoholimétricos y no tiene indicaciones terapéuticas. Respecto al DUS 2038 de 2018 y el código de prácticas de kombucha, los primeros arrojan dos cantidades permitidas para la kombucha de acuerdo con su normatividad aplicable, 0,5% para una kombucha no alcohólica y un rango de 0,5 a 15 para una kombucha alcohólica, mientras el segundo registra un rango de 0 a 3,2% de alcohol por volumen (ABV), indicando que estos valores corresponden a la cantidad producida naturalmente en la bebida. Por otro lado, Laureys et al. (2020) ha informado que las concentraciones finales de alcohol son de alrededor de 10 g/L de etanol.

Como se puede observar en la tabla 10, los grados de alcohol corresponden al grado propuesto por la KBI, estos mismos no muestran diferencias estadísticamente significativas, ya que todos los tratamientos a excepción del T4 tienen 0,4° de etanol, lo cual indica a su vez que efectivamente la kombucha es una bebida no alcohólica, además, dichas cantidades guardan relación con las reportadas por distintos autores. Bueno Rojas (2022) determinó el contenido de etanol de varias muestras de kombucha, las cuales mostraron un comportamiento similar con valores entre 1.38 y 2.61 %, Granda Castro y Estupiñán Huila (2019) indican que usualmente el contenido de alcohol no supera los 0,5%, aunque según citan los autores, se han presentado casos excepcionales donde la fermentación ha continuado provocando un alza en estos niveles, por esto se deben tomar medidas preventivas con mujeres embarazadas, alcohólicos, personas que no puedan beber alcohol por problemas de salud y niños (Murphy et al., 2018).

Tabla 10

Resultados experimentales de porcentaje de alcohol por botella de kombucha

Tratamiento	Grado de alcohol por volumen destilado	Grados de alcohol por botella	Grados de Gay Lussac
T1	0,650±0,212	0,433	0,4°
T2	0,633±0,141	0,422	0,4°
T3	0,633±0,047	0,422	0,4°
T4	0,433±0,047	0,289	0,3°
T5	0,567±0,047	0,378	0,4°
T6	0,617±0,024	0,411	0,4°

Nota. Los valores totales se presentan como media ± desviación estándar (n = 3).

De igual forma, en el estudio de Morales (2014) no se evidencio alcohol (0) en las muestras, cualidad atribuida principalmente a los taninos que inhiben parcialmente la fermentación

alcohólica y la poca cantidad de etanol generado es oxidado por las bacterias acéticas (*Acetobacter*) a ácido acético. El autor afirma que este elevado contenido en taninos es el diferencial de la fermentación del té con las otras hierbas o extractos frutales (tés de distintos sabores, por ejemplo). Los taninos son llamados también polifenoles, son moléculas grandes y complejas cuyos efectos sobre las membranas mucosas del cuerpo son astringentes y condensantes, además poseen cualidades bactericidas. Los taninos del té inhiben parcialmente el proceso de fermentación, por esta razón el contenido final de alcohol en la bebida es tan bajo. Los tés de hierbas suelen contener una cantidad mayor de aceites volátiles (aceites esenciales) lo cual interfiere con las bacterias del Kombucha, dando como resultado final una bebida de baja calidad.

Por último, es importante mencionar y recalcar que los pequeños rastros de alcohol no provocan intoxicación y se producen de forma natural a través de la fermentación (KBI, 2022), aun así, la producción de bebidas fermentadas no alcohólicas a base de frutos o té se encuentran en desarrollo. En Colombia no existe una norma que englobe a las anteriores bebidas, por lo cual, se suelen tomar parámetros de las bebidas fermentadas con producción alcohólica, denominando de esta forma a la kombucha (a pesar de que teórica y experimentalmente esta definición es errónea).

4.3. Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante fue calculada en dos de las muestras totales de kombucha, debido a que su capacidad antioxidante se les atribuye principalmente a los componentes del té. Siguiendo este orden de ideas, se decidió escoger el T2 y T5 (según sus propiedades fisicoquímicas). Lobo et al. (2017) (como se cita en Fabricio et al., 2022) son unos de los autores que atribuyen la propiedad antioxidante de la kombucha a la infusión de té de *Camelia sinensis* y es una de las características que cataloga a la kombucha como una bebida saludable, ya que el consumo de alimentos ricos en antioxidantes protege al organismo humano de los radicales libres. Así mismo, reporta estudios donde la actividad antioxidante aumenta con el tiempo de fermentación y el cultivo iniciador de kombucha tiene influencia en esta capacidad antioxidante.

A partir de los tratamientos, la capacidad antioxidante según el método DPPH para el T2 fue igual a $45,728 \pm 1,482 \mu\text{mol ET/L}$ y para el T5 fue igual a $55,119 \pm 1,968 \mu\text{mol ET/L}$; por lo tanto, es mayor la capacidad antioxidante en el té verde, al comparar con otros estudios estos resultados son destacables, puesto que en el estudio de Villamar Mota (2021) en Ecuador la capacidad antioxidante según el mismo método (DPPH) mostró 17,5 mg EAA/L y 19,1 mg EAG/L en distintas concentraciones de té negro. No obstante, en el estudio de Fabricio et al. (2022) los resultados son mucho más altos, resultando en $8,22 \pm 0,86 \mu\text{mol ET/ml}$ para té verde y $13,59 \pm 1,43 \mu\text{mol ET/ml}$ para té negro, de este modo, es mayor la capacidad antioxidante en el té negro. Resultado compartido con Cardoso et al. (2020). Contrariamente Bueno Rojas (2022) menciona que las condiciones ácidas no son adecuadas para el ensayo de DPPH, el cuál mostró una estabilidad óptima entre pH 4 y 8 (de acuerdo con Ferri et al., 2013).

La cantidad y composición de polifenoles varía según el tipo de té. Como se citó en Emiljanowicz & Malinowska-Pańczyk (2020) los polifenoles del té verde elaborado son principalmente catequinas, que representan entre el 30 y el 42 % de la masa seca. Los polifenoles del té verde pertenecen a cuatro clases principales: (-)-epicatequina, (-)-galato de epicatequina, (-)-epigalocatequina y (+)-galato de epigalocatequina (Sharma et al., 2018). En el caso del té negro, durante el proceso de producción, estos compuestos se oxidan y dimerizan; por lo tanto, el perfil de polifenoles del té negro es diferente y contiene arubiginas, teaflavinas, flavonoles y catequinas. La concentración de estos últimos componentes es menor que en el té verde (Ozdal et al. 2016);

Sharma et al. 2018 ; Warden et al. 2001). Finalmente, los resultados evidenciados probablemente se deban a que la actividad antioxidante de la kombucha está relacionada con los polifenoles y flavonoides presentes en el té verde y el proceso de fermentación puede aumentar o disminuir esta propiedad debido a la formación o bioconversión de compuestos bioactivos como ácidos orgánicos, minerales y vitaminas hidrosolubles. Además, la variación de los compuestos está fuertemente correlacionada con la cantidad significativa de posibles variables de proceso, como el tipo de té y la comunidad microbiana (Cardoso et al., 2020). Es importante resaltar también que las kombuchas con sabor a frutas muestran una alta actividad antioxidante, premisa resultante del estudio de kombuchas de sabores con pulpas (Silva Júnior et al., 2021).

4.4. Análisis sensorial

El análisis sensorial de los alimentos es un instrumento eficaz para el control de calidad y aceptabilidad de un producto (García Ahued, 2014). Si la bebida se sirve “cruda”, se combinará con bacterias y levaduras saludables. Durante una segunda fermentación corta, se agregan saborizantes que les dan a las bebidas perfiles de sabor únicos (KBI, 2022). El sabor de la bebida es ligeramente ácido y carbonatado, lo que proporciona una mayor aceptación entre los consumidores. Algunos productos metabólicos del cultivo simbiótico de bacterias y levaduras (SCOBY), como el ácido acético y otros ácidos orgánicos, poseen actividad antibacteriana y previenen la contaminación de la bebida por bacterias patógenas (Watawana et al., 2015). Laavanya et al. (2021) lo describe como un agradable sabor afrutado agrio como chispeante debido a la presencia de pocos ácidos orgánicos y al dióxido de carbono liberado durante la fermentación.

A lo largo de la fermentación el sabor de la kombucha varía de un agradable sabor afrutado y ácido después de unos días, a un sabor avinagrado después de un tiempo de fermentación más prolongado, el color del líquido también se aclarará cuanto más tiempo se fermente y algunos productores optan por utilizar sistemas de tanque cerrado y burbujas de aire/oxígeno (KBI,2022).

Para el presente proyecto la prueba analítica aplicada es de análisis discriminativo para saber si hay diferencia entre los tratamientos, de este modo, determinar el efecto de las alteraciones introducidas por la sustitución de un ingrediente por otro. Mientras la prueba hedónica hace parte del análisis afectivo para evaluar de forma subjetiva el producto indicando si le gusta o le disgusta (grado de satisfacción). A continuación, se presenta el significado del tipo de degustación de interés para la investigación de acuerdo con García Ahued (2014)

❖ **Analítica:** Tiene por objetivo separar, ordenar y finalmente dentro de lo posible identificar las impresiones dominantes. Es la interpretación de un conjunto de sensaciones que se perciben simultánea o sucesivamente y requiere un nivel de conocimientos especiales basados en la práctica de degustación.

❖ **Hedónica:** Tiene como objeto el placer de comer o beber, desea extraer la quinta esencia del producto. Se trata de comer o beber de forma inteligente, al aprovechar todo lo que el producto ofrece al catador.

4.4.1. Prueba analítica de los tratamientos

Para esta prueba en específico se aplicó un formato a 12 jueces semi entrenados o de laboratorio (estudiantes pertenecientes al programa de ingeniería agroindustrial), dichos resultados se presentan en la tabla 11.

Como se puede observar en la tabla 11 los factores de calidad no presentan diferencias estadísticamente significativas entre sí, así mismo, los tratamientos T1, T2 y T5 presentan los puntajes más altos en comparación a los demás, incluso 2 de los jueces escribieron como observación que los tratamientos: T1, T2 y T3 muestran características más “dulces”, en cambio los tratamientos: T4, T5 y T6 muestran características más “ácidas”. Así como de manera cualitativa se detalló que aparentemente los tratamientos abordados con té verde presentan mayor producción de gas que los elaborados a partir de té negro.

Tabla 11

Puntajes experimentales de los factores de calidad en los tratamientos estudiados (prueba analítica).

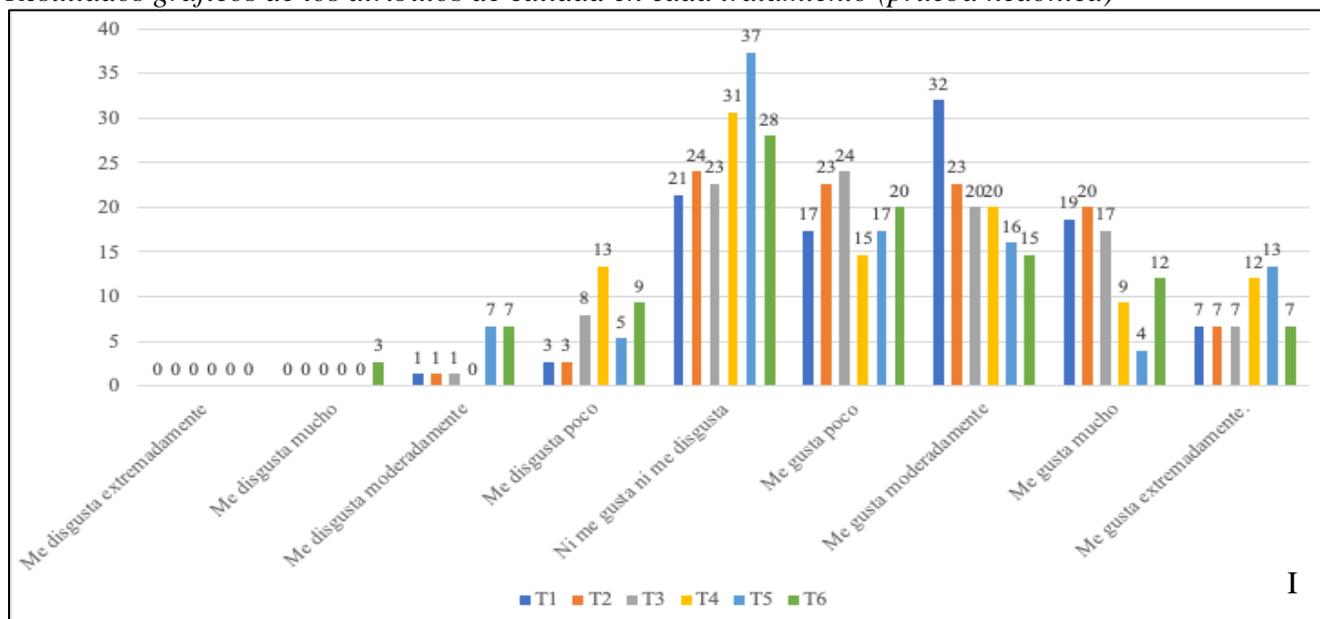
Tratamientos	Factor de calidad				Total
	Color	Aroma y sabor	Ausencia de defectos	Cuerpo y consistencia	
T1	3,833±0,389	7,167±1,193	3,500±0,905	4,000±0,000	18,500±1,382
T2	3,750±0,452	7,250±1,215	3,500±0,905	4,000±0,000	18,500±1,567
T3	3,667±0,492	7,167±1,115	3,500±0,905	3,667±0,492	18,000±1,907
T4	3,500±0,674	6,917±1,443	2,917±1,443	3,667±0,651	17,000±2,523
T5	3,750±0,452	6,833±2,167	3,750±0,622	3,917±0,289	18,250±2,491
T6	3,750±0,452	6,083±2,021	4,000±0,000	3,917±0,289	17,750±2,221

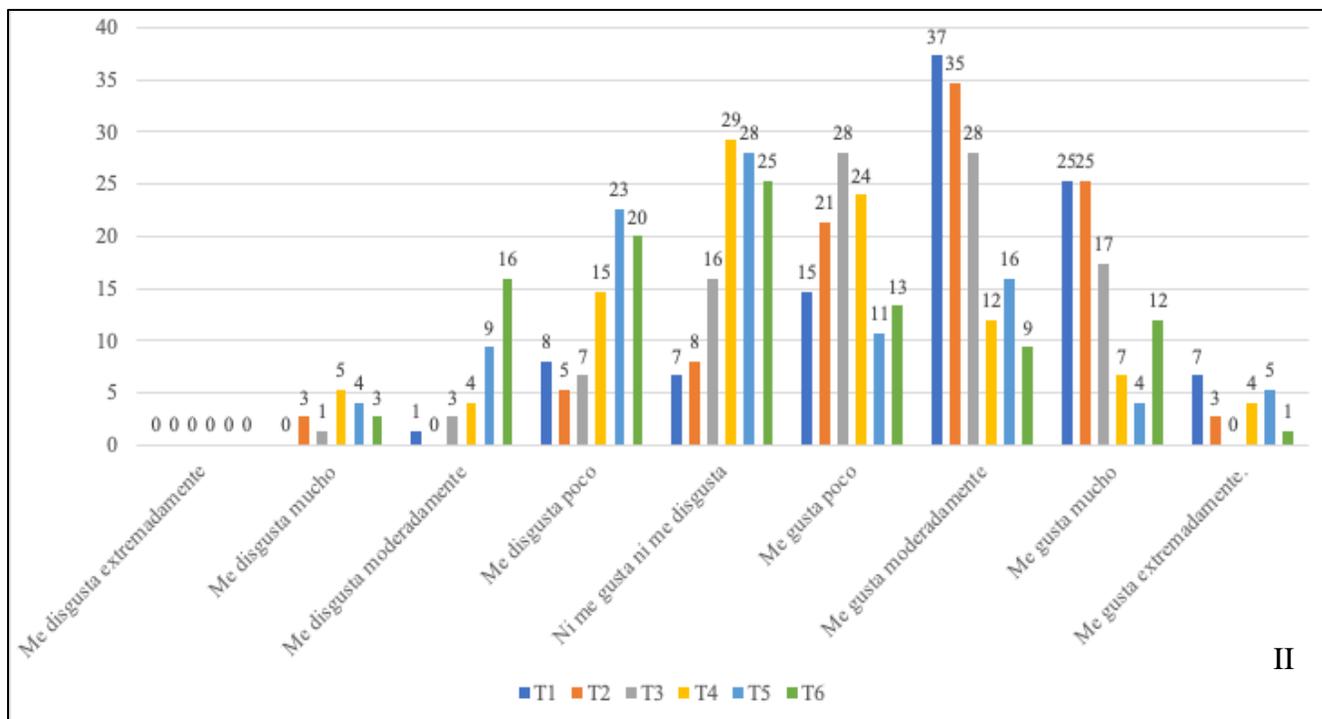
4.4.2. Prueba hedónica de los tratamientos

A continuación, se muestran los gráficos obtenidos a partir de los resultados de 75 jueces no entrenados (estudiantes de la Universidad Surcolombiana y miembros del núcleo familiar) respecto a su grado de satisfacción.

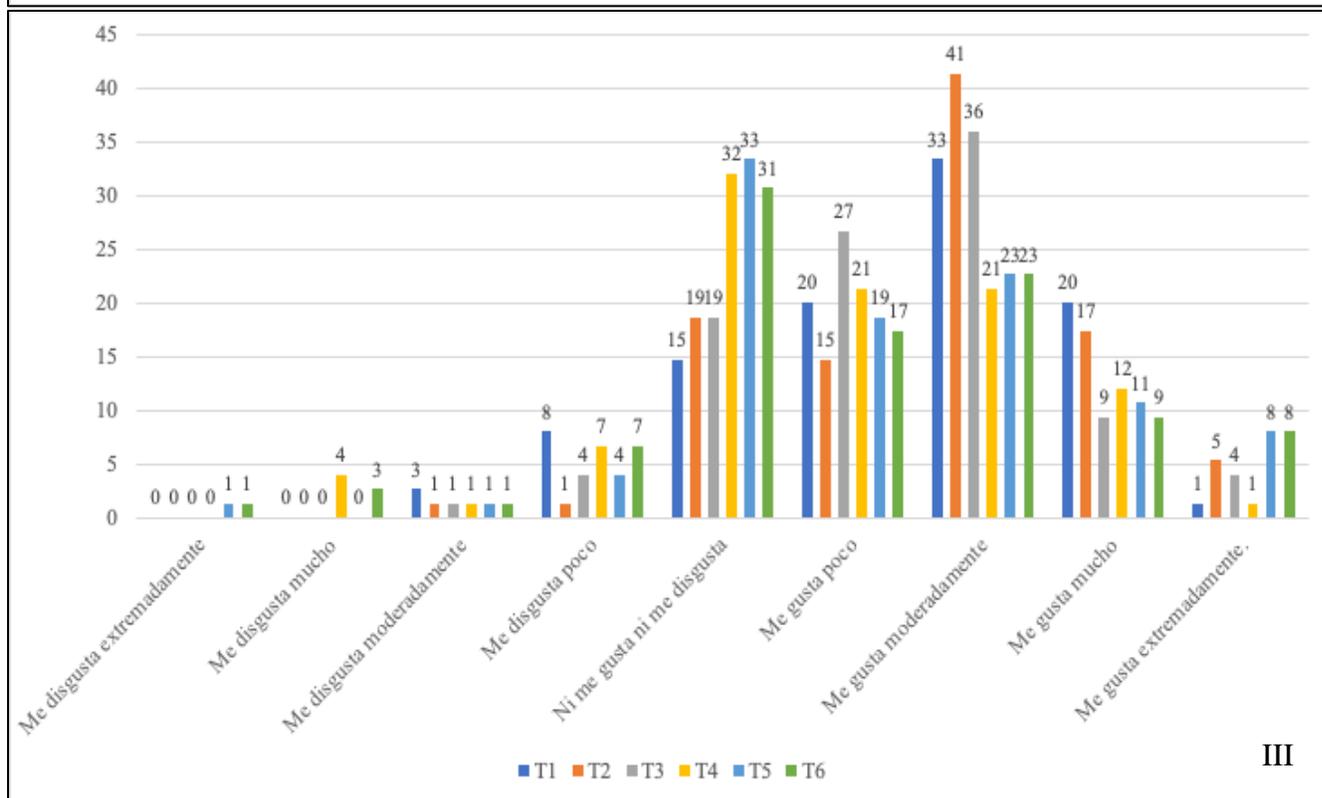
Figura 6

Resultados gráficos de los atributos de calidad en cada tratamiento (prueba hedónica)

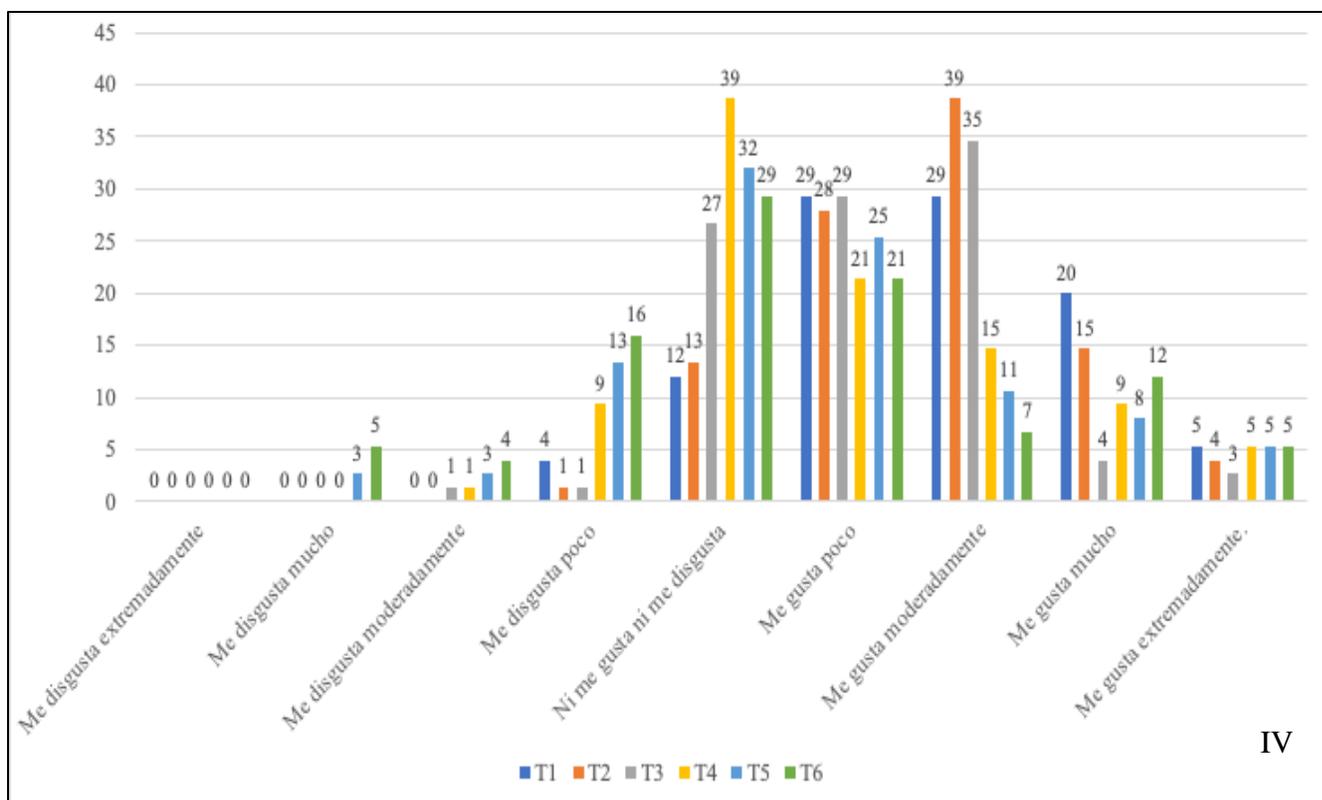




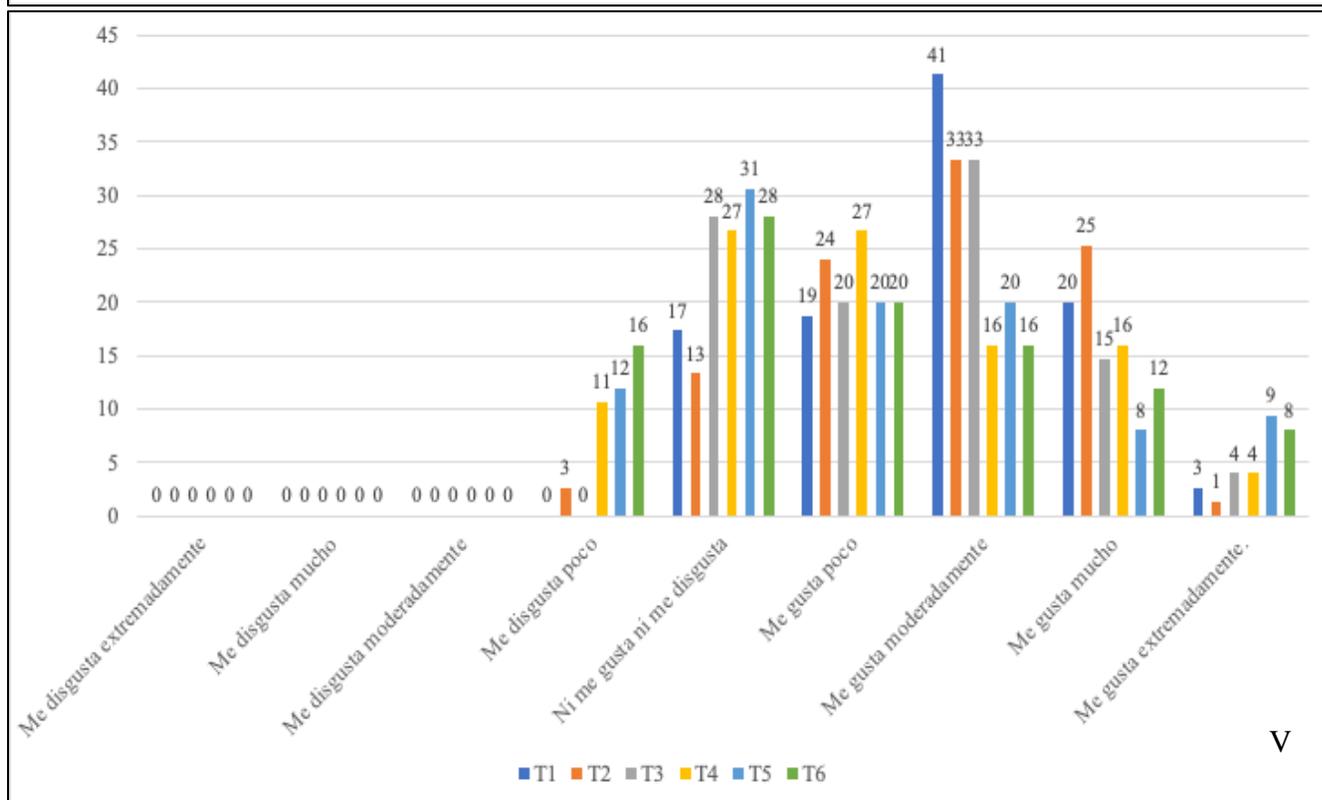
II



III



IV



V

Nota. El I corresponde a color, II: sabor, III: consistencia, IV: a roma y V: apariencia general

En la figura 6 se pueden evidenciar los resultados prácticos al efectuar la prueba hedónica a los jueces no entrenados, por atributos según el grado de satisfacción se obtiene la siguiente información:

- ❖ Color: se puede deducir que la mejor opción para la producción con respecto al atributo del color es el T2 o el T1, ya que el T2 cuenta con el 97% de aceptación total y el T1 cuenta con el 96% de aceptación.
- ❖ Sabor: según los datos representados en la gráfica, los mejores tratamientos para la producción con respecto al atributo de sabor son los tratamientos 1 y 2, ya que como se expresa en la gráfica, el tratamiento 1 cuenta con un 94% de aceptación total y el tratamiento 2 cuenta con una aceptación del 92%.
- ❖ Consistencia: en este caso resaltan los tratamientos 2 y 5, el T2 tiene una aceptación total del 97% y el T 5 cuenta con un 94% de aceptación.
- ❖ Aroma: resaltan los tratamientos 2 y 3, ya que los datos indican que son los tratamientos preferidos por los encuestados, T2 con una aceptación total del 99% y el T3 con un 98% de aceptación.
- ❖ Apariencia general: según los resultados observados en la gráfica el T1 es el tratamiento preferido por los encuestados con una aceptación total del 100%, sin embargo, se podrían tener en cuenta a los tratamientos 3 y 2, ya que, T3 tiene una aceptación total del 97% y T2 una aceptación del 96%.

En este orden de ideas, el mejor tratamiento para la producción es el tratamiento 2, debido a su alto porcentaje de aceptación en todos los atributos analizados. Finalmente, para los tratamientos abordados se resaltan sus cualidades de sabor afrutado en su totalidad, a pesar del desconocimiento del público en general referente a la bebida se logró clasificar en notas dulces y ácidas. En el estudio de Andreson et al. (2022) la clasificación de la kombucha comercial produjo 36 descriptores diferentes, que se clasificaron en 10 grupos: herbal, kombucha clásica, afrutado, sabor artificial, té, vinagre, dulce, agridulce, bayas, mal sabor. A partir de las variaciones se pueden agrupar en tres clasificaciones sensoriales: el primer grupo incluye kombuchas con "sabores afrutados" y "artificiales", el segundo grupo kombuchas con notas de "hierbas" y "té", y como tercer grupo "kombuchas clásicas" con algunos matices "dulces". De esta forma, es posible afirmar la cualidad heterogénea del perfil sensorial de la kombucha, la acidez y la dulzura pueden verse influenciadas por varias propiedades, por ejemplo, los ingredientes utilizados; como lo mencionan Silva Júnior et al. (2021) los azúcares presentes en la fruta contribuyen a que la kombucha sea más dulce.

Sin embargo; té, acidez y vinagre, son atributos bastante característicos de las kombuchas. Notas de "vinagre" en olor y sabor pueden ser causada por la presencia de *K. rhaeticus* y otras especies del género *Komagataeibacter*, puesto a su capacidad para soportar altos contenidos de ácido acético (Andreson et al., 2022).

4.5. Análisis microbiológico.

Según datos experimentales de Chakravorty et al. (2016), se indica que durante el crecimiento de los cultivos de "Kombucha", se forma una colonia de bacterias acéticas, *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus* y levaduras que pertenecen al género *Zygosaccharomyces*, *Pichia*, *Brettanomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Sacharomycodes*, *Torulospora* y *Candida*. Otros autores

coinciden con estos reportes, generalizando las AAB en tres especies: *Komagataeibacter*, *Gluconobacter* y *Acetobacter*. Donde *K. xylinus* destaca en el líquido como en la biopelícula (responsable de la producción de celulosa). Con respecto a las LAB, asocian las siguientes tres especies: *Lactobacillus*, *Oenococcus* y *Bifidobacterium*. Mientras la comunidad de levaduras se considera más variable y el número de especies que se han aislado de las fermentaciones de Kombucha es casi infinito (Laavanya et al., 2021 ; Villarreal-Soto et al., 2019; Chakravorty et al., 2016).

De igual forma, en estudios se han encontrado bacterias atípicas adicionales para las kombuchas como *Pseudomonas azotoformans* y *Paenibacillus typhae* (Andreson et al., 2022).

De forma general, las bacterias acéticas, que pertenecen a la familia *Acetobacteraceae*, son más abundantes en la biopelícula que en el líquido, ya que son microorganismos aerobios. Estos representantes bacterianos son Gramnegativos y catalasa-positivos (Chakravorty et al., 2016; Villarreal Soto et al., 2019).

A partir de las observaciones realizadas del perfil microbiológico en cada tratamiento se puede obtener lo siguiente:

Tabla 12
Resultados microbiológicos de los tratamientos abordados

Microorganismos	Límite Máximo	Tratamientos						Método De Prueba
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	
Aerobios totales	100	-	-	2x10 ³	-	-	-	NTC 4519
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia	-	-	-	-	-	-	NTC 4458
Mohos y levaduras	<10	3,90 x10 ⁶	1,09 x10 ⁶	4,54x 10 ⁵	5,45 x10 ⁵	1,54 x10 ⁶	7,27x 10 ⁵	NTC 5698
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia	-	-	<1	-	-	-	NTC 4779
<i>Salmonella</i>	Ausencia	-	-	No definida	-	-	-	NTC 4574
Bacterias ácido lácticas	No definido	4.54 x 10 ⁵	5.45 x 10 ⁵	9.04 x 10 ⁴	1.81 x 10 ⁵	3.63 x 10 ⁵	4.54 x 10 ⁵	NTC 5034

Nota. Los resultados calculados en la presente tabla son de índole experimental, no se utilizaron pruebas bioquímicas. Los reportes de los datos individuales de acuerdo con la concentración y el tiempo de incubación se pueden observar en el anexo K.

Los resultados del análisis microbiológicos indicaron 2x10³ UFC/ml para aerobios totales en el tratamiento 3, mientras en los demás tratamientos no hubo presencia; se registró ausencia de *Escherichia coli* en todos los tratamientos; en mohos y levaduras todos los tratamientos cumplieron con DUS 2037 de 2018, siendo la cantidad <10; se presentó ausencia para *Staphylococcus aureus* en todos los tratamientos menos en el tratamiento 3, el cual fue <1, a su vez, por la posición y

crecimiento de la cepa se puede deber a contaminación ambiental (ver anexo K); a excepción del T3, se presentó ausencia de salmonella en los tratamientos cumpliendo de esta manera con lo establecido en la norma. Sin embargo, no es posible afirmar presencia o ausencia de salmonella en dicho tratamiento, ya que, no se realizaron pruebas bioquímicas y no se utilizó un medio de cultivo selectivo para *salmonella*, sino agar macconkey, en el cual se evidenció crecimiento por parte de un microorganismo no fermentador de lactosa. El recuento de microorganismos probióticos oscilo entre $9,04 \times 10^4$ y $5,45 \times 10^5$ UFC/ml, donde el valor más alto fue por parte del T2, aun así, no se evidencian diferencias relevantes entre los tratamientos de acuerdo con el tipo de sustrato utilizado, por ejemplo, en un estudio realizado por Andreson et al. (2022) a 16 kombuchas de 6 productores, las LAB dominaban en el té verde y las AAB en el té negro.

Haciendo énfasis en la contaminación, de acuerdo con Brock (2009) el problema más común al momento de realizar análisis experimentales son los contaminantes aéreos, ya que hay presencia de microorganismos en el polvo en suspensión que se encuentra en el ambiente; por lo tanto, al momento de abrir las placas o los tubos se debe tener cuidado en el manejo, con el fin de que los contaminantes aéreos no penetren en los mismos. Ahora bien, Las células de levadura en el medio de cultivo generalmente se asientan en el fondo y pocas células de levadura quedan atrapadas en la celulosa sintetizada por las bacterias en la superficie (Laavanya et al., 2021).

La comunidad microbiana de las bebidas de kombucha depende de las condiciones de fermentación, como la temperatura, el tiempo, el iniciador seleccionado, entre otros, y de las materias primas utilizadas y las fuentes de azúcar. Por lo tanto, no existe una microbiota única o estandarizada de kombucha (Morales, 2020). Por lo cual, cada kombucha comercial tiene una composición diferente (Andreson et al., 2022). Finalmente se resalta que el género de levadura probablemente presentado en la presente investigación es: *Saccharomyces* (con presencia de *Saccharomyces boulardii*) y en algunos casos *Brettanomyces*.

4.6. Estudio de mercado

De acuerdo con Laureys et al. (2020) la kombucha atrae a consumidores particularmente conscientes de la salud que tienden a preferir un producto sin filtrar ni pasteurizar, ya que se cree que ciertos microorganismos de la kombucha poseen propiedades probióticas. No obstante, parece ser limitado el potencial probiótico de la kombucha. La presencia de LAB puede conferir un beneficio para la salud a la kombucha (dependiendo de la cepa específica), lo que haría deseable su presencia. Sin embargo, las LAB no parecen ser un miembro inherente de la comunidad microbiana de la kombucha.

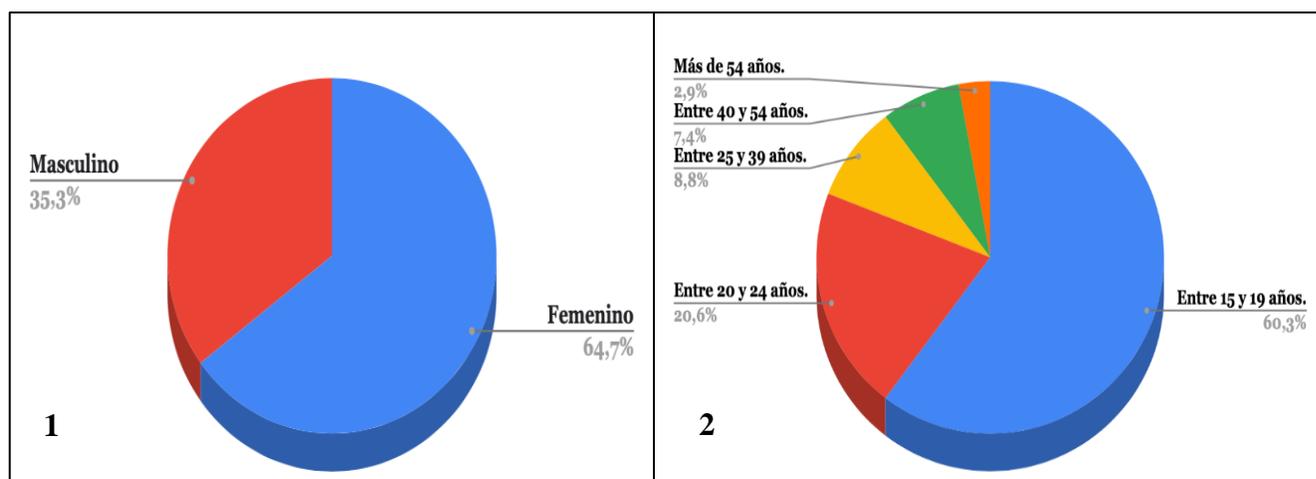
4.6.1. Investigación del mercado

A través de esta investigación se descubrió información valiosa para estimar los precios del producto y encontrar un punto de equilibrio que beneficie al productor y a los consumidores. La encuesta se realizó el día 9 de agosto del 2022 a través de Google Forms, se difundió por medio de las redes sociales y se pidió amablemente que se contestara y compartiera, su cierre se dio el día 9 de septiembre del 2022, logrando así una cantidad de 136 encuestados. De forma general, el instrumento se dividió en dos secciones, la primera de identificación y la segunda con la temática de la investigación, la cual en su totalidad contiene dieciséis (16) preguntas. Desde la pregunta tres a la pregunta diez se procedió a determinar la consistencia interna del instrumento utilizando el coeficiente de confiabilidad alfa de Cronbach. Al analizar los resultados de la encuesta para evaluar la viabilidad económica y comercial del producto: kombucha de cholupa, se obtuvo la siguiente información:

Ante la sección “Indique su género”, según los resultados mostrados en la figura 7, el 64,7% indicó pertenecer al género femenino y el 35,3% indicó pertenecer al género masculino. Ante estos resultados, se puede observar que entre los encuestados hay más participación del género femenino que del género masculino. Respecto a la pregunta “¿Dentro de qué rango de edad se encuentra?”, el 60,3% de los encuestados manifestó tener entre 15 y 19 años, el 20,6% manifestó tener de 20 años a 24 años, el 8,8% de los encuestados afirmó tener entre 25 a 39 años, el 7,4% entre 40 y 54 años y el 2,9% informó tener de 54 años a más; por lo tanto, hay mayor participación de la población joven, especialmente entre un rango de edad de 15 a 24 años.

Figura 7

Resultados gráficos de la primera parte del instrumento

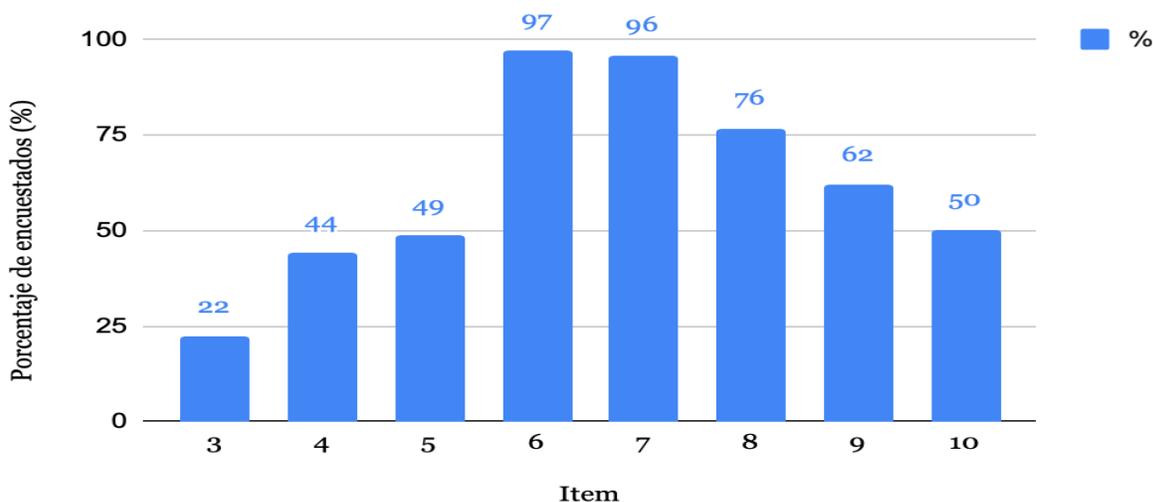


Para la segunda parte del instrumento desde la pregunta tres a la diez, se determinó la consistencia interna del instrumento utilizando el coeficiente de confiabilidad alfa de Cronbach para una muestra de 136 personas. Este alfa de Cronbach obtuvo un coeficiente de 0,6; por lo cual, la confiabilidad del instrumento para analizar la información suministrada es de “moderada confiabilidad”, esto hace la información aceptable y confiable (se encuentran moderadamente correlacionados los ítems con la información que se espera recolectar).

De acuerdo con la figura 8 se puede afirmar lo siguiente: los encuestados que consumen algún tipo de té, abarcan el 22% , ya que los mismos mencionan que consumir algún tipo de té es bastante probable; el 44% de los encuestados mencionan que es nada probable que sepan que es la kombucha, de este modo, se hace necesario dar a conocer el término y encontrar nuevos posibles consumidores; el 49% considera muy probable querer probar la kombucha kombucha o en su defecto ya le gusta el producto, por lo cual producir kombucha puede ser una buena alternativa; seguidamente se puede notar que la cholupa es conocida y apetecida por el público en general, se obtuvieron resultados de 97% y 96% como muy probable que conozcan y/o hayan probado el fruto respectivamente; el 76% menciona como muy probable el estar dispuestos a consumir la bebida "kombucha de cholupa" y el 62% considera muy probable comprar el producto descrito anteriormente; mientras que el 50% considera que es muy probable que lleguen a recomendar la kombucha de cholupa.

Figura 8

Resultados experimentales de los ítems 3-10



Por otra parte, en la figura 9 se muestran gráficamente los resultados de los ítems 11 a 16 del instrumento aplicado. Tras dar una definición de la kombucha, se formuló la siguiente pregunta: “¿Le llama la atención la kombucha de cholupa?”, a lo que el 97,1% afirmó que, si le llama la atención el producto, mientras que un 2,9% indicó que no le llama la atención, tal como se muestra en el índice 11 de la figura 9

En la figura 9 - índice 12, se observan como respuestas a la pregunta “¿qué características prefiere al comprar una bebida?” lo siguiente: el 44,1% de los encuestados indica preferir la calidad, el 32,4% prefiere el precio al momento de comprar una bebida; mientras el 10,3% se fija en la cantidad de producto, solo el 9,6% prefiere un buen empaque y el 3,7% prefiere otro tipo de aspectos. Por lo tanto, se idealiza aplicar un sistema HACCP (Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control) y mantener las BPM (Buenas Prácticas de Manufactura) con el fin de buscar un aseguramiento de la calidad e ir acorde a los requerimientos del posible consumidor.

Ante la pregunta “¿en cuál de los siguientes lugares le gustaría adquirir el producto?”, el 35,3% afirmó querer conseguir el producto en supermercados; el 10,3% indicó querer conseguir el producto en tiendas de barrio, otro 10,3% prefiere conseguirlo en restaurantes; mientras que sólo un 7,4% prefiere conseguirlo en tiendas saludables, adicionalmente al 36,8% de los encuestados le gustaría conseguirlo en todas las anteriores opciones, tal como se indica en la figura 9 - índice 13, con estos resultados se logró reconocer cuáles lugares son los más indicados para la comercialización del producto, enfocándose en realizar una distribución del producto en comercios variados.

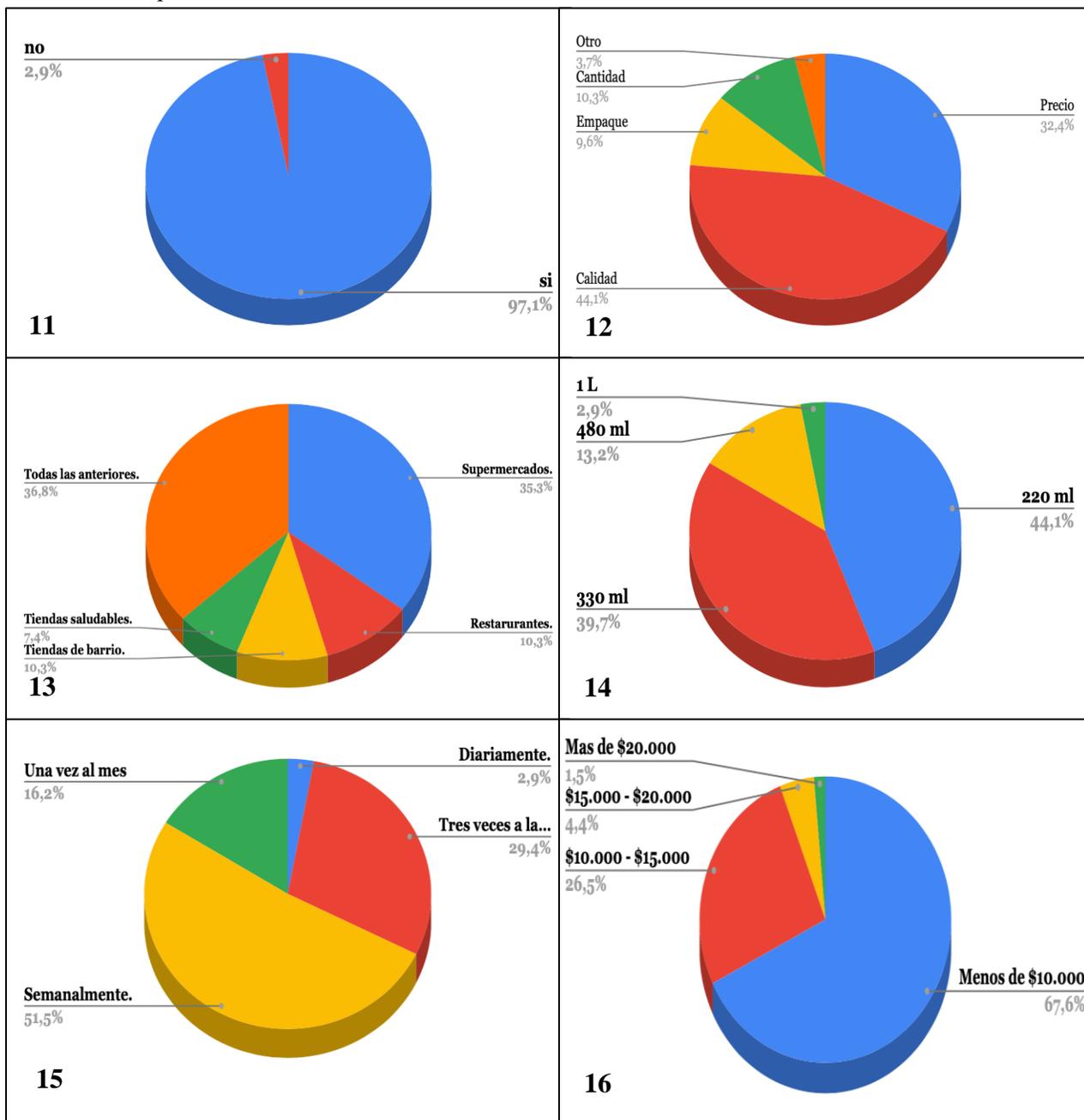
Con respecto a la pregunta “¿Qué presentación sería de su preferencia?”; el 44,1% indicó que lo preferiría en una presentación de 220 ml; el 39,7% lo prefiere en una presentación de 330 ml; mientras que el 13,2% opta por una presentación de 480 ml y solo el 2,9% afirma preferir una presentación de 1L, tal como se aprecia en la Figura 9 - índice 14. Considerando que las presentaciones de 330 ml y 220 ml tendrían aproximadamente una misma acogida, la elección de la presentación final dependerá de los costos de producción.

Así mismo, ante la pregunta “¿Con qué frecuencia estaría dispuesto a consumir el producto?”; el 51,5% indicó que estaría dispuesto a consumir el producto semanalmente, el 29,4% indicó que estaría dispuesto a consumirlo tres veces a la semana; mientras que el 16,25 lo

consumiría una vez al mes y sólo el 2,9% afirmó que tendría una frecuencia de consumo diaria, tal como se muestra en la Figura 9 - índice 15.

Figura 9

Resultados experimentales de los ítems 11-16



Nota. Cada índice de la figura corresponde al número de pregunta de la encuesta de mercado para evaluar la viabilidad económica y comercial del producto: kombucha de Cholupa.

Finalmente, para la pregunta “¿Qué precio estaría dispuesto a pagar por una presentación de 220 ml del producto?”; se obtuvo que el 67,6% de las personas encuestadas estarían dispuestas

a pagar menos de \$10.000 pesos colombianos por el producto, el 26,5% estarían dispuestas a pagar entre \$10.000 y \$15.000; mientras solo un 4,4% de los encuestados pagaría entre \$15.000 y \$20.000; mientras que solo un 1,5% pagaría más de \$20.000, por lo tanto, se buscaran formas para que la bebida sea asequible para todos, de este modo, se pronostica un valor inferior a los \$15.000 pesos, ya que la mayoría de las personas no tendrían ningún problema en adquirir el producto por este valor, como se puede observar en la figura 9 - índice 16.

4.6.2. Análisis de la oferta

4.6.2.1. Identificación de la oferta

Para determinar la oferta que tiene el producto es necesario tener en cuenta que al ser un producto que será producido inicialmente de forma artesanal este tendría poca oferta en el mercado, por lo que es necesario industrializar el proceso con el fin de producir en mayor cantidad y de esta forma lograr aumentar la oferta de este.

Entre la competencia directa se encuentran aquellas empresas dedicadas a la fabricación y comercialización de kombucha. Actualmente en Colombia son pocas las empresas dedicadas a producir y comercializar kombucha, en el anexo L se pueden observar dichas empresas, dentro de ellas se destaca la empresa de Happy Kombucha y Kombucha La Jaguara ubicadas en la ciudad de Bogotá, las cuales cuentan con el registro sanitario del Invima. Cabe resaltar el crecimiento de Te Vivo Kombucha, Biota Kombucha y Life Kombucha. Cada una de las bebidas realizadas por parte de las empresas varían de acuerdo con el grado de concentración de la materia prima utilizada, entre otros factores.

Entre estos productores de kombucha, las frutas que más se destacan y que más se usan para agregar sabores distintivos a la kombucha son: cereza, flor de Jamaica, fresa, mandarina y piña; las cuales pueden llegar a mezclarse con jengibre, vainilla, sal, hierbabuena, menta y cúrcuma, esto lo hacen con el fin de lograr combinaciones exóticas y crear nuevos sabores llamativos.

Por otro lado, en la competencia indirecta se encuentran los fabricantes de bebidas naturales provenientes de otro tipo de materias primas y que adicionalmente cuentan con productos que contienen vitaminas, probióticos y demás aspectos que pueden llegar ser beneficiosos para la salud y nutrición humana. Aquí se encuentran empresas grandes como lo son Alpina, Nestlé, Postobón, entre muchas otras que cuentan con una gran variedad de productos.

4.6.3. Análisis de la demanda

4.6.3.1. Segmentación

La encuesta de mercado para evaluar la viabilidad económica y comercial del producto se realizó a un total de 136 personas de las cuales la mayoría fueron mujeres (64,7%) y rondaban entre los 20 y 39 años, se les realizó un total de 16 preguntas como las siguientes: “¿Sabe usted que es la kombucha?” y de los encuestados el 44,1% sabía que era la kombucha, el 14,7% nunca la había escuchado y el restante de los encuestados solo la había oído mencionar, por lo tanto es muy importante trabajar en dar a conocer la bebida junto con sus beneficios y de esta forma promover su consumo, adicionalmente a esto se realizó la siguiente pregunta “¿le gustaría probar la kombucha?” 66 personas respondieron afirmativamente (48.5%), lo cual nos indica que el mercado de kombucha al que queremos ingresar, no es mal mercado y está siendo más amplio cada día.

Se le preguntó a los encuestados si sabían que era la cholupa, de los 136 encuestados el 3% de los encuestados de la ciudad de Neiva, no saben que es la cholupa, mientras el 97% si tiene conocimiento de esta fruta, de estos mismos el 5% no ha probado la fruta y el 95% si la ha probado alguna vez, lo cual nos indica que es muy probable que el producto tenga una buena acogida, debido a la implementación de este fruto tan conocido en la ciudad. Así mismo, en respuesta a la pregunta “¿Estaría dispuesto a consumir kombucha de cholupa?”, se observa que el mercado se puede ampliar a más probabilidades de éxito, ya que 104 respondieron afirmativamente (76.5%), y a la pregunta “¿Compraría el producto descrito anteriormente?”, el 61,8% afirma que compraría el producto, lo cual confirma que estamos apuntando a un mercado curioso y amplio, al cual le interesa conocer y probar nuevos productos y sabores, esto se confirma nuevamente con la pregunta “¿Le llama la atención la kombucha de cholupa?” a la cual el 97,1% contestó que sí le llama la atención, por lo tanto el punto de vista del público encuestado es muy importante y en este caso el público es en mayoría adolescentes y jóvenes, los cuales son muy relevantes al momento de lanzar un producto al mercado, como lo es en este caso al ofrecer kombucha de cholupa, Por lo tanto será producto muy enfocado a la población juvenil y que posea el ánimo de mantener un estilo de vida más saludable.

4.6.3.2.Tamaño del mercado

El estudio del mercado se realizó en el municipio de Neiva - Huila, el cual para el año 2021 estaba habitado por 488.927 personas, sin embargo, para el presente estudio solo se tuvo en cuenta la población mayor de 15 años, por lo tanto, solo fueron 381.363 personas. Con respecto a la pregunta “¿Estaría dispuesto a consumir kombucha de cholupa?” Se obtuvo que el 76,50% de los encuestados estaría dispuesto a consumir kombucha de cholupa.

Por lo tanto:

$$\text{Tamaño de mercado} = 381.363 \times 76.50\% = 291.742 \text{ personas}$$

4.6.3.3.Consumo aparente

Para determinar el consumo aparente se tienen en cuenta los resultados suministrados por parte de los encuestados en la pregunta “¿Con qué frecuencia estaría dispuesto a consumir el producto?”

Según la encuesta se obtuvo:

Tabla 13

Probabilidad de consumo de kombucha al mes

Frecuencia respecto al mes	Número de personas	%
Diariamente	2	2.9 %
Tres veces a la semana	20	29.4 %
Semanalmente.	35	51.5 %
Una vez al mes	11	16.2 %
Total	68	100 %

Teniendo en cuenta los resultados de la encuesta, es más probable que la bebida sea consumida una vez a la semana, ya que un año tiene en promedio 52 semanas, se puede considerar el consumo de 52 kombuchas por cliente potencial en el año; es decir que 52 días al año, los clientes estarían consumiendo el producto.

4.6.3.4. Demanda potencial

Demanda máxima potencial teórica = $381.363 * 52 = 19.830.876$

Demanda potencial máxima realizable = $19.830.876 * 76.50\% = 15.170.620$

Demanda potencial máxima existente = $15.170.620 / 2 = 7.585.310$

Se considera que la demanda existente es 7.585.310, este valor se consideraría como la cantidad de compras de kombucha al año por parte de clientes potenciales, dado que en la ciudad de Neiva no hay presencia de ninguna empresa que produzca este producto.

4.6.3.5. Participación deseada del mercado

Inicialmente se espera tener una participación del 4% de la población en el mercado, debido a que el producto sería relativamente nuevo para la población. Sin embargo, se espera a largo plazo ganar más clientes al ser esta la única empresa productora y comercializadora de kombucha en la ciudad. Lo anterior indica que la comercialización del producto inicialmente sería solamente local, esto mientras la empresa va creciendo y va dando a conocer el producto con el fin de tener mayor participación en el mercado y que de esta forma la demanda pueda aumentar, de igual forma es esencial aplicar estrategias de mercadeo, que incluye los precios de comercialización del producto que se oferta, políticas de descuentos, estrategias de publicidad y distribución, entre otras.

4.6.4. Análisis de la competencia

En la ciudad de Neiva no existe una planta productora de kombucha, pero sí hay negocios que comercializan estos productos provenientes de otros lugares del país como los supermercados de cadena, tiendas saludables y restaurantes; entre las marcas que se distribuyen y que cuentan con el registro INVIMA se encuentran:

- ❖ Happy Kombucha
- ❖ Kombucha La Jaguará
- ❖ Té Vivo Kombucha

Cabe resaltar que ninguna empresa hasta ahora oferta Kombucha de Cholupa (que contenga cholupa o con sabor a esta, ya sea en pulpa, jugo, néctar, entre otros).

4.6.5. Mercado de materia prima, insumos y proveedores

Se debe evaluar cada actividad relacionada a la producción del producto con el fin de obtener buenos insumos y materia prima, manteniendo siempre un control de toda la cadena de suministros, desde los proveedores hasta el producto final, manejando así un correcto abastecimiento de productos de calidad; adicionalmente se debe recoger constantemente información de cada área, con el fin de realizar un análisis y mantener el control de toda la cadena.

4.6.6. Mezcla de marketing

4.6.6.1. Producto

El producto que se quiere lanzar al mercado (kombucha de cholupa) es una bebida con múltiples propiedades, resultado de fermentaciones en conjunto. El producto se comercializaría en un envase de vidrio sellado al vacío que garantice la inocuidad y las buenas prácticas de manufactura aplicadas durante la fabricación. Además, contará con tabla nutricional para poder

orientar al consumidor. El producto terminado tendrá un color característico del té y la fruta, en cuanto a textura, esta será agradable al paladar del consumidor, sin presencia de grumos.

4.6.6.2. Presentación

Inicialmente la bebida tendrá una sola presentación individual y estará contramarcada con la marca de la productora de kombucha (Figura 10)

Figura 10

Logo de contramarca para envases del producto “Kombucha de cholupa”



- ❖ Presentación en botella de vidrio con etiqueta rectangular completa, de 220 ml y 1 L de Kombucha de Cholupa.
- ❖ Dimensiones de la botella para 220 ml de: 16 cm de alto x 18 cm de ancho.
- ❖ La ficha técnica del producto se encuentra en el anexo M y la etiqueta del producto junto con las imágenes experimentales de la bebida en el anexo N

4.6.6.3. Precio

Partiendo del estudio realizado por medio de la encuesta se considera que el precio del producto debe ser inferior a los 15.000 pesos colombianos (el 93,1% de los encuestados indicaron que si les interesa adquirir el producto mientras que este tenga un valor inferior al mencionado anteriormente). En la tabla 14 se muestra una tabla de costos para la producción de 6 kombuchas de cholupa, de acuerdo con el tratamiento escogido para la producción con respecto a los resultados obtenidos de los análisis realizados, siendo este el tratamiento 2, por lo tanto, el precio de venta del producto será de \$9000, teniendo así una ganancia del 26%.

Tabla 14

Costo de elaboración y precio de venta del producto “Kombucha de cholupa” correspondiente al tratamiento 2

Detalle	Unidad	Cantidad	Valor unitario
Scoby	Unidad	1	1.000
Cholupa	Gramos	500	800
Té negro (orgánico)	Gramos	166	25.000
Azúcar morena (orgánica)	Gramos	133	465
Envase de vidrio (220 ml)	Unidad	6	6.960
Mano de obra	Personas	2	8.400
Total, para la elaboración de 6 kombuchas de cholupa en envase de 220 ml			42.625
Total, por unidad de kombucha de cholupa			7.104
Precio de venta			9.000
Margen de utilidad			26%
Ganancia			1.896

4.6.6.4.Promoción

El producto será promocionado a través de las diferentes redes sociales como Facebook, Instagram, YouTube, Google sites, entre otras plataformas. De esta forma se dará a conocer el producto para posteriormente posicionarlo en el mercado. Por otra parte, los métodos convencionales tales como cadenas de radio y volantes, también permitirán difundir la información del producto a nivel local.

4.6.6.5. Plaza

El lugar donde se ubique la planta productora de kombucha debe ser en el casco urbano, con terreno plano, alejado de cualquier repositorio de basuras y este será dividido por áreas con el fin de garantizar la inocuidad; se tendría un área de recepción y adecuación, un área para las fermentaciones, otra para el control de calidad (presencia de laboratorio para la medicación de propiedades organolépticas), envasado y almacenaje, y por último debe contar con un espacio para los canales de distribución, de igual forma el personal contará con un área de limpieza personal de acuerdo con la normatividad exigida por el INVIMA. Cabe resaltar que los equipos y maquinaria empleada deben ser lavados y desinfectados antes y después de ser utilizados. Además, la zona debe ser segura, en la misma no se debe presentar ninguna clase de conflicto.

4.6.6.6.Post venta.

Se tendrán en cuenta estrategias de promociones para el caso de las plataformas de redes sociales, las cuales permitirán que el consumidor brinde su opinión acerca del producto y de esta forma lograr mejorar como empresa, también, se diseñará una página web dedicada específicamente a brindar información del producto y a la publicidad de este, realizando ofertas y brindando un espacio para recibir críticas constructivas para el crecimiento y mejoramiento continuo. El factor más importante en la empresa será satisfacer las necesidades del consumidor e innovar siempre en el producto con el fin de que nuestro cliente lo considere llamativo, agradable y de calidad.

4.7. Vida útil, seguridad y calidad

Como se pudo observar con los monitoreos realizados tras transcurrir 90 días de la elaboración de la bebida se evidencio que en todos los casos se mantienen sus colores, sin embargo, en algunos casos sus propiedades fisicoquímicas no cumplen con la norma, por lo tanto, mediante este estudio de estabilidad fisicoquímico se determinó que el tiempo de vida útil de la bebida de Kombucha en el caso del T2 es de tres meses en refrigeración. Se hace énfasis especialmente en la refrigeración (sobre todo si la bebida no está pasteurizada), en un estudio Morales (2014) indica una durabilidad de 1 mes, transcurrido dicho tiempo, se verá afectada por la acidez, con la presencia de una mayor concentración de ácidos.

Es necesario tener en cuenta que el número de posibles células microbianas patógenas de la kombucha, si las hubiera, disminuye, dando como resultado una bebida segura para el consumo, a pesar de tener un origen microbiano. Varios estudios han demostrado que debido a su bajo perfil de pH y ácido orgánico, la kombucha mata varios organismos patógenos conocidos por contacto, como *E.coli*, *Salmonella*, *Listeria* y otros. También, el desarrollo de moho en la kombucha es relativamente raro, aunque ciertamente no imposible (KBI, 2022). En caso de presentarse, se mezcla una solución mitad agua mitad vinagre y se rocía sobre la parte contaminada para eliminar el moho formado (Laavanya et al., 2021).

La mayoría de la kombucha que se vende en el mercado es cruda y, por lo tanto, biológicamente activa. El proceso de fermentación continúa mientras las bacterias y las levaduras tengan azúcares para alimentarse. Por eso es tan importante mantener la kombucha fría, para garantizar que la calidad se mantenga constante y conforme (KBI, 2022). Sin embargo, en la presente investigación se plantean métodos de seguridad alimentaria en base a los estudios realizados y la posible comercialización como producto terminado, esto incluyen pasteurizar el producto final para evitar la sobreproducción de alcohol y dióxido de carbono (Watawana et al., 2015), para evitar la contaminación del caldo, se pueden agregar algunos conservantes antifúngicos que se usan comúnmente en la industria alimentaria, como el benzoato de sodio y el sorbato de potasio, en una concentración del 0,1% a un $\text{pH} \leq 4,2$ (Nummer, 2013).

4.8. Presupuesto de la investigación.

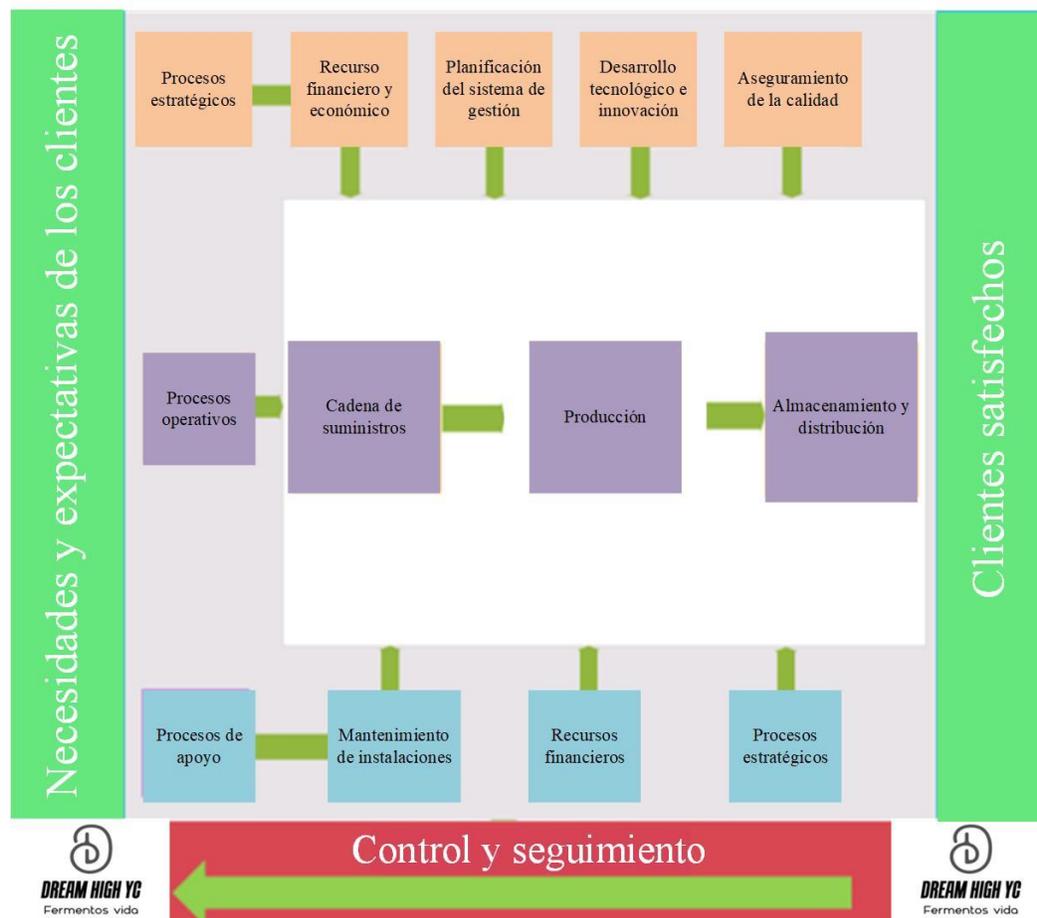
4.8.1. Proveedores y precios.

Los proveedores de materias primas deben manejar las buenas prácticas agrícolas y manufactureras durante la siembra, almacenamiento y transporte, por esto mismo fue muy importante realizar un análisis minucioso sobre los que serían los proveedores para la producción de la bebida. Los precios de los insumos fueron consultados con cada uno de los proveedores de los productos utilizados para la elaboración de la kombucha, estos precios se encuentran en la primera parte del Anexo O y en la segunda parte se puede evidenciar el costo para elaborar los 6 tratamientos de la kombucha con respecto a los insumos utilizados.

4.9. Planeación y control de producción (PCP) para empresa productora de “kombucha de cholupa”

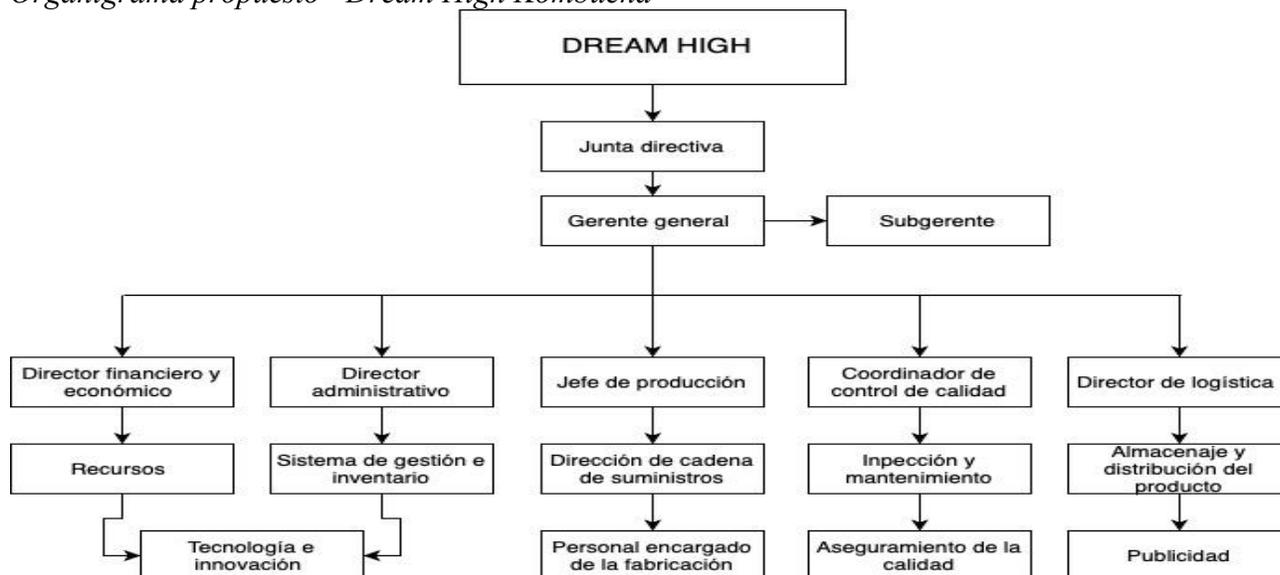
La planificación y el control de la producción es fundamental para obtener un producto de alta calidad y al mismo tiempo organizar a los trabajadores que intervienen en el proceso productivo, permite planificar, distribuir y controlar cada paso de la cadena productiva, logrando así un sistema completo, reduciendo costos y mejorando tiempos. Por lo cual se desarrollaron los siguientes gráficos:

Figura 11
 Mapa de procesos “Dream High Kombucha”



Nota. Muestra la relación de todos los procesos que se planean desarrollar.

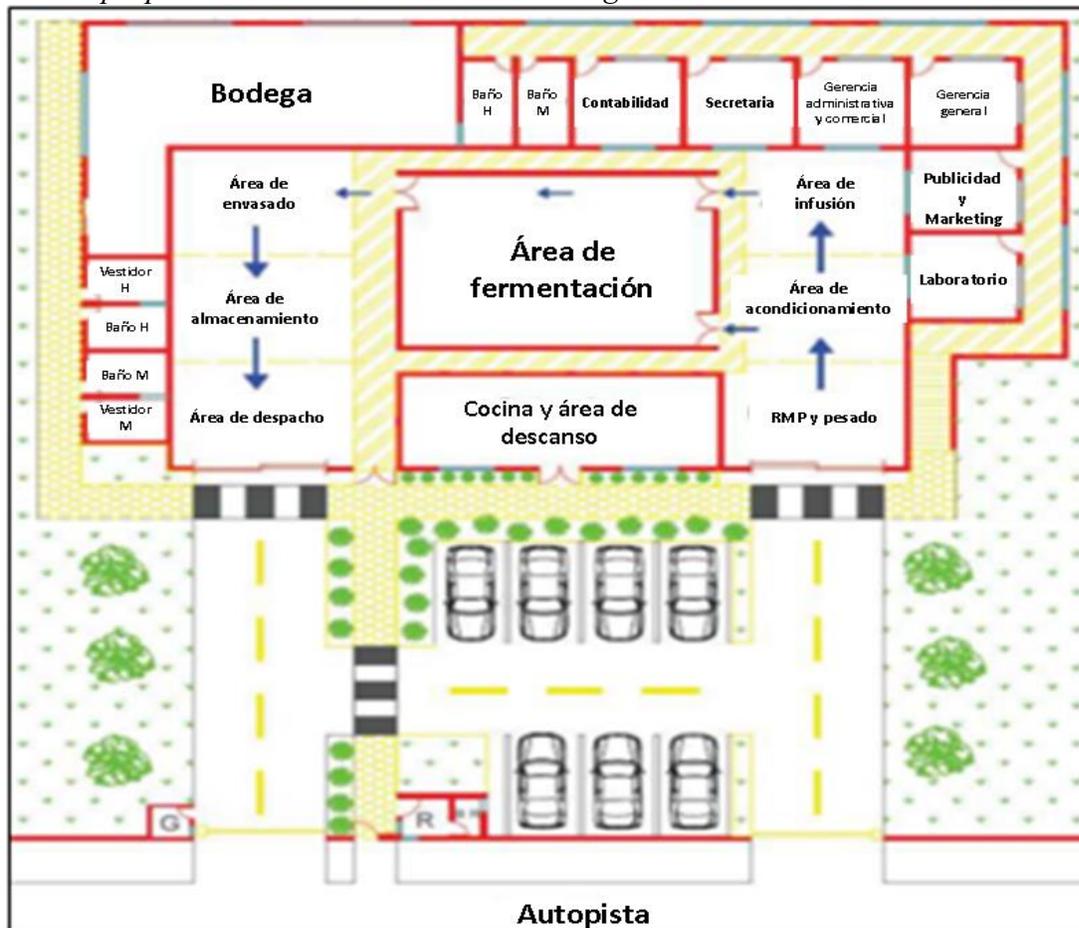
Figura 12
 Organigrama propuesto “Dream High Kombucha”



Para el organigrama se propuso una estructura interna para la organización de la empresa, en donde los empleados y los cargos que se tendrían están representados con rectángulos.

Figura 13

Diseño propuesto de la instalación “Dream High Kombucha”



Nota. Muestra la estructura y funcionamiento de la planta de producción.

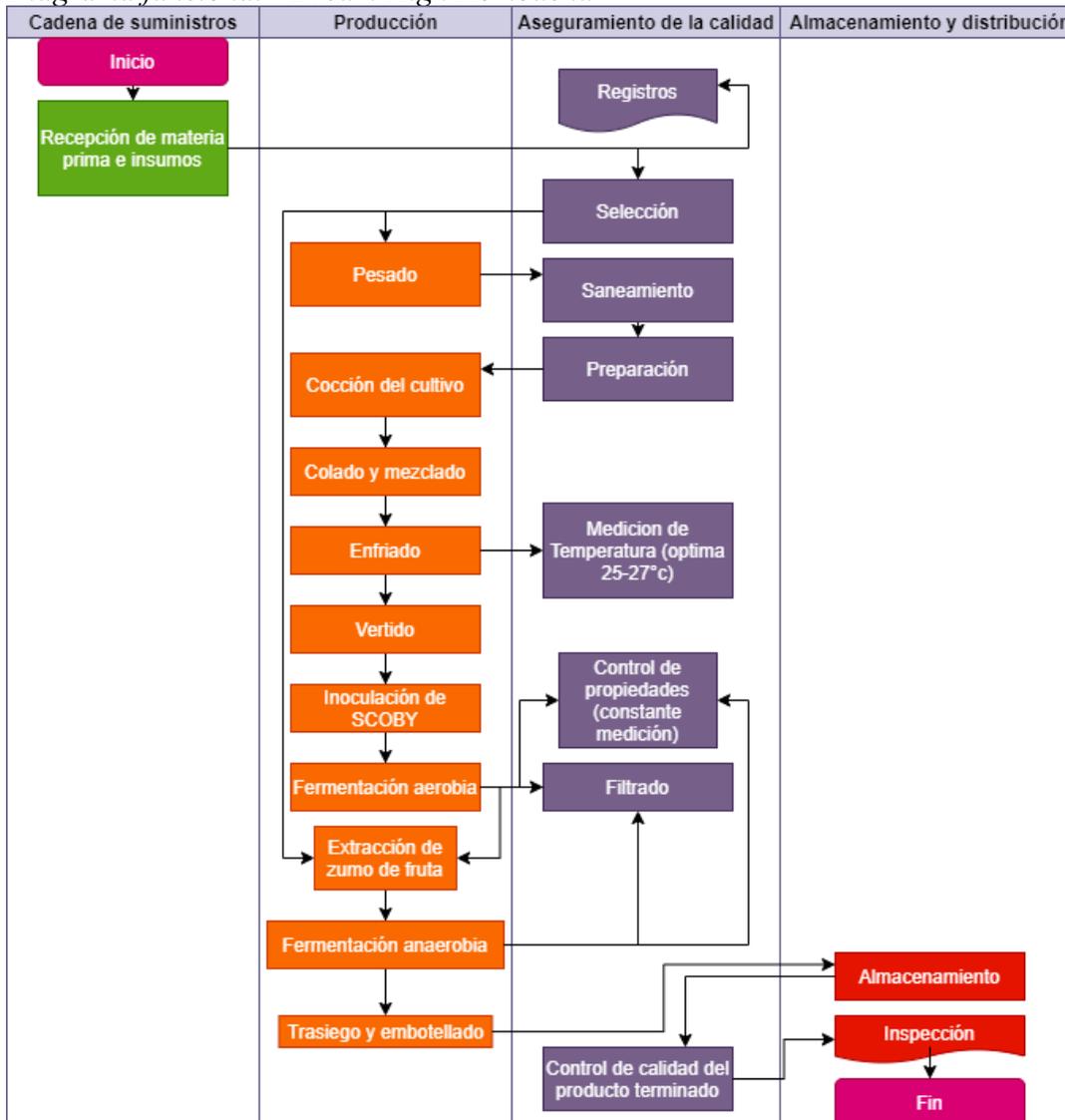
Figura 14

Cadena de suministros de la empresa “Dream High Kombucha”



Figura 16

Diagrama funcional “Dream High Kombucha”



CONCLUSIONES

Conseguir una formulación de kombucha idónea se basa en prueba y error a pesar de seguir parámetros establecidos previamente por distintos investigadores, ya que, cada una puede presentar una composición heterogénea de acuerdo con variables de proceso. A partir de los procesos realizados se estableció que una de las mejores herramientas para determinar el punto de partida y conocer los gustos del posible consumidor es el análisis sensorial, la cual permitió determinar la formulación del tratamiento T2 (té negro + azúcar morena) como la mejor combinación para el producto kombucha de Cholupa con un tiempo de fermentación total de 17 días a una temperatura alrededor de 26° C.

Se evaluaron las distintas propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de la kombucha de cholupa, y se determinó que los sustratos y los parámetros de proceso efectivamente interfieren en el tiempo de fermentación de la bebida y la composición microbiana final. Los tratamientos al tener las mismas concentraciones de formulación y los mismos parámetros de proceso (condiciones ambientales), no presentan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0.05$) entre sí en cada una de las variables de respuesta final como: pH, sólidos solubles, acidez titulable, contenido de alcohol, capacidad antioxidante y contenido microbiológico.

Dentro de los resultados cuantitativos y cualitativos que se obtuvieron al efectuar el análisis sensorial a los consumidores finales (12 personas encuestadas para la prueba analítica y 75 para la prueba hedónica) se logró clasificar la bebida en tonos frutales dulces y avinagrados, determinando en la prueba analítica la preferencia por los tratamientos T1, T2 Y T5, mientras en la hedónica el que obtuvo un mayor grado de satisfacción fue el tratamiento T2, bebida con mayor contenido de sólidos solubles.

En el estudio de mercado de Kombucha de Cholupa se observó una alta intención de selección de la bebida al momento de la compra de un producto natural y saludable, con un sabor diferente; contando con un 61.8% de personas que podrían llegar a comprar el producto, lo cual, hace factible el proyecto; Adicionalmente se contemplaron las condiciones de mercado y las técnicas para la implementación y puesta en marcha del proyecto, en el cual será indispensable controlar las condiciones de fermentación, filtración y conservación de la cadena de frío del producto.

RECOMENDACIONES

Se debe contar con una condición estricta de asepsia a la hora de elaborar la bebida fermentada de kombucha, por ejemplo, durante el proceso de elaboración y embotellado se debe contar con material estéril, así como hacer uso de mecheros para asegurar la esterilidad del área, con el fin de evitar la contaminación del producto, en tal caso de que esto se presente, toda la producción debe descartarse de inmediato.

Se recomienda realizar un examen visual constante de la kombucha antes, durante y al finalizar el proceso de fermentación, esto implica analizar la materia prima antes de empezar con la fermentación y vigilar diariamente el SCOBY para prevenir que durante su formación sea invadido por microorganismos nocivos. Con el fin de prevenir que se desechen lotes enteros de kombucha si estos se llegan a contaminar por patógenos.

La kombucha se produce principalmente mediante fermentación natural, por lo tanto, es incontrolada, por esta razón es importante tener información confiable y detallada sobre el proceso de fermentación, y realizar estudios sobre sus beneficios, siguiendo los protocolos de investigación que están establecidos, esto debido a que la falta de estudios clínicos dificulta la consideración de la bebida como alimento funcional.

La producción de kombucha como un producto sin filtrar y sin pasteurizar plantea muchos desafíos tecnológicos, debido a que el producto puede ser inestable por la combinación de levaduras y bacterias vivas con sustratos residuales. A su vez, la presencia de sustratos residuales puede ser necesaria para obtener un producto bien balanceado. Por dichas razones, donde la comercialización es amplia, las empresas utilizan tecnología de filtración estéril o pasteurización antes de distribuir su producto en el mercado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almanza, M. D., Ruiz Hernández, K., Sosa Morales, M.E., Martínez Soto, G. y Flores Ortega, A. (2016). Diseño y desarrollo tecnológico de un prototipo de molino despulpador de mango. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(2), 273-278.
- Andreson, M., Kazantseva, J., Kuldjäv, R., Malv, E., Vaikma, H., Kaleda, A., Kütt, M. & Vilu, R. (2022). Characterisation of chemical, microbial and sensory profiles of commercial kombuchas. *International Journal of Food Microbiology*. 373, 109715. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109715>
- Anzaldúa Morales, A. (1994). *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y en la práctica*. Editorial Acirbia, S. A. Zaragoza, España.
- AOAC INTERNATIONAL. (2016). Official methods of analysis (OMA) of AOAC International. Editorial Gaithersburg, 20 ed. <http://www.eoma.aoac.org/>
- Aung, T., & Eun, J.-B. (2021). Production and characterization of a novel beverage from laver (*Porphyra dentata*) through fermentation with kombucha consortium. *Food Chemistry*, 350, 129274. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129274>
- Barrero, L. (2016). *Microbiología clínica. Capítulo 2: Medios de cultivo de microorganismos*. Madrid, España.
- Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V. E., Puga-Díaz, R., & Quintero-Gutiérrez, A. G. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 23. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.244>
- Bernal López, C. K. y Castro Cabrera, D. M. (2014). *Obtención de bebidas fermentadas a partir de maracuyá (*Passiflora edulis*) y cholupa (*Passiflora maliformis* L.)* [Tesis de pregrado, Universidad Surcolombiana]. Neiva, Huila.
- Bitaco. (2022). *Te negro orgánico*. <https://Bitacotea.Com/Categoria-Productos-Bitaco/Te-Negro/>.
- Bitaco. (2022). *Té verde orgánico*. <https://Bitacotea.Com/Productos-Bitaco/Organic-Premium-Green-Tea/>.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT. Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Britanialab. (2021). *Manitol Salado Agar*. https://Www.Britanialab.Com/Back/Public/Upload/Productos/Upl_607073c954fa9.Pdf.
- Britanialab. (2021). *M.R.S. Agar*. https://Www.Britanialab.Com/Back/Public/Upload/Productos/Upl_6092dd2543f1d.Pdf.
- Bueno, F., Chouljenko, A. & Sathivel, S. (2021). Development of coffee kombucha containing *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus casei*: Gastrointestinal simulations and DNA microbial analysis. *LWT*, 142, 110980. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110980>
- Bueno Rojas, J. (2022). *Desarrollo y estudio de una bebida fermentada con cultivo microbiano de kombucha y pulpa de yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam)* [Tesis de postgrado, Instituto tecnológico de Tepic]. Repositorio Institucional del Tecnológico Nacional de México (RI - TecNM). <https://rinacional.tecnm.mx/handle/TecNM/4318>

- Camacho, A., Giles, M., Ortigón, A., Palao, M., Serrano, B. y Velázquez, O. (2009). *Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos* (2ª ed.). Universidad Nacional Autónoma de México.
- 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. de. (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>
- Carrillo, L. y Audisio, C. (2007). *Manual de microbiología de los alimentos*. Capítulo 2: Bacterias. San Salvador de Jujuy, Argentina.
- Carrillo Inungaray, M. y Reyes Munguía, A. (2013). Vida útil de los alimentos. *Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 2(3). <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5063620>
- Carvajal, L. M., Turbay Ceballos, S. M., Álvarez, L. M., Rodríguez, A., Álvarez, M., Bonilla, K., Restrepo, S., & Rodríguez, M. (2014). Propiedades funcionales y nutricionales de seis especies de pasifloras del departamento del Huila. *Caldasia*, 36(1), 1–15. <https://doi.org/10.15446/caldasia.v36n1.21243>
- Carvajal, S. (2019). *Aprovechamiento de los desperdicios del café para la elaboración de una Kombucha (Medusomyces Gisevi) a partir de borras de café* [Tesis de pregrado. Universidad de Guayaquil]. Repositorio institucional de la Universidad de Guayaquil. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/47059/1/BINGQ-GS-19P63.pdf>
- Castiglia, V., Kuhar, F., y Papinutt, L. (2013). *Reino Fungi: morfologías y estructuras de los hongos* [Archivo PDF]. <https://core.ac.uk/download/pdf/52479411.pdf>
- Caycedo Lozano, L., Corrales Ramírez, L. C., & Trujillo Suárez, D. M. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nova*, 19(36), 49–94. <https://doi.org/10.22490/24629448.5293>
- 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>
- Chu, S.-C., & Chen, C. (2006). Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chemistry*, 98(3), 502–507. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.080>
- Clemens, R. A., Jones, J. M., Kern, M., Lee, S.-Y., Mayhew, E. J., Slavin, J. L., & Zivanovic, S. (2016). Functionality of Sugars in Foods and Health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(3), 433–470. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12194>
- Coelho, R. M. D., Almeida, A. L. de., Amaral, R. Q. G. do., Mota, R. N. da. & Sousa, P. H. M. de. (2020). Kombucha: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 22, 100272. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100272>
- Consejo Nacional de Pasifloras. (2012). *Acuerdo de Competitividad de la Cadena Productiva de Pasifloras en Colombia*. Bogotá, D.C. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.
- Cordero Ordóñez, M. y Ullauri Hernández, P. (2011). *Filtros caseros, utilizando ferrocemento, diseño para servicio a 10 familias, constante de 3 unidades de filtros gruesos ascendentes (FGAS), 2 filtros lentos de arena (FLA), sistema para aplicación de cloro y 1 tanque de almacenamiento* [Monografía previa a la obtención del título]. Repositorio institucional Universidad de Cuenca. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/747>

- Cuesta, A. (2005). *Medios de cultivo y reactivos*. Norma ISO 17025. http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP_FaoRlc/old/prior/comagric/codex/rla3013/pdf/aseg3.pdf.
- Cultimed. (2003). *Manual básico de microbiología* [Archivo PDF]. <http://www.ictsl.net/downloads/microbiologia.pdf>
- D'Amore, T., Russell, I., & Stewart, G. G. (1989). Sugar utilization by yeast during fermentation. *Journal of Industrial Microbiology*, 4(4), 315–323. <https://doi.org/10.1007/BF01577355>
- Decreto 1366 de 2020 [Ministerio de Salud y Protección Social]. Por el cual se establecen disposiciones para otorgar el registro sanitario de bebidas alcohólicas fabricadas y comercializadas por microempresarios y la certificación en buenas prácticas de manufactura. 16 de octubre de 2020.
- Decreto 162 de 2021 [Ministerio de Salud y Protección Social]. Por medio del cual se modifica el Decreto 1686 de 2012. 16 de febrero de 2021.
- Decreto 1686 de 2012 [Ministerio de Salud y Protección Social]. Por el cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios que se deben cumplir para la fabricación, elaboración, hidratación, envase, almacenamiento, distribución, transporte, comercialización, expendio, exportación e importación de bebidas alcohólicas destinadas para consumo humano. 9 de agosto de 2012.
- Decreto 3192 de 1983 [Ministerio de Salud y Protección Social]. Por el cual se reglamenta parcialmente el Título V de la Ley 9 de 1979, en lo referente a fábricas de alcohol y bebidas alcohólicas, elaboración, hidratación, envase, distribución, exportación, importación y venta de estos productos y se establecen mecanismos de control en el territorio nacional. 21 de noviembre de 1983.
- 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>
- DUS 2037: 2018. *Draft Uganda Standard Kombucha Specification*. Comité de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias. Primera edición [Archivo PDF]. https://members.wto.org/crnattachments/2018/SPS/UGA/18_5342_00_e.pdf
- Emiljanowicz, K. E., & Malinowska-Pańczyk, E. (2020). Kombucha from alternative raw materials – The review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(19), 3185–3194. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1679714>
- Espinosa Manfugás, J. (2007). *Evaluación sensorial de los alimentos*. Editorial Universitaria. La Habana, Cuba.
- Fabricio, M. F., Mann, M. B., Kothe, C. I., Frazzon, J., Tischer, B., Flôres, S. H., & Ayub, M. A. Z. (2022). Effect of freeze-dried kombucha culture on microbial composition and assessment of metabolic dynamics during fermentation. *Food Microbiology*, 101, 103889. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103889>
- FAO. (1992). *Manuales para el control de calidad de los alimentos* [Archivo PDF]. <https://www.fao.org/3/t0451s/t0451s.pdf>
- FAO. (2002). *Sistemas de calidad e inocuidad de los alimentos*. Manual de capacitación sobre higiene de los alimentos y sobre el sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (APPCC). <https://www.fao.org/3/w8088s/w8088s.pdf>
- Fuentes Navarro, S. E. (2006). *Optimización del proceso de fabricación de azúcar blanca para mejorar la calidad, en el ingenio Santa Teresa S.A.* [Tesis de pregrado, Universidad de San

- Carlos de Guatemala]. Biblioteca USAC.
http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1579_IN.pdf
- García Ahued, M. (2014). Análisis sensorial de alimentos. *PADI Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías Del ICBI*, 2(3). <https://doi.org/10.29057/icbi.v2i3.533>
- Gehisy. (2017). Hoja de verificación o de chequeo. *Calidad y ADR*. [<https://aprendiendocalidadyadr.com/hoja-de-verificacion-o-de-chequeo/>]
- Granda Castro, B. y Estupiñán Huila, L. (2019). *Estudio de factibilidad para la elaboración de una bebida tipo kombucha a base de té de guayusa (Ilex guayusa)* [Tesis de pregrado, Universidad de Guayaquil]. Repositorio institucional de la Universidad de Guayaquil. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/46806>
- Guarnizo, A. (2009). *Experimentos de Química Orgánica con enfoque en ciencias de la vida*, Elizcom S.A.S., Pág. 57 - 64.
- INVIMA. (2020). *Alerta sanitaria*. Actualización Alerta No. 024-2020 - Alimentos que se comercializan en Colombia y que contienen la expresión kombucha. Minsalud. Bogotá, Colombia [Archivo PDF].
- 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., Malbaša, R. v., & Sathishkumar, M. (2017). Kombucha Tea: Metabolites. In *Fungal Metabolites* (pp. 965–978). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-25001-4_12
- 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>
- Kallel, L., Desseaux, V., Hamdi, M., Stocker, P., & Ajandouz, E. H. (2012). Insights into the fermentation biochemistry of Kombucha teas and potential impacts of Kombucha drinking on starch digestion. *Food Research International*, 49(1), 226–232. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.018>
- Kendall, K. y Kendall, J. (2005). *Análisis y diseño de sistemas* (A. Núñez, Trad.; sexta ed.). Editorial Pearson Education. (Trabajo original publicado en 1997).
- Kombucha Brewers International (KBI). (2022). *Kombucha Brewers International*. Official website. <https://kombuchabrewers.org/>
- Kombucha Brewers International (KBI). (2020). *Kombucha Brewers International response to INVIMA from Colombia*. Official website. <https://kombuchabrewers.org/kombuchabrewers-international-response-to-invima-of-colombia/>
- 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>
- Lagunas, M. y Vega, L. (2013). *Manual de prácticas de laboratorio bacteriología y micología* (Primera Edición). Universidad Autónoma del Estado de México. 7-11.
- La jaguara. (2022). *Scoby kombucha*. <https://Kombuchalajaguara.Com/Producto/Scoby/>.
- 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>
- Leonarski, E., Cesca, K., Zanella, E., Stambuk, B. U., de Oliveira, D. & Poletto, P. (2021). Production of kombucha-like beverage and bacterial cellulose by acerola byproduct as raw material. *LWT*, 135, 110075. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110075>
- López Luengo, M. T. (2002). Fitoterapia. El té verde. *Offarm*, 21(5), 129-132.
- López, L., Hernández, M., Colín, C., Ortega, S., Cerón, G. y Cendejas, R. (2014). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. 3(1), 10-18.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap P. V. y Clarck, D. (2009). *Brock, biología de los microorganismos* (12 edición). Pearson Educación. Capítulo 6, pp. 189.
- Mahecha Latorre, G. (1985). *Evaluación sensorial en control de calidad de alimentos procesados*. Universidad Nacional de Colombia. 66-67.
- 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>
- Martini, N. (2018). Potion or Poison? Kombucha. *Journal of Primary Health Care*, 10(1), 93. <https://doi.org/10.1071/HC15930>
- Mesa baja. (2022). *Panela orgánica pulverizada*. <https://www.mesabaja.com/panela-orgánica>.
- Microgen. (2022). *Agar Mac conkey*. <https://www.microgenltda.com.co/producto/proveedor-colombia-de-agar-mac-conkey/>.
- Microgen. (2022). *Agar Nutritivo*. <https://www.microgenltda.com.co/producto/para-laboratorios-colombia-agar-nutritivo/>.
- Microgen. (2022). *Agar Papa Dextrosa*. <https://www.microgenltda.com.co/producto/proveedor-de-agar-papa-dextrosa/>.
- Microgen. (2022). *Agar Saboraud con Cloranfenicol*. <https://www.microgenltda.com.co/producto/agar-saboraud-cloranfenicol/>.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2021). *Cadena de passifloras. Indicadores e instrumentos: Primer trimestre 2021* [Archivo PDF]. <https://sioc.minagricultura.gov.co/Pasifloras/Documentos/2021-03-31%20Cifras%20Sectoriales.pdf>
- Montealegre Pérez, A., Suárez Leiton, J. y Tauta Posada, J. (2017). *Aprovechamiento de la cholupa en mixología molecular* [Trabajo de Grado para optar al título de Tecnólogo en Gastronomía, Universitaria Agustiniiana]. Bogotá, D. C.
- Morales, D. (2020). Biological activities of kombucha beverages: The need of clinical evidence. *Trends in Food Science & Technology*, 105, 323–333. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.025>
- Morales Chicaiza, L. A. (2014). *Desarrollo, elaboración y optimización bromatológica de una bebida de té negro fermentada a base de Manchurian Fungus (kombucha) y evaluación de su actividad como potencial alimento funcional* [Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Repositorio Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/3422>
- Neffe-Skocińska, K., Sionek, B., Ścibisz, I. & Kołożyn-Krajewska, D. (2017). Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. *CyTA - Journal of Food*, 15(4), 601–607. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1321588>

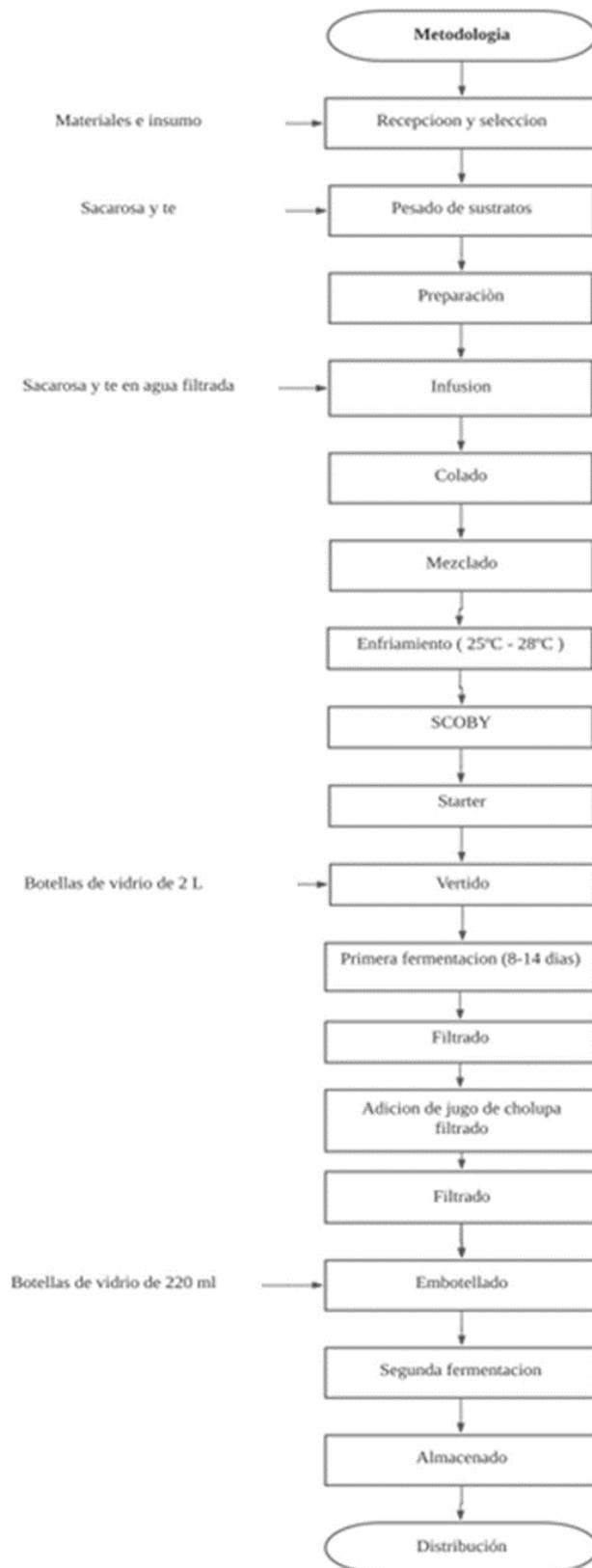
- Norma técnica Colombiana 4092 (NTC 4092) [Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación]. (2016). Microbiología de alimentos y productos para alimentación animal. Requisitos generales y directrices para análisis microbiológicos. Bogotá, D. C.
- Norma técnica Colombiana 4519 (NTC 4519) [Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación]. (2009). Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. método horizontal para el recuento de microorganismos. técnica de recuento de colonias a 30 °c. Bogotá, D. C.
- Norma técnica Colombiana 4458 (NTC 4458) [Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación]. (2018). Microbiología de alimentos y de alimentos para animales. método horizontal para el recuento de coliformes o *escherichia coli* o ambos. técnica de recuento de colonias utilizando medios fluorogénicos o cromogénicos. Bogotá, D. C.
- Norma técnica Colombiana 5698 (NTC 5698) [Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación]. (2009). Microbiología de alimentos y alimentos para animales. Método horizontal para la enumeración de mohos y levaduras. Parte 1: técnica de recuento de colonias en productos con actividad acuosa (aw) superior a 0,95. Bogotá, D. C.
- Norma técnica Colombiana 4779 (NTC 4779) [Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación]. (2007). Microbiología de alimentos y alimentos para animales. método horizontal para el recuento de estafilococos coagulasa positiva (*staphylococcus aureus* y otras especies). Bogotá, D. C.
- Norma técnica Colombiana 4574 (NTC 4574) [Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación]. (2007). Microbiología de alimentos y de alimentos para animales. método horizontal para la detección de *salmonella* spp.. Bogotá, D. C.
- Norma técnica Colombiana 5468 (NTC 5468) [Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación]. (2012). Jugo (zumo), pulpa, néctar de frutas y sus concentrados. Bogotá, D. C.
- Nummer, B. A. (2013). SPECIAL REPORT: Kombucha Brewing Under the Food and Drug Administration Model *Food Code*: Risk Analysis and Processing Guidance. *Journal of Environmental Health*, 76(4), 8–11. <http://www.jstor.org/stable/26329709>
- Obando, P. (2010). *La panela, valor nutricional y su importancia en la gastronomía* [Tesina de grado de tecnología, Universidad Técnica del Norte]. Repositorio UTN. <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/2247/2/ARTICULO%20CIENTIFICO%20PANELA.pdf>
- Ocampo, J. A., Rodríguez, A., Puentes, A., Molano, Z. y Parra, M. (2015). El cultivo de la cholupa (*Passiflora maliformis* L.): una alternativa para la fruticultura colombiana. Corporación Centro de Desarrollo Tecnológico de las Pasifloras de Colombia [Corporación Cepass]. Neiva-Huila, Colombia.
- Ortiz, A., Reuto, J., Fajardo, E., Sarmiento, S., Aguirre, A., Arbeláez, G., Gómez, D. y Quevedo, B. (2008). Evaluación de la capacidad probiótica “in vitro” de una cepa nativa de *Saccharomyces cerevisiae*. *Universitas Scientiarum*, 13(2), 138-148. <https://www.redalyc.org/pdf/499/49913205.pdf>
- Ota, M., & Yokoyama, M. (2010). Chemistry of Cosmetics. In *Comprehensive Natural Products II* (pp. 317–349). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-008045382-8.00728-0>
- Pinillos, M.A., Gómez, J., Elizalde, J., y Dueñas, A. (2003). Intoxicación por alimentos, plantas y setas. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 26(Supl. 1), 243-263. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272003000200015&lng=es&tlng=es.

- Pérez, M. y Mota, M. (2008). *Morfología y estructura bacteriana*. Bacteriología y virología médica, 48-60.
- Postobón. (2022). *Botellón de agua cristal*. <https://Www.Postobon.Com/Contenido/Cristal>.
- Providencia. (2022). *Azúcar Orgánica Morena*. <https://Www.Providenciaco.Com/Es/Producto/Providencia-Azucar-Organica-Morena/>.
- Providencia. (2022). *Providencia Azúcar Orgánica*. https://Www.Providenciaco.Com/Es/Producto/Providencia_azucar-Organica/.
- Ramírez Solarte, H., Cuastumal Riascos, R., Verdugo González, L. y Coral Medina, J. (2021). Análisis y producción de una bebida kombucha (*manchurian fungus*) con sustratos de té y panela. *Boletín Informativo CEI*, 8(1), 196–197. <https://revistas.umariana.edu.co/index.php/BoletinInformativoCEI/article/view/2582>
- Resolución 43536 de 2007 [Superintendencia de industria y comercio]. Por la cual se declara la protección de una denominación de origen. 21 de diciembre de 2007.
- Resolución 3929 de 2013 [Ministerio de Salud y Protección Social]. Por la cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios que deben cumplir las frutas y las bebidas con adición de jugo (zumo) o pulpa de fruta o concentrados de fruta, clarificados o no, o la mezcla de éstos que se procesen, empaquen, transporten, importen y comercialicen en el territorio nacional. 2 de octubre de 2013.
- Roberts, E. A. H. (1958). The phenolic substances of manufactured tea. II. — Their origin as enzymic oxidation products in fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 9(4), 212–216. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740090405>
- Rodríguez, P. y Arenas, R. (2018). Hans Christian Gram y su tinción. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*, 16(2), 166-167.
- Rodríguez, A., Chamorro, F., Calderón, L., Pinilla, M. S., Henao, M., Ospina, R. y Nates, G. (2015). *Polinización por abejas en cultivos promisorios de Colombia*. Universidad Nacional de Colombia.
- Rojas, A. (2011). *Conceptos y práctica de microbiología general*. Palmira, Universidad Nacional de Colombia.
- Sabogal Palma, A. C., Chávez M, J., Oliveros Gómez, D. F., Murillo Perea, E. y Méndez Arteaga, J. J. (2016). Funcionalidades biológicas de *Passiflora maliformis* del sur macizo colombiano. *Bioagro*, 28(1), 003-012. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612016000100001&lng=es&tlng=es.
- Sapag Chain, N., Sapag Puelma, J. M. y Sapag Chain, R. (2014). *Preparación y evaluación de proyectos*. McGraw-Hill. <https://www-ebooks7-24-com.usco.basesdedatosezproxy.com/?il=752>
- Silva Júnior, J. C. da, Magnani, M., Almeida da Costa, W. K., Madruga, M. S., Souza Olegário, L., da Silva Campelo Borges, G., Macedo Dantas, A., Lima, M. dos S., de Lima, L. C., de Lima Brito, I. & Tribuzy de Magalhães Cordeiro, A. M. (2021). Traditional and flavored kombuchas with pitanga and umbu-cajá pulps: Chemical properties, antioxidants, and bioactive compounds. *Food Bioscience*, 44, 101380. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101380>
- Solano, E., Pérez, E & Tomás, F. (1991). *Prácticas de laboratorio de química orgánica*, EDITUM, Pág. 47 - 52. https://books.google.com.co/books?id=LkuQQuUHnIsC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbv_ViewAPI&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false

- Superintendencia de Industria y Comercio. (2007). Superindustria delega la facultad de autorizar uso de la Denominación de Origen para la Cholupa y el Bizcocho de Achira del Huila. <https://www.sic.gov.co/noticias/superindustria-delega-la-facultad-de-autorizar-uso-de-la-denominacion-de-origen-para-la-cholupa-y-el-bizcocho-de-achira-del-huila>
- Vargas Mora, F. J. (2011). *Elaboración de una bebida refrescante fermentando la simbiosis kombucha con el objeto de mejorar la calidad de vida de los consumidores de bebidas no alcohólicas* [Trabajo de grado, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio Universidad Técnica de Ambato. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/1759>
- Technological networks. (2020). *Tinción de Gram*. [Http://www.News-Courier.Com/Immunology/Articles/Gram-Positive-vs-Gram-Negative-323007?WebShieldDRSessionVerify=6gtd9ABiUhlFUekh7NTT](http://www.news-courier.com/immunology/articles/gram-positive-vs-gram-negative-323007?WebShieldDRSessionVerify=6gtd9ABiUhlFUekh7NTT).
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Hawkins Byrne, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6–7), 669–675. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>
- Tu agro. (2022). *Cholupa pura vida*. <https://tuagro.com/producto/cholupa/>.
- UNSAM. (2010). *Equilibrio ácido - base*. [Http://www.Unsam.Edu.Ar/Escuelas/Ciencia/Alumnos/TP%20N4%20ac-Base.Pdf](http://www.unsam.edu.ar/escuelas/ciencia/alumnos/TP%20N4%20ac-Base.Pdf).
- Villamar Mota, M. A. (2021). *Evaluación de la capacidad antioxidante y conteo de probióticos de una bebida kombucha (manchurian fungus) elaborada con jackfruit (artocarpus heterophyllus)* [Trabajo experimental de pregrado, Universidad Agraria del Ecuador]. Repositorio Universidad Agraria. [https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/VILLAMAR%20MOTA%20MICHELLE%20AND REA.pdf](https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/VILLAMAR%20MOTA%20MICHELLE%20AND%20REA.pdf)
- Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J.-P., Renard, T., Rollan, S. & Taillandier, P. (2019). Impact of fermentation conditions on the production of bioactive compounds with anticancer, anti-inflammatory and antioxidant properties in kombucha tea extracts. *Process Biochemistry*, 83, 44–54. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.05.004>
- Vitas, J. S., Cvetanović, A. D., Mašković, P. Z., Švarc-Gajić, J. v., & Malbaša, R. V. (2018). Chemical composition and biological activity of novel types of kombucha beverages with yarrow. *Journal of Functional Foods*, 44, 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.019>
- 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>

ANEXOS

Anexo A. Diagrama de flujo para la producción de la bebida fermentada “kombucha de cholupa”



Anexo B. Ficha técnica de SCOBY utilizado en el proceso de elaboración de kombucha

<p>THE happy HERBALIST</p> <p>516 Alliance Cir, Cary, NC 27519-5560 - EEUU Tel: +1 919-518-3336 cel/texto +1 888-730-3155 https://www.happyherbalist.com/ happyherbalist@me.com eddy@HappyHerbalist.com</p>	<p>FICHA TÉCNICA: Cultivo iniciador de Kombucha <i>Saccharomyces Boulardii</i> CONFIDENCIAL</p> <p>Fecha: Febrero de 2020 Elaborado por: Ed Kasper, para su cliente: Paula Andrea Montes Covelli (St. Agnes Brewing Co) TAX ID: 52.996.933-1. Bogotá – Colombia fantastickombucha@gmail.com</p> <p>Para la consideración de la kombucha como alimento por la SEABA (INVIMA)</p>	<p>[FIRMADO]</p>
--	---	------------------

Nombre del Producto:	Cultivo SCOBY* iniciador puro de kombucha de The Happy Herbalist. Kombucha orgánica completamente natural.
Descripción del producto:	<p>Un SCOBY / hongo grande, cremoso y suave de 6 pulgadas de diámetro y de ¼ de pulgada de espesor. Cultivo de hongo de kombucha <i>Saccharomyces Boulardii</i> (SCOBY) y té líquido iniciador.</p> <p>Garantizado para producir 1-2 galones de té saludable de hongo de kombucha por primera vez. Una fermentación típica de kombucha toma de 9-14 días en completarse. Una vez se haya establecido usted estará en camino para obtener un abastecimiento de té kombucha gratis de por vida. Simplemente agregue azúcar fresca, té y agua en cada ciclo.</p>
Compañía:	The Happy Herbalist's®
Imagen:	<p>Cultivo iniciador de Kombucha <i>Saccharomyces Boulardii</i> Resultados garantizados HappyHerbalist.com</p> <p>[IMAGEN]</p> <p>Probiótico destacado para mejorar la digestión y aumentar la energía</p>
Presentación:	Bolsa industrial sellada que contiene el cultivo de kombucha de <i>Saccharomyces Boulardii</i> (SCOBY) junto con el té líquido iniciador. La bolsa sellada está dentro de una caja sellada.
Condiciones de conservación:	Mantener por debajo de 35°C de temperatura y nunca expuesto a la luz del sol o a la humedad.
Composición:	<p>Nuestro cultivo específico es 49% <i>Saccharomyces Boulardii</i> (levadura) y 49% <i>Gluconacetobacter</i> (bacteria).</p> <p>Las demás posibles levaduras dentro del cultivo son: <i>Saccharomyces</i>, <i>Saccharomycodes</i>, <i>Schizosaccharomyces</i>, <i>Zygosaccharomyces</i>, <i>Brettanomyces</i>, <i>Candida</i>, <i>Torulospora</i>, <i>Koleckera</i>, <i>Pichia</i>, <i>Micotorula</i>, y <i>Micoderma</i>.</p> <p>Las demás posibles bacterias dentro del cultivo son: <i>Acetobacter</i> y <i>Lactobacilo</i>.</p>
Especificaciones de <i>Gluconacetobacter</i> y <i>Saccharomyces Boulardii</i>:	<i>Gluconacetobacter</i> : Nuestro cultivo de kombucha se fermenta específicamente con las especies de bacteria <i>Gluconacetobacter</i> y <i>Acetobacter</i> . Estas bacterias producen ácido acético. Las <i>Gluconacetobacter</i> son unas de las pocas bacterias que convierten el alcohol producido por las levaduras en ácido acético y en ácido gluconico. De acuerdo con la ardua investigación de Michael Roussin,



Firma/Signature:
Fecha/Date:
Mar 4 2020

Anexo C. Formulario de evaluación de los factores de calidad de la kombucha de cholupa.

**ANÁLISIS SENSORIAL
UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

FORMULARIO DE EVALUACIÓN DE LOS FACTORES DE CALIDAD DE LA KOMBUCHA DE CHOLUPA

NOMBRE DEL EVALUADOR _____ Fecha: _____

Instrucciones. Califique cada una de las muestras según los valores de los factores de calidad establecidos a la izquierda. El puntaje máximo corresponde a la máxima calidad.

FACTOR DE CALIDAD	Puntaje máximo	Muestras					
		6224	3500	3831	5590	3749	6934
COLOR	4						
AROMA Y SABOR	8						
AUSENCIA DE DEFECTOS	4						
CUERPO Y CONSISTENCIA	4						
TOTAL	20						

Nota: Enjuáguese la boca con agua antes de probar cada muestra.

OBSERVACIONES

--	--

Puntaje de los factores de calidad de la kombucha de cholupa:

COLOR:

4	Anaranjado, amarillo, matizado.
3	Ligeramente claro, opaco o pardo.
0-2	No característico de la fruta.

AROMA Y SABOR:

8	Característico del té y la fruta, ácida con un ligero sabor dulce
4-6	Muy dulce, astringente, oxidado.
0-2	Muy avinagrada.

AUSENCIA DE DEFECTOS:

4	Libre de sustancias extrañas como: semillas, hojas, etc.
0-2	Con semillas u hojas, residuos de SCOBY.

CUERPO Y CONSISTENCIA:

4	Homogénea.
3	Muy espesa o muy clara.
0-2	No homogénea, pastosa, babosa.

Anexo D. Formulario del grado de satisfacción de la kombucha de cholupa.

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

FORMULARIO DE EVALUACIÓN SENSORIAL HEDÓNICA DE KOMBUCHA DE CHOLUPA

Nombre del evaluador _____ Fecha _____

Instrucciones. Escriba el puntaje de acuerdo con su evaluación realizada teniendo en cuenta los atributos de cada muestra, se le presentan 6 muestras codificadas de kombucha de cholupa y un vaso con agua. Siga un orden de izquierda a derecha. El puntaje tiene un rango de 1 a 9 según el grado de satisfacción al consumir el producto.

MUESTRAS	ATRIBUTOS				
	Color	Sabor	Consistencia	Aroma	Apariencia general
6224					
3500					
3831					
5590					
3749					
6934					

Nota: Enjuáguese la boca con agua antes de probar cada muestra.

OBSERVACIONES

--

Puntajes de acuerdo con el rango de aceptación:

CATEGORÍA	PUNTAJE
Me disgusta extremadamente	1
Me disgusta mucho	2
Me disgusta moderadamente	3
Me disgusta poco	4
Ni me gusta ni me disgusta	5
Me gusta poco	6
Me gusta moderadamente	7
Me gusta mucho	8
Me gusta extremadamente.	9

Anexo E. Certificados de análisis de medios de cultivo utilizados para siembra

❖ Certificado de análisis de Agar macconkey.

		MICROGEN LTDA		Código: FQ54				
		CERTIFICADO DE ANÁLISIS 2		Versión: 2 Fecha: febrero 10 de 2022				
NOMBRE DEL PRODUCTO:		Agar Mac Conkey						
REFERENCIA DEL PRODUCTO:		0411-AM						
FABRICANTE DEL PRODUCTO:		MICROGEN - LABG&M						
LOTE:		374-22						
TAMAÑO DE LOTE:		480 Placas	PRESENTACIÓN:	Caja x 10 Unidades				
REGISTRO INVIMA:		2013RD-0002697						
FECHA DE FABRICACIÓN:		Mayo 13 de 2022						
FECHA DE VENCIMIENTO:		Agosto 13 de 2022						
NORMAS DE REFERENCIA:		ISO 11130						
FECHA DE EXPEDICIÓN DEL CERTIFICADO:		Mayo 18 de 2022						
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYOS INTERNOS:		Mayo 14 de 2022						
CONTROL MACROSCÓPICO (CONTROL INTERNO)								
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS:								
Aspecto:		Semisólido						
Color:		Rosa						
pH Medio Preparado:		7,2						
CONTROL DE ESTERILIDAD (CONTROL INTERNO)								
PRUEBA DE ESTERILIDAD:		24 H	48 H	72 H	96 H	120 H		
		Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo		
EFFECTIVIDAD (CRECIMIENTO)								
								
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO INTERNO O EXTERNO:		Mayo 17 de 2022						
PRUEBA DE EFECTIVIDAD					(Marque con una X)			
					INTERNO	X	EXTERNO	
ENSAYO	CEPA UTILIZADA	ATCC	DILUCIÓN	ESTANDAR	RESULTADO	CRECIMIENTO		
Productividad	E. coli	8757	1/1000	≥ 50 UFC	140 UFC	Colonias medianas rosadas con precipitado alrededor de la colonia		
Productividad	K. Pneumoniae	700603	1/1000	≥ 50 UFC	130 UFC	Colonias grandes rosadas mucoides características de la cepa		
Productividad	E. faecalis	29212	Do: Log ₁₀ 5,0 Ds: Log ₁₀ 3,0	SF: ≥2	SF = 4	Inhibición total		
PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS DE CONFORMIDAD DEL LOTE:		El Agar Mac Conkey cumple con las características de crecimiento exigidos por la ISO 11133, numeral 7.2.2.1.1, microbiology of food, animal feed and water - preparation, production, storage and performance testing of culture media.						
CONCEPTO DE CALIDAD DEL LOTE								
Conversiones: C: cumple / NC: no cumple				LIBERADO:		C: Mayo 18 de 2022		
Directora de Producción				Director Técnico				
Nombre: Adriana Hosman	Firma: 			Nombre: Paola Andrea Ossa	Firma: 			
T.P.:	1014245362			T.P.:	52529944			
OBSERVACIONES								
El Agar Mac Conkey cumple con las características de crecimiento exigidos por la ISO 11133.								
ELABORÓ		REVISÓ		APROBÓ				
Director de Calidad		Gerente General		Dr. Técnico de DM		Dr. Técnico de RDIV		
								

❖ Certificado de análisis de Agar nutritivo.

MICROGEN		MICROGEN LTDA		Código: FGS4		
		CERTIFICADO DE ANÁLISIS 2		Versión: 2		
				Fecha: febrero 10 de 2022		
NOMBRE DEL PRODUCTO:		Agar Nutritivo				
REFERENCIA DEL PRODUCTO:		D426-AN				
FABRICANTE DEL PRODUCTO:		MICROGEN LTDA - LAB&M				
LOTE:		347-22				
TAMAÑO DE LOTE:		400 Placas	PRESENTACIÓN:		Caja x 10 Unidades	
REGISTRO INVIMA:		2014RD-0003062				
FECHA DE FABRICACIÓN:		Mayo 05 de 2022				
FECHA DE VENCIMIENTO:		Agosto 05 de 2022				
NORMAS DE REFERENCIA:		ISO 11133				
FECHA DE EXPEDICIÓN DEL CERTIFICADO:		Mayo 09 de 2022				
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYOS INTERNOS:		Mayo 08 de 2022				
CONTROL MACROSCÓPICO (CONTROL INTERNO)						
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS:						
Aspecto:		Semi-sólido				
Color:		Almendra pálido				
pH Medio Preparado:		7,4				
CONTROL DE ESTERILIDAD (CONTROL INTERNO)						
PRUEBA DE ESTERILIDAD:		24 H	48 H	72 H	96 H	120 H
		Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
EFECTIVIDAD (CRECIMIENTO)						
						
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO INTERNO O EXTERNO:		Mayo 07 de 2022				
PRUEBA DE EFECTIVIDAD					(Marque con una X)	
					INTERNO	EXTERNO
ENSAYO		CEPA UTILIZADA	ATCC	DILUCIÓN	ESTANDAR	RESULTADO
Productividad		E. coli	29522	1/1000	≥ 50 UFC	120 UFC Colonias medianas morfología característica de la cepa
Productividad					≥ 50 UFC	150 UFC Colonias medianas, morfología característica de la cepa
PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS DE CONFORMIDAD DEL LOTE:		El Agar Nutritivo cumple con las características de crecimiento exigidas por la ISO 11133, numeral 7.2.2.1.1, microbiology of food, animal feed and water - preparation, production, storage and performance testing of culture media.				
CONCEPTO DE CALIDAD DEL LOTE						
Conversiones: C: cumple / NC: no cumple			LIBERADO:		C: Mayo 09 de 2022	
Directora de Producción			Director Técnico			
Nombre: Adriana Hosman	Firma: 		Nombre: Paolo Andres Ossa	Firma: 		
T.P.:	1014245362		T.P.:	52529944		
OBSERVACIONES						
ELABORÓ		REVISÓ		APROBÓ		
Director de Calidad		Gerente General		Dr. Técnico de DM		
						
				Dr. Técnico de PDV		
						

❖ Certificado de análisis de Agar papa dextrosa.

MICROGEN	MICROGEN LTDA	Código: FQ54			
	CERTIFICADO DE ANÁLISIS 2	Versión: 2 Fecha: febrero 10 de 2022			

NOMBRE DEL PRODUCTO:	AGAR PAPA DEXTROSA				
REFERENCIA DEL PRODUCTO:	O436				
FABRICANTE DEL PRODUCTO:	MICROGEN - LABG&M				
LOTE:	325-22				
TAMAÑO DE LOTE:	440 PLACAS	PRESENTACIÓN:	CAJA X 100 UNIDADES		
REGISTRO INVIMA:	2019RD-0005335				
FECHA DE FABRICACIÓN:	Abril 27 de 2022				
FECHA DE VENCIMIENTO:	Agosto 27 de 2022				
NORMAS DE REFERENCIA:	ISO 11133				
FECHA DE EXPEDICIÓN DEL CERTIFICADO:	Abril 30 de 2022				

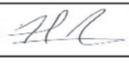
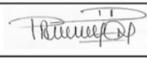
FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYOS INTERNOS:	Abril 28 de 2022				
CONTROL MACROSCÓPICO (CONTROL INTERNO)					
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS:					
Aspecto:	Semi-sólido				
Color:	Almedra claro				
pH Medio Preparado:	5,7				

CONTROL DE ESTERILIDAD (CONTROL INTERNO)					
PRUEBA DE ESTERILIDAD:	24 H	48 H	72 H	96 H	120 H
	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

EFECTIVIDAD (CRECIMIENTO)					
					

FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO INTERNO O EXTERNO:	Abril 28 de 2022						
PRUEBA DE EFECTIVIDAD					(Marque con una X)		
					INTERNO	X	EXTERNO
ENSAYO	CEPA UTILIZADA	ATCC	DILUCIÓN	ESTANDAR	RESULTADO	CRECIMIENTO	
Productividad	Candida albicans	14083	1/100	≥ 50 UFC	170 UFC	Colonias medianas, cremosas característica de la cepa	
Productividad	E. Coli	25922	Do: Log ₁₀ 4 Ds: Log ₁₀ 3	SF ≥ 1	SF=3	Inhibición total	

PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS DE CONFORMIDAD DEL LOTE:	El Agar Papa Dextrosa producido por Microgen Ltda, cumple con las características de crecimiento exigidos por la ISO 11133, numeral 7.2.2.1.1, microbiology of food, animal feed and water - preparation, production, storage and performance testing of culture media.
---	---

CONCEPTO DE CALIDAD DEL LOTE			
Conversiones: C: cumple / NC: no cumple		LIBERADO:	
Directora de Producción		CUMPLE/MAYO 02 DE 2022	
Nombre: Dra. Adriana Hosman.	Firma: 	Nombre: Dra. Paola Andrea Ossa M.	Firma: 
T.P.:	1014245362	T.P.:	52529944

OBSERVACIONES	
El Agar Papa Dextrosa producido por Microgen Ltda, cumple con las características de crecimiento exigidos por la ISO 11133	

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ	
Director de Calidad	Gerente General	Dr. Técnico de DM	Dr. Técnico de RD/IV
			

Anexo F. Fundamento de los medios de cultivo utilizados

Medio de cultivo	Fundamento
<p data-bbox="342 359 509 390">Agar nutritivo</p> 	<p data-bbox="678 338 1528 541">Medio de cultivo utilizado para propósitos generales, para el aislamiento de microorganismos y recuento de microorganismos con escasos requerimientos nutricionales. Su uso está descrito en procedimientos para el análisis de alimentos, aguas y otros materiales de importancia sanitaria. (Microgen, 2022)</p>
<p data-bbox="326 604 526 636">Agar macconkey</p> 	<p data-bbox="672 636 1536 762">Este medio es para la recuperación e identificación de Gram negativos de fácil desarrollo, Enterobacteriácea, aerobios y anaerobios facultativos, permitiendo diferenciar bacterias que utilizan o no, lactosa (Microgen, 2022).</p>
<p data-bbox="250 827 602 858">Agar Sabouraud cloranfenicol</p> 	<p data-bbox="688 863 1520 995">Agar Sabouraud con Cloranfenicol es recomendado para el aislamiento selectivo de levaduras y hongos filamentosos (Dermatophytes y otros hongos) de muestras biológicas que presentan flora mixta fúngica y bacteriana (Microgen, 2022).</p>
<p data-bbox="217 1066 634 1129">Agar MRS (agar De Man, Rogosa y Sharpe)</p> 	<p data-bbox="727 1136 1479 1234">Apropiado para el aislamiento y recuento de lactobacilos y otras bacterias ácido-lácticas a partir de muestras clínicas y alimentos (especialmente productos lácteos) (Britanialab,2021).</p>
<p data-bbox="245 1360 607 1392">Agar dextrosa de patata (PDA)</p> 	<p data-bbox="678 1367 1528 1535">Utilizado en el aislamiento, cultivo y recuento de hongos y levaduras, de muestras lácteas y otros alimentos. Puede ser complementado con ácido o antibióticos para inhibir el crecimiento bacteriano. La base nutricionalmente rica (infusión de papa) fomenta un crecimiento de hongos y mohos muy abundante (Microgen, 2022).</p>
<p data-bbox="224 1602 630 1665">Agar Manitol-Sal Común-Rojo De Fenol</p> 	<p data-bbox="683 1640 1520 1835">Medio de cultivo selectivo y diferencial, utilizado para el aislamiento y diferenciación de estafilococos a partir de diversas muestras. Las bacterias que crecen en un medio con alta concentración de sal y fermentan el manitol, producen ácidos, con lo que se modifica el pH del medio y vira el indicador de pH del color rojo al amarillo. (Britania, 2021)</p>

Anexo G. Instrumento para el estudio de mercado de kombucha de cholupa

**INVESTIGACIÓN DEL MERCADO.
UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

Nombre: _____ **Fecha** _____

Con la siguiente encuesta se evidencia la viabilidad y evaluación del producto kombucha de cholupa

1. Indique su género.

- Femenino
- Masculino
- Otro

2. Para efectos estadísticos se requiere saber qué edad tiene usted. ¿Dentro de qué rango de edad se encuentra?

- Entre 15 y 19 años.
- Entre 20 y 24 años.
- Entre 25 y 39 años.
- Entre 40 y 54 años.
- Más de 54 años.

Responda las siguientes preguntas (3 a 10) de acuerdo con una escala de 1 a 5, donde 1 es nada probable y 5 es muy probable. Específicamente:

Puntaje	Categoría
1	Nada probable
2	Poco probable
3	Medianamente probable
4	Bastante Probable
5	Muy probable

3. ¿Consumo algún tipo de té?

	1	2	3	4	5	
Nada probable	<input type="radio"/>	Muy probable				

4. ¿Sabe usted que es la kombucha?

	1	2	3	4	5	
Nada probable	<input type="radio"/>	Muy probable				

5. La kombucha es una bebida de té fermentado, con múltiples beneficios para el bienestar del ser humano ¿le gustaría probarla? en caso tal de haberla ya consumido ¿le gusta este producto?

	1	2	3	4	5	
Nada probable	<input type="radio"/>	Muy probable				

6. ¿Sabe usted que es la cholupa?

	1	2	3	4	5	
Nada probable	<input type="radio"/>	Muy probable				

7. ¿Ha probado la cholupa?

	1	2	3	4	5	
Nada probable	<input type="radio"/>	Muy probable				

8. ¿Estaría dispuesto a consumir kombucha de cholupa?

	1	2	3	4	5	
Nada probable	<input type="radio"/>	Muy probable				

9. ¿Compraría el producto descrito anteriormente?

	1	2	3	4	5	
Nada probable	<input type="radio"/>	Muy probable				

10. Recomendaría la kombucha de cholupa

	1	2	3	4	5	
Nada probable	<input type="radio"/>	Muy probable				

11. En definitiva, ¿Le llama la atención la kombucha de cholupa?

- Sí
- No

12. ¿Qué características prefiere al comprar una bebida? Elija dos opciones

- Precio
- Cantidad
- Calidad
- Otro
- Empaque

13. ¿En cuál de los siguientes lugares le gustaría adquirir el producto?

- Supermercados
- Tiendas saludables
- Restaurantes
- Discotecas
- Gimnasios
- Todas las anteriores
- Tiendas de barrio
- Otro

14. ¿Qué presentación sería de su preferencia?

- 220 ml
- 1 L
- 330 ml
- Más de 1 L
- 480 ml

15. ¿Con qué frecuencia estaría dispuesto a consumir el producto?

- Diariamente
- Semanalmente
- Tres veces a la semana
- Una vez al mes

16. ¿Qué precio estaría dispuesto a pagar por una presentación de 220 ml del producto?

- Menos de \$10.000
- \$15.000 - \$20.000
- \$10.000 - \$15.000
- Más de \$20.000

Anexo H. Cálculo del diseño de tamaño de muestra

Cuanto más grande sea la población consultada, más fiables serán los datos obtenidos, lo ideal es llevar a cabo el estudio sobre toda la ciudadanía. Como esto no es posible, se selecciona un subconjunto de la sociedad, lo cual se conoce como muestra.

La muestra es una parte de la población seleccionada y tiene que ser válida, adecuada y representativa de la población en su totalidad. La fórmula para calcular el tamaño de muestra cuando se conoce el tamaño de la población es la siguiente:

$$n = \frac{N \times Z_{\alpha}^2 \times p \times q}{d^2 \times (N - 1) + Z_{\alpha}^2 \times p \times q}$$

Donde:

N = Tamaño de la población

Z_{α} = Nivel de confianza

p = Probabilidad de éxito, o proporción esperada

q = Probabilidad de fracaso

d = Precisión (error máximo admisible en términos de proporción)

❖ Cálculo efectuado para el tamaño de la muestra:

La población en Neiva, Huila es de 488.927 habitantes y aproximadamente el 22% corresponden a una población menor de 15 años de acuerdo con el DANE (Departamento Administrativo Nacional de Estadística). Por lo tanto, el tamaño de la población corresponde a 381363,06 hab.

De igual forma, se desconoce la proporción esperada, por lo tanto, se utiliza el criterio conservador ($p = q = 0.5$), lo cual maximiza el tamaño de muestra. En ese orden de ideas:

$Z_{\alpha} = 1,645$ (ya que la seguridad es del 90%, estos valores provienen de las tablas de la distribución normal Z)

p = proporción esperada (en este caso 50% = 0.5)

q = 1 – p (en este caso 1 – 0.5 = 0.5)

d = precisión (en este caso un 8%)

Dando como resultado:

$$n = \frac{381363,06 \times 1,645^2 \times 0,5 \times 0,5}{0,08^2 \times (381363,06 - 1) + 1,645^2 \times 0,5 \times 0,5} = 105,6750 \approx 106 \text{ personas}$$

Anexo I. Parámetros Normativos Importantes

❖ Código de prácticas de kombucha

El código de prácticas de kombucha son estándares de calidad establecidos por la KBI para la kombucha, Kombucha Brewers International representa marcas internacionales, pequeñas y grandes de kombucha, son una industria de la kombucha que asumen la responsabilidad de establecer estándares de calidad y ayudar a cumplir con dichos estándares, se dedica a proporcionar información precisa sobre la bebida, incluida la investigación pertinente sobre sus beneficios para la salud, métodos de producción y usos experimentales. A continuación, se detalla parte del código de prácticas de kombucha:

Especificaciones de Kombucha

La kombucha deberá estar prácticamente libre de contaminantes y cumplir con todos los requisitos reglamentarios para la alimentación humana. La kombucha no debe contener anguilas en vinagre ni moscas de la fruta.

Especificaciones de la kombucha, límites para contaminantes de metales pesados (Código de prácticas de kombucha)

Contaminante	Límite máximo	Método de prueba
Arsénico (As), mg/kg	0,05	EE. UU. ISO 6634
Plomo (Pb), mg/kg	0,05	EE. UU. ISO 6633
Mercurio (Hg), mg/kg	0,001	EE. UU. ISO 6637
Cadmio (Cd), mg/kg	0,003	EE. UU. ISO 6561-2

Nota. Recuperado de la página oficial de Kombucha Brewers International (2022).

Perfil Analítico de la Kombucha

Normas químicas de la kombucha (Código de prácticas de kombucha)

Sustancia	Fuente	Concentración	Rango	Comentarios
Alcohol (ETOH)	Producto terminado	De conformidad con las normativas locales Consulte para obtener detalles adicionales por país y región.	0.00-3.2% ABV	El etanol en la kombucha varía naturalmente de 0 a 3 % ABV
Acidez valorable Ácido acético	Producto terminado	Máx. 2,0 %	0.27-2.03%	
pH	Producto terminado	Máx. 3,8	2.2-3.8	Debe ser inferior a 4,6 para la seguridad alimentaria

Nota. Recuperado de la página oficial de Kombucha Brewers International (2022).

Estándares microbiológicos de la kombucha (Código de prácticas de kombucha)

Microflora	Fuente	Rango
Bacterias: bacterias del ácido acético (AAB) <ul style="list-style-type: none"> ❖ <i>Acetobacter spp</i> ❖ <i>Gluconacetobacter spp</i> ❖ <i>Komagataeibacter spp</i> 	SCOBY	AAB dominante (más del 50 %), también puede contener algunas bacterias del ácido láctico (LAB) en cantidades menos significativas.
Levadura: <ul style="list-style-type: none"> ❖ <i>Brettanomyces bruxellensis</i> ❖ <i>Saccharomyces spp</i> ❖ <i>Starmerella spp</i> ❖ <i>Zygosaccharomyces spp</i> ❖ Puede variar según la región 	SCOBY	La levadura varía según la región y contribuye al sabor y al contenido de etanol.

Nota. Recuperado de la página oficial de Kombucha Brewers International (2022).

❖ **Proyecto de Norma de Uganda**

DUS 2037 de 2018: Kombucha Specification

Requerimientos de calidad

Requisitos de calidad específicos de la kombucha (DUS 2037: 2018)

Características	Requerimientos		Método de prueba
	Kombucha no alcohólica	Kombucha alcohólica	
Contenido de alcohol, %, (v/v), máx.	0,5	0,5-15	US EAS 104
Acidez como ácido acético, g/L máx.	2		US ISO 1842
Acidez como ácido láctico, g/L máx.	4-15		US ISO 750
Azúcares totales por inversión, g/L máx.	50		US EAS 104

Nota. Recuperado del Proyecto de Norma de Uganda 2037 de 2018.

Contaminantes por metales pesados

El producto no deberá contener contaminantes de metales pesados que excedan los límites estipulados. Para el caso de la presente norma las especificaciones son iguales al Código de prácticas de Kombucha de KBI.

Higiene

Las bebidas de kombucha se producirán y manipularán de manera higiénica de acuerdo con US EAS 39 y deberán cumplir con los límites para contaminantes microbiológicos.

Límites microbiológicos para bebidas de Kombucha

Microorganismo	Límite Máximo	Método de prueba
Aerobios totales, UFC/ml	100	US ISO 4833-1
<i>Escherichia coli</i> , por 100 ml	Ausencia	US ISO 7251
Mohos y levaduras, UFC/ml	<10	US ISO 21527-1
<i>Staphylococcus aureus</i> , UFC/mL	Ausencia	US ISO 6888-1
<i>Salmonella</i>	Ausencia	US ISO 6579-1

Nota. Recuperado del Proyecto de Norma de Uganda 2037 de 2018.

❖ Normatividad nacional posiblemente aplicable

Decreto 1366 de 2020: Por el cual se establecen disposiciones para otorgar el registro sanitario de bebidas alcohólicas fabricadas y comercializadas por microempresarios y la certificación en buenas prácticas de manufactura.

Decreto 162 de 2021: Por medio del cual se modifica el Decreto 1686 de 2012.

Decreto 1686 de 2012: Por el cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios que se deben cumplir para la fabricación, elaboración, hidratación, envase, almacenamiento, distribución, transporte, comercialización, expendio, exportación e importación de bebidas alcohólicas destinadas para consumo humano.

Decreto 3192 de 1983: Por el cual se reglamenta parcialmente el Título V de la Ley 9 de 1979, en lo referente a fábricas de alcohol y bebidas alcohólicas, elaboración, hidratación, envase, distribución, exportación, importación y venta de estos productos y se establecen mecanismos de control en el territorio nacional.

Resolución 3929 de 2013: Por la cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios que deben cumplir las frutas y las bebidas con adición de jugo (zumo) o pulpa de fruta o concentrados de fruta, clarificados o no, o la mezcla de éstos que se procesen, empaquen, transporten, importen y comercialicen en el territorio nacional.

NTC 4092 de 2016: Proporciona los requisitos generales y las directrices/opciones destinadas a la implementación de las normas sobre microbiología de alimentos, lácteos y productos lácteos para la detección o enumeración de microorganismos.

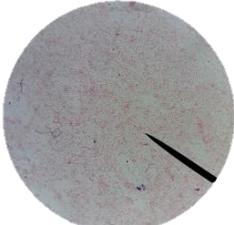
NTC 5468 de 2012: Establece los requisitos y los métodos de ensayo que deben cumplir los jugos (zumos), pulpas, néctares de frutas y sus concentrados, para consumo directo o elaboración ulterior.

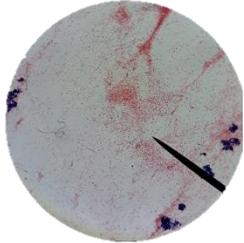
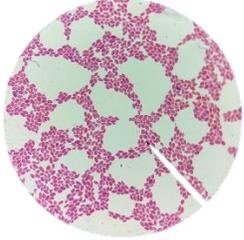
Anexo J. Caracterización de la materia prima.

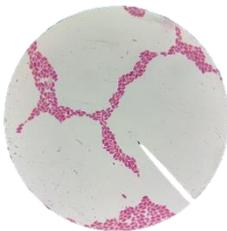
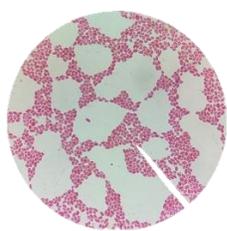
Marca	Producto	Descripción
<p>La Jaguara</p> 	<p>SCOBY</p> 	<p>SCOBY (siglas en inglés de Colonia Simbiótica de Bacterias y Levaduras) u hongo kombucha. Este tiene forma de torta gelatinosa y es capaz de transformar los polifenoles del té en otros compuestos orgánicos que evitan que se desarrollen otros microorganismos (La Jaguara, 2022).</p>
<p>Mesa baja agroindustrias S.A.S</p> 	<p>Panela orgánica pulverizada.</p> 	<p>Es un endulzante natural producido a partir de caña orgánica certificada. El producto orgánico cuenta con certificación EOS, USDA y Norma Nacional Ecológica Colombiana del MADR certificado por ECOCERT (Mesa baja, 2022).</p>
<p>Providencia</p> 	<p>Azúcar blanca orgánica.</p> 	<p>Es un producto mínimamente procesado que no contiene ingredientes artificiales o preservativos, siendo un alimento de alta calidad ya que se cultivan en tierra sana. Es un producto de alta calidad, saludable y con los mejores niveles de aceptación en el mercado nacional e internacional (Providencia, 2022).</p>
<p>Providencia</p> 	<p>Azúcar morena orgánica.</p> 	<p>Es un producto mínimamente procesado que no contiene ingredientes artificiales o preservativos, siendo un alimento de alta calidad ya que se cultivan en tierra sana. Es un producto de alta calidad, saludable y con los mejores niveles de aceptación en el mercado nacional e internacional (Providencia, 2022).</p>

<p>Bitaco</p> 	<p>Té Verde Orgánico Bitaco.</p> 	<p>Es un té de alta calidad, cosechado a mano en Colombia y 100% orgánico, clasificado como un té especial en hoja suelta (Bitaco, 2022).</p>
<p>Bitaco</p> 	<p>Té Negro Orgánico Bitaco.</p> 	<p>Es un té de alta calidad y el único cultivado en Colombia, cosechado a mano, clasificado como té especial en hoja suelta (Bitaco, 2022).</p>
<p>Tú agro</p>	<p>Cholupa.</p> 	<p>La cholupa es una fruta de forma ovalada, con una cáscara de color verde intenso o morada, y con tonos amarillos-anaranjados en su interior. En lo que respecta a sus cualidades organolépticas, la cholupa es de sabor dulce y ácido, recuerda al maracuyá; tiene un aroma fuerte, y su pulpa es suave y gelatinosa (Tu agro, 2022).</p>
<p>Postobón</p> 	<p>Botellón de agua cristal.</p> 	<p>Cristal es el agua embotellada más vendida en Colombia (Postobón, 2022).</p>

Anexo K. Resultados microbiológicos (reportes de 24 horas, 48 horas y 8 días)

24 horas						
A las 24 horas el único medio de cultivo que presento crecimiento fue el agar MacConkey (bajo crecimiento) específicamente en el T3 y solamente en la dilución 10^{-4} (21 colonias en el I cuadrante).						
48 horas						
Agar MacConkey						
Tratamientos	Dilución seriada	# de colonias formadas	Vista macroscópica		Vista microscópica	
			Descripción	Imagen	Descripción	Imagen
T1	10^{-4}	0	-	-	-	-
	10^{-5}	0	-	-	-	-
	10^{-6}	0	-	-	-	-
T2	10^{-4}	0	-	-	-	-
	10^{-5}	0	-	-	-	-
	10^{-6}	0	-	-	-	-
T3	10^{-4}	Incon table	F: puntiforme S: cerosa E: plana B: ondulado Bacteria no fermentadora de lactosa		Bacilos gramnegativos T: +	
	10^{-5}	-	-	-	-	-
	10^{-6}	-	-	-	-	-
T4	10^{-4}	0	-	-	-	-
	10^{-5}	0	-	-	-	-
	10^{-6}	0	-	-	-	-
T5	10^{-4}	0	-	-	-	-
	10^{-5}	0	-	-	-	-
	10^{-6}	0	-	-	-	-
T6	10^{-4}	0	-	-	-	-
	10^{-5}	0	-	-	-	-
	10^{-6}	0	-	-	-	-
Agar Nutritivo						
Tratamientos	Dilución seriada	# de colonias formadas	Vista macroscópica		Vista microscópica	
			Descripción	Imagen	Descripción	Imagen
T1	10^{-4}	0	-	-	-	-

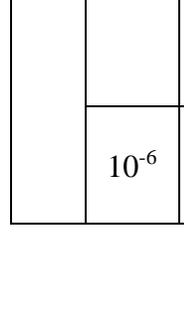
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T2	10 ⁻⁴	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T3	10 ⁻⁴	Incontable	F: fusiforme S: cerosa C: cremosa E: plana B: entero Pigmentos amarillos-rojizos.		Bacilos gram negativos T: + baja	
	10 ⁻⁵	Ausencia	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	Ausencia	-	-	-	-
T4	10 ⁻⁴	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T5	10 ⁻⁴	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T6	10 ⁻⁴	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
Agar MRS						
Tratamientos	Dilución seriada	# de colonias formadas	Vista macroscópica		Vista microscópica	
			Descripción	Imagen	Descripción	Imagen
T1	10 ⁻⁴	4	L: blanca F: circular S: cerosa C: cremosa E: convexa B: entero		Levaduras T: Negativa	
	10 ⁻⁵	1	Igual a la anterior			
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-

T2	10 ⁻⁴	4	L: blanca F: circular S: cerosa C: cremosa E: convexa B: entero		Levaduras T: Negativa	
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T3	10 ⁻⁴	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T4	10 ⁻⁴	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T5	10 ⁻⁴	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T6	10 ⁻⁴	1	L: blanca F: circular S: cerosa E: convexa B: entero		Levaduras T: Negativa	
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-

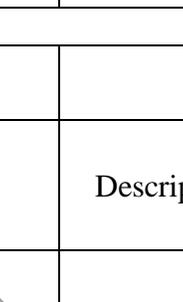
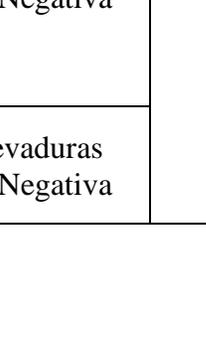
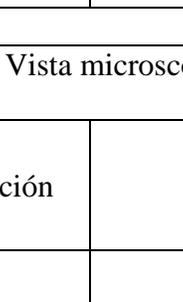
Observaciones generales: la misma levadura en los 3 casos.

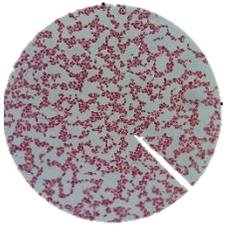
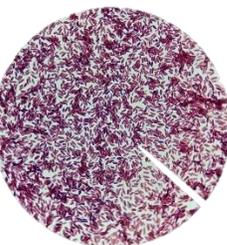
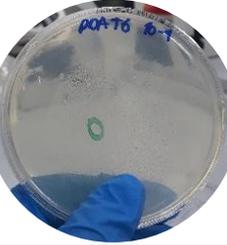
Agar Manitol

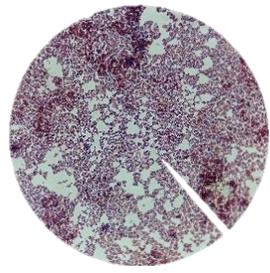
Tratamientos	Dilución seriada	# de colonias formadas	Vista macroscópica		Vista microscópica	
			Descripción	Imagen	Descripción	Imagen
T1	10 ⁻⁴	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T2	10 ⁻⁴	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-

T3	10 ⁻⁴	1	L: amarillo claro F: circular S: cerosa E: elevada B: entero Bacteria fermentadora de manitol		Cocos gram positivos en racimos	
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T4	10 ⁻⁴	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T5	10 ⁻⁴	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T6	10 ⁻⁴	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-

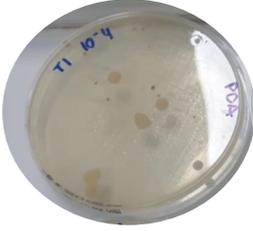
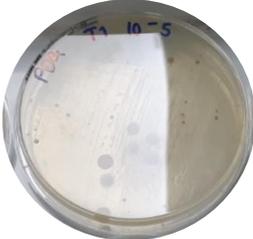
Agar PDA

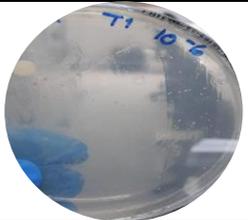
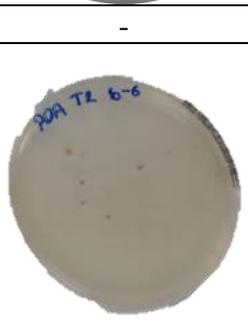
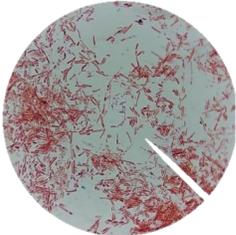
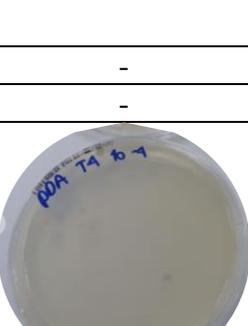
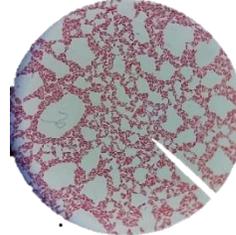
Tratamientos	Dilución seriada	# de colonias formadas	Vista macroscópica		Vista microscópica	
			Descripción	Imagen	Descripción	Imagen
T1	10 ⁻⁴	5 (grandes) 3 (muy pequeñas)	L: hueso F: circular S: cerosa C: cremosa E: convexa B: entero		Levaduras T: Negativa	
	10 ⁻⁵	4 (grandes) 5 (muy pequeñas)	Igual a la anterior		Levaduras T: Negativa	
	10 ⁻⁶	1	Igual a la anterior		Levaduras T: Negativa	

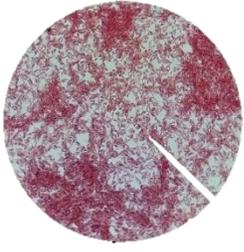
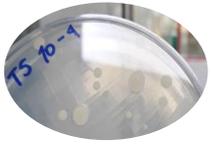
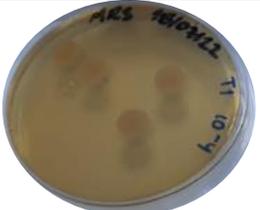
T2	10 ⁻⁴	5	L: hueso F: circular S: cerosa C: cremosa E: convexa B: entero		Levaduras T: Negativa	
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T3	10 ⁻⁴	1	L: hueso oscuro F: circular S: cerosa C: cremosa E: convexa B: entero		Levaduras (de forma alargada) T: Negativa	
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T4	10 ⁻⁴	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T5	10 ⁻⁴	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T6	10 ⁻⁴	6 (muy peque ñas)	L: blanca F: circular S: cerosa C: cremosa E: elevada B: entero		Levaduras (de forma alargada) T: Negativa	
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
8 días						
Para los tratamientos sin crecimiento se realizó una verificación a los 8 días tras incubación en las mismas condiciones. Para los 8 días se observan mejor las formas y en algunos casos se evidencia crecimiento. El agar MacConkey permanece igual.						
Agar Manitol						
Tratamientos	Dilución seriada	# de colonias formadas	Vista macroscópica		Vista microscópica	
			Descripción	Imagen	Descripción	Imagen
T1	10 ⁻⁴	-	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	-	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	-	-	-	-	-

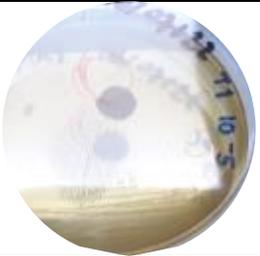
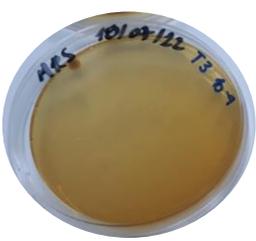
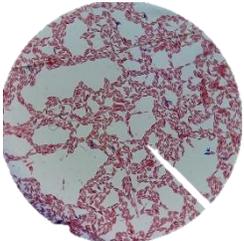
T2	10 ⁻⁴	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T3	10 ⁻⁴	2	L: amarillo claro F: circular S: cerosa B: ondulado Bacteria fermentadora de manitol		Cocos gran positivos en racimos T: +	
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T4	10 ⁻⁴	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T5	10 ⁻⁴	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T6	10 ⁻⁴	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-

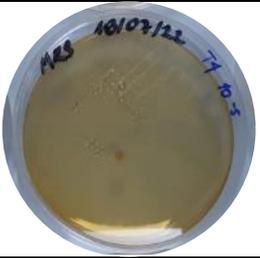
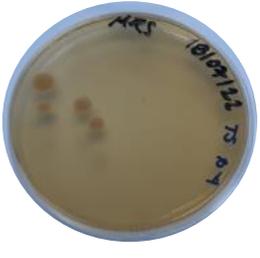
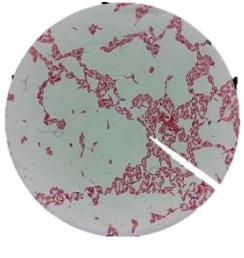
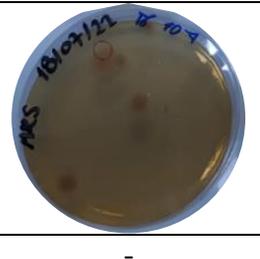
Agar PDA

Tratamientos	Dilución seriada	# de colonias formadas	Vista macroscópica		Vista microscópica	
			Descripción	Imagen	Descripción	Imagen
T1	10 ⁻⁴	6 (grandes) 14 (pequeñas)	L: hueso F: circular S: cerosa C: cremosa E: convexa B: entero (grande)		Levaduras T: Negativa	-
	10 ⁻⁵	4 (grandes) 10 (pequeñas)	L: hueso oscuro F: circular S: cerosa C: cremosa E: elevadas B: entero (pequeña)		Levaduras alargadas	-

	10^{-6}	1 (grande) 8 (pequeñas)	Igual a la anterior		Levaduras T: Negativa	
T2	10^{-4}	6	L: hueso F: circular S: cerosa C: cremosa E: convexa B: entero		Levaduras T: Negativa	-
	10^{-5}	0	-	-	-	-
	10^{-6}	6 (muy pequeñas)	L: beige F: puntiforme S: cerosa C: cremosa E: convexa B: entero (pequeña)		-	-
T3	10^{-4}	2 (grande) 1 (irregular-del mismo color)	L: hueso F: irregular S: cerosa C: cremosa E: convexa B: ondulado		Levaduras (de forma alargada) T: Negativa	
	10^{-5}	0	-	-	-	-
	10^{-6}	0	-	-	-	-
T4	10^{-4}	4	L: hueso F: circular S: cerosa C: cremosa E: convexa B: entero		Levaduras	

	10 ⁻⁵	2 (grandes) 1 (con morfología compleja)	L: hueso F: circular S: cerosa C: cremosa E: convexa B: entero		Levaduras (alargadas)	
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T5	10 ⁻⁴	3 (morfología compleja) 14	-		-	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
T6	10 ⁻⁴	8 (con el tiempo o irregulares)	L: hueso F: circular S: cerosa C: cremosa E: elevada B: entero		Levaduras (de forma alargada) T: Negativa PDA T3 10 ⁻⁴	-
	10 ⁻⁵	0	-	-	-	-
	10 ⁻⁶	0	-	-	-	-
Agar MRS						
Tratamientos	Dilución seriada	# de colonias formadas	Vista macroscópica		Vista microscópica	
			Descripción	Imagen	Descripción	Imagen
T1	10 ⁻⁴	4	L: blanca F: circular S: cerosa C: cremosa E: convexa B: entero		Levaduras T: Negativa	-

	10^{-5}	1	Igual a la anterior			
	10^{-6}	0	-	-	-	-
T2	10^{-4}	5	L: blanca F: circular S: cerosa C: cremosa E: convexa B: entero		Levaduras T: Negativa	-
	10^{-5}	1	L: hueso oscuro F: circular S: cerosa C: cremosa E: convexa B: entero	-	-	-
	10^{-6}	0	-	-	-	-
	10^{-4}	1	L: hueso oscuro F: ovalada S: cerosa C: cremosa E: convexa B: entero		Levaduras	
	10^{-5}	0	-	-	-	-
	10^{-6}	0	-	-	-	-
T4	10^{-4}	1	L: hueso oscuro predominante en el centro F: ovalada S: cerosa C: cremosa E: convexa B: entero		-	-

	10^{-5}	1	L: blanca F: ovalada S: cerosa C: cremosa E: convexa B: entero		-	-
	10^{-6}	0	-	-	-	-
T5	10^{-4}	4	L: blanca F: morfología compleja-radial S: cerosa C: cremosa E: convexa B: entero		Levaduras (medio alargadas)	
	10^{-5}	0	-	-	-	-
	10^{-6}	0	-	-	-	-
T6	10^{-4}	5	L: blanca F: circular S: cerosa E: convexa B: entero		Levaduras T: Negativa	-
	10^{-5}	0	-	-	-	-
	10^{-6}	0	-	-	-	-

Nota. F corresponde a: forma, S: superficie, C: consistencia, E: elevación, B: borde, L: color y T: catalasa.

Anexo L. Productores y Distribuidores de Kombucha en Colombia.

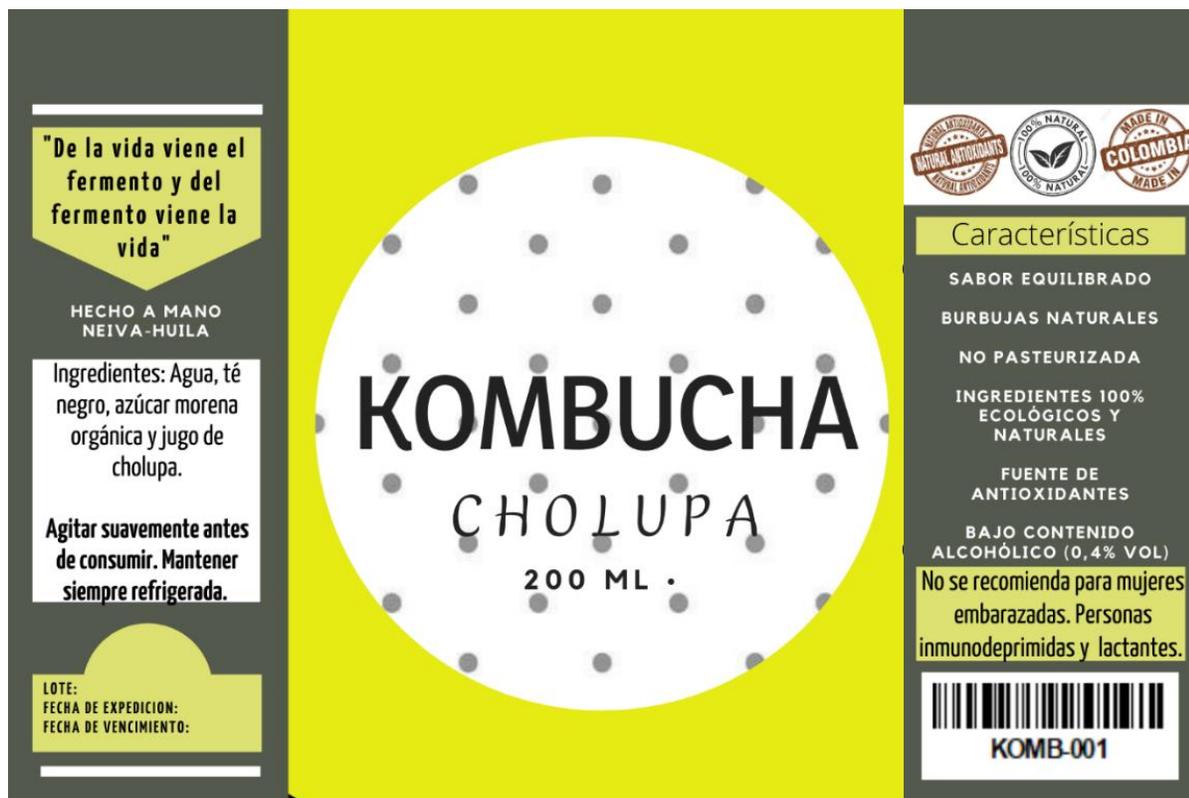
Marca	Producto	Distribución	Precio	Promoción
<p>Happy kombucha</p> 	<p>Producen y venden Kombucha, cuentan con gran variedad de sabores disponibles en presentación de 160 y 750 milímetros en botella de vidrio.</p>	<p>Cuentan con varios puntos de venta a lo largo del país, adicionalmente tienen disponible la venta on-line del producto y sus productos también pueden encontrarse en las cadenas de supermercado de jumbo, metro y éxito.</p>	<p>La presentación del producto en botella de vidrio de 160 ml tiene un valor de venta por unidad entre 6.000 y 8.000 pesos colombianos; mientras que la presentación en botella de vidrio de 750 ml tiene un valor de venta entre 28.000 y 35.000 pesos colombianos por unidad, dependiendo el punto de venta.</p>	<p>La promoción del producto se realiza a través de métodos en línea, por medio de las redes sociales y/o por medio del envío de correos electrónicos a los suscriptores de la página (Happy Kombucha, 2022).</p>
<p>La jaguara</p> 	<p>Producen y venden Kombucha, manejan siete sabores en una presentación de 250 ml y 1 L en botellas de vidrio.</p>	<p>Cuentan con algunos puntos de venta a lo largo del país, especialmente se distribuyen en algunas tiendas gastronómicas y en tiendas de productos saludables y orgánicos, también tienen disponible la venta on-line del producto.</p>	<p>La presentación del producto en botella de vidrio de 1 L tiene un valor de venta de 22.000 pesos colombianos por unidad; mientras que la presentación de 250 ml se puede conseguir en un valor por unidad de 7.000 pesos colombianos. También venden el SCOBY para las personas que deseen elaborar kombucha casera con un precio de 70.000 pesos colombianos, este precio solo incluye el hongo para realizar la fermentación.</p>	<p>La promoción del producto se realiza a través de métodos en línea y por medio de las redes sociales. (La jaguara, 2020)</p>
<p>Te vivo kombucha</p> 	<p>Producen y venden Kombucha, manejan cuatro sabores en una presentación de 290 ml en botellas de vidrio.</p>	<p>Cuentan con algunos puntos de venta en el país, se distribuye en tiendas de productos saludables y orgánicos, realizan venta on-line del producto.</p>	<p>La presentación del producto en botella de vidrio de 290 ml se vende únicamente por six pack, teniendo un valor unitario entre 6.000 y 8.000 pesos colombianos dependiendo la cantidad de six pack comprados.</p>	<p>La promoción del producto se realiza a través de redes sociales. (Te vivo kombucha, 2020)</p>

Anexo M. Ficha técnica “Dream high kombucha”

Nombre de la empresa	Dream High	
Ciudad	Neiva	
Departamento (País)	Huila (Colombia)	
Nombre comercial del producto	Dream High Kombucha	
	Kombucha de cholupa	
Fotografía	Descripción del producto	
	Es una bebida 100% natural no pasteurizada de té fermentado por un cultivo vivo de microorganismos y es combinada con jugo de cholupa; la bebida puede tener rastros de levadura o de SCOBY, por lo tanto, contiene microorganismos vivos en cada botella. Contiene bajo contenido alcohólico.	
	Presentación	220 ml y 1 L
	Tipo de botella	Botella de vidrio transparente.
Procedencia de materia prima	Proveedores seleccionados (Colombia)	
Ingredientes	Agua filtrada, cultivo simbiótico de bacterias y levaduras (SCOBY), té negro orgánico, azúcar morena orgánica y jugo de cholupa.	
Forma de consumo	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Se debe mezclar suavemente antes de abrir. ❖ Se puede tomar sola o con hielo, también se puede mezclar con soda o utilizar para preparar cócteles con o sin alcohol. ❖ Después de abierto se debe consumir en máximo 2 días. ❖ No se recomienda en mujeres embarazadas, en periodo de lactancia y niños. ❖ No es un medicamento y no se debe usar con este fin. 	
Almacenamiento	Se debe mantener siempre en su empaque original y en una zona limpia y libre de olores fuertes; además se debe mantener refrigerada a una temperatura de 1°C a 6°C, puesto que en caso de no estar refrigerada se acortaría la vida útil del producto.	
Vida útil	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Periodo de vida útil de 90 días en refrigeración ❖ Después de abierta, se debe consumir en el menor tiempo posible. 	

Anexo N. Imagen visual del producto final

❖ Etiqueta elaborada para el T2 de “Kombucha de Cholupa”



❖ Producto final de acuerdo con los tratamientos abordados



Nota. Se encuentran organizados en orden descendente (T6, T5, T4, T3, T2 y T1 respectivamente).

Anexo O. Relación de presupuesto

❖ Descripción del presupuesto (en miles de \$).

Gastos generales	Costo	Lugar de compra
Scoby	300.000 (6 unidad)	kombucha la Jaguara
Cholupa	30.000 (6 libras)	Plaza de mercado
Té negro (orgánico)	151.168 (1 kilo)	Bitaco
Té verde (orgánico)	151.168 (400 g)	Bitaco
Azúcar blanca (orgánica)	3.930 (800 g)	Azúcar providencia
Azúcar morena (orgánica)	5.140 (800 g)	Azúcar providencia
Panela orgánica	10.280 (1000 g)	Mesa baja
Envase de vidrio (2 L)	92.700 (6 unidades)	Surtienvases
Copas pequeñas de plástico	2.600 (50 unidades)	Súper desechables del norte
Dotación de tapabocas desechable	29.000 (50 unidades)	Cruz verde
Dotación de guantes de nitrilo	21.350 (100 unidades)	Droguería la rebaja
Botellón de agua	6.500 (20 Litros)	Las Brisas
Dotación de gorros cofia	25.000 (100 unidades)	Pakis Medical
Colador de tela	7.990 (1 unidad)	Metro
Colador de acero	20.900 (1 unidad)	Los tres elefantes
Olla de acero	140.000	Homecenter (propio)
Bandas elásticas	9.900 (100 unidades)	Los tres elefantes
Cucharas de madera	30.000 (6 unidades)	Artesanías del Huila
Botellas de vidrio (220 ml)	41.976 (36 unidades)	Surtienvases
Botellas de vidrio (2 L)	92.700 (6 unidades)	Surtienvases

❖ Insumos y costos para elaborar 6 tratamientos de bebida tipo “kombucha” de sabor natural cholupa (en miles de \$).

Detalle	Unidad	Cantidad	Valor unitario	Valor total
Scoby	Unidad	6	50.000	300.000
Cholupa	Kilo	3	1.600	4.800
Té negro (orgánico)	Kilo	1	152	152.000
Té verde (orgánico)	Gramos	400	472	189.000
Azúcar blanca (orgánica)	Gramos	800	4.4	3.500
Azúcar morena (orgánica)	Gramos	800	4.4	3.500
Panela (Orgánica)	Gramos	500	13.6	6.800
Envase de vidrio (2 L)	Litros	6	15.45	92.700
Envase de vidrio (220 ml)	Mililitros	36	1.16	41.976
Copas pequeñas de plástico	Onz	100	52	5.200
Dotación de tapabocas desechables	Unidad	50	580	29.000
Dotación de guantes desechables	Unidad	100	213	21.350
Dotación de gorros desechables	Unidad	100	250	25.000
Colador de tela	Unidad	2	11.400	22.800
Olla de acero	Unidad	1	140.000	140.000
Bandas elásticas	Unidad	23	92	2.300
TOTAL				1.039.926

Anexo P. Lista de verificación para el producto final para empresa productora de “kombucha de cholupa”

Ítem/s inspeccionado/s:	Fecha:
Puntos chequeados: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> >4 <input type="checkbox"/>	Inspector:

1. Insumos usados	
¿Los insumos usados son correctos?	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> N/A
¿Se poseen los registros de recepción de los insumos?	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> N/A
Procedencia de los insumos:	

2. Actividades realizadas	
¿Se siguieron los procedimientos?	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> N/A
¿Se cumplió con el saneamiento para cada actividad?	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> N/A
¿Se usaron las revisiones vigentes de los procedimientos?	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> N/A
¿Se crearon y rellenaron los registros y estos son correctos?	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> N/A

3. Incidencias	
¿Producto final conforme?	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> N/A
¿Los valores de las propiedades del producto corresponden?	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> N/A
¿Existe alguna incidencia relacionada?	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> N/A
Incidencias relacionadas:	

4. Tiempos de producción	
¿Existieron retrasos en la fabricación?	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> N/A
¿El tiempo y condiciones de fermentación fueron las indicadas?	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> N/A
¿Hubo máquinas indisponibles?	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> N/P

5. Entrega y logística	
¿Producto correctamente identificado?	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> N/A
¿Producto con embalaje correcto?	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> N/A
¿El producto tiene buen aspecto visual?	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> N/A

Observaciones

NOTA: N/A = No aplicable. N/P = No presenciado.