

Combinación de tecnología de procesos moderna y tradicional en bebidas ácidas fermentadas.

Autores: Stefanie Malchow¹, Jakub Borowski¹, Martin Senz¹

¹ Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin (VLB) e.V.
(Research and Teaching Institute for Brewing in Berlin (VLB))
Research Institute for Biotechnology and Water (FIBW)
Department Bioprocess Engineering and Applied Microbiology (BEAM)
Seestrasse 13, 13353 Berlin, Germany
www.vlb-berlin.org

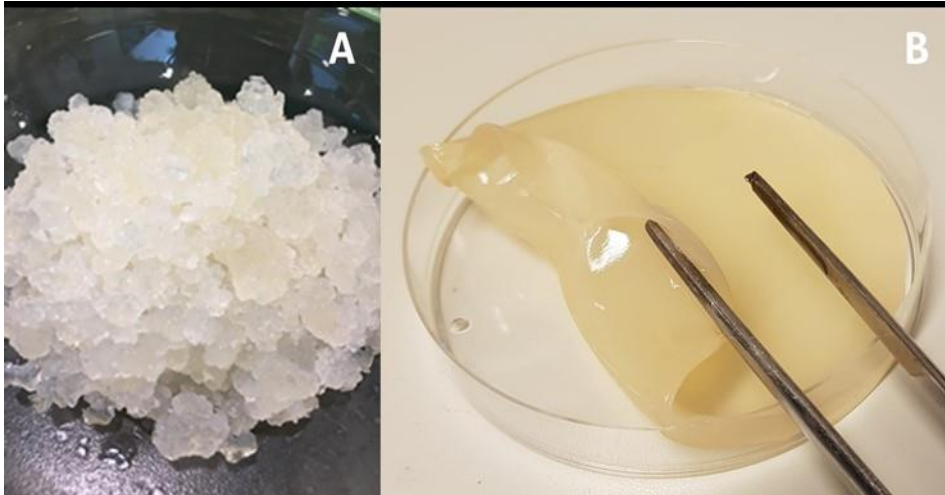
Las bebidas no alcohólicas han disfrutado de una creciente popularidad durante años, lo que conduce a una expansión constante de la gama de productos. Durante mucho tiempo, los refrescos edulcorados han perdido su atractivo, en favor de alternativas con menor contenido de azúcar. Estos incluyen, entre otros, bebidas fermentadas ácidas como kombucha y kéfir de agua. Estas bebidas tradicionales se caracterizan por una agradable acidez, que junto con un bajo contenido de azúcar y una interesante variedad de aromas aporta un carácter muy refrescante. Además, estas bebidas a menudo se atribuyen beneficios para la salud debido a sus ingredientes, que tiene un impacto positivo en su demanda.

La creciente popularidad de estas bebidas tradicionales a menudo requiere un replanteamiento de los productores, alejándose del proceso tradicional hacia un proceso reproducible que también garantiza la seguridad del producto y minimiza la variabilidad de los lotes. Por lo tanto, se necesita una comprensión integral del proceso de fermentación, que puede ser adecuadamente caracterizado y controlado a través del uso de métodos analíticos y de ingeniería de procesos.

Kéfir de agua y kombucha

Las bebidas fermentadas tradicionales y ácidas tienen una cosa en común en la producción clásica: se obtienen mediante el uso de cultivos mixtos complejos (principalmente) indefinidos. Esto representa el mayor obstáculo, tanto en términos de ingeniería de procesos como en términos de producción a escala industrial. Entre otras cosas, los cultivos complejos se caracterizan por el hecho de que los microorganismos involucrados están presentes en proporciones indefinidas, siendo la composición sujeta a cambios considerables a lo largo del tiempo.

Además, los microorganismos a menudo forman exopolisacáridos, que son colonizados por los organismos y tienen un cierto efecto sobre el metabolismo y el comportamiento de la fermentación. Tradicionalmente, el agua de kéfir está hecho de agua edulcorada, frutos secos y los llamados granos de kéfir de agua (Figura 1A).



¡Error! Marcador no definido.A: Granos de kéfir de agua, B: Layer de un kombucha SCOBY. Se trata de matrices características de exopolisacáridos, que son producidos por los microorganismos que contienen y en los que estos últimos están parcialmente incrustados.

Este último, dependiendo del origen y la edad de los cultivos, alberga diferentes bacterias lácticas y levaduras, a menudo *Lactobacillus paracasei*, *L. hilgardii* y *L. nagelii* y *Saccharomyces spp.* y *Brettanomyces spp.*, respectivamente. Durante un período de fermentación de por lo general 2-4 días a temperatura ambiente, los organismos forman CO₂, ácidos orgánicos (principalmente ácido láctico), glicerol, pequeñas cantidades de etanol y diversos componentes aromáticos, que proporcionan al líquido fermentado de un carácter afrutado-dulce muy refrescante. Típicamente, kéfir de agua se considera una bebida sin alcohol, principalmente debido al corto tiempo de fermentación.

En la producción tradicional de kombucha, el té endulzado fermenta con el llamado SCOBY (cultivo simbiótico de bacterias y levaduras; 1B) durante varios días hasta semanas a temperatura ambiente. Además de CO₂, se forman ácidos orgánicos (principalmente ácido acético), componentes de glicerol y aroma, así como pequeñas cantidades de etanol. El SCOBY, como su nombre indica, está compuesto de levaduras y bacterias, y dependiendo de su origen y edad, *Brettanomyces spp.* y *Zygosaccharomyces spp.* dominan en las levaduras, así como *Acetobacter spp.*, *Gluconobater spp.* y *Gluconoacetobacter spp.* en las bacterias. Kombucha también se considera una bebida de fermentación sin alcohol, aunque el etanol se forma durante la fermentación por las levaduras. Sin embargo, es metabolizado por las

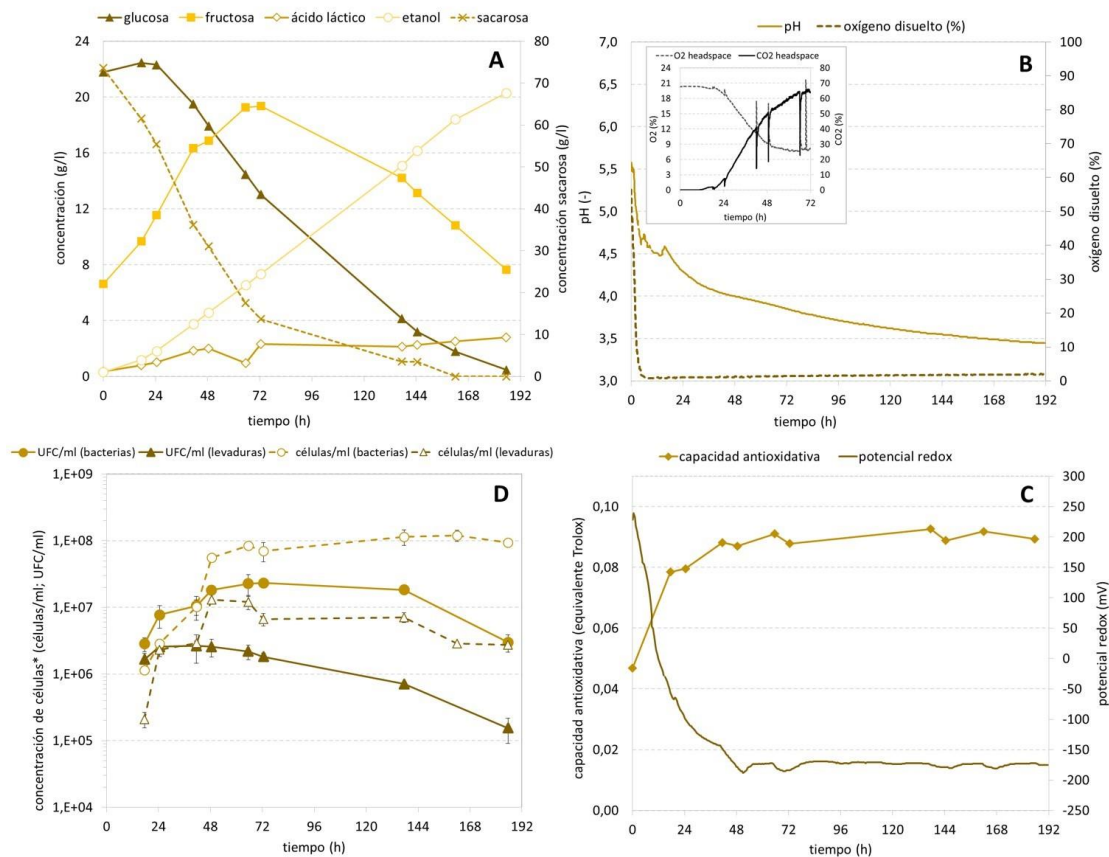
bacterias del ácido acético en el curso del proceso de producción al ácido acético, por lo que el contenido de etanol es generalmente inferior a 0.5% vol.

En comparación con la producción tradicional, la producción industrial se centra en aspectos como el aseguramiento de la calidad y la seguridad del producto, siendo aspectos tradicionales como el sabor y la naturalidad de gran importancia para el consumidor. Al adaptar el proceso de fabricación para la escala industrial, es importante cumplir con los requisitos de calidad y clientes al mismo tiempo a través de un profundo conocimiento del proceso y procedimientos mejorados. Desde un punto de vista microbiológico, el primer paso es intercambiar culturas tradicionales por cultivos puros definidos. Esto reduce el riesgo de contaminación y aumenta la capacidad de control a escala industrial en una etapa temprana. Mediante el uso de tales cultivos de arranque los productores también pueden apuntar a las propiedades deseadas del producto, tal vez el espectro ácido o perfil de sabor. También otros ingredientes como el azúcar o la fruta seca, que sirven como nutrientes a los organismos durante la fermentación, deben añadirse al proceso de una manera bien definida.

La sima de ingredientes definidos, la comprensión profunda del proceso fermentativo, acompañado de un análisis del producto durante el proceso y final, contribuye a un método de elaboración seguro.

Curso ejemplar de una fermentación de kéfir de agua

Para el desarrollo de un proceso seguro, las condiciones generales deben determinarse primero. En el contexto de los trabajos de desarrollo sobre la producción de kéfir de agua, se caracterizó por lo tanto el curso temporal característico de una fermentación tradicional con cultivos de arranque indefinidos (Figura 2).



Error! Marcador no definido.2: Perfil de una fermentación de kéfir de agua con granos de kéfir tradicionales. Representados son A: Azúcares y metabolitos, relevantes. B: El oxígeno disuelto (DO), y el cambio en la composición atmosférica en el espacio de la cabeza del biorreactor (no aireado) registrado hasta 72 hs. C: La capacidad antioxidante, así como el potencial redox, D: Concentraciones celulares de levaduras y bacterias del ácido láctico expresados en cfu.

El perfil de azúcar, así como la producción de ácido y etanol durante el proceso de fermentación se determinaron mediante análisis de HPLC (Fig. 2A). Se demostró claramente la interacción sobre la sacarosa causado por los microorganismos y la liberación resultante de glucosa y fructosa, siendo este último degradado a una tasa menor que la glucosa.

Al mismo tiempo, se observó la formación continua de etanol, mientras que la formación de ácido láctico por las bacterias del ácido láctico despuntó después de 72 horas.

Debido a las actividades metabólicas, se observó un consumo rápido de oxígeno disuelto y una caída en el pH (Fig. 2B). El potencial de redox también se redujo durante la fermentación por los microorganismos, mientras que aumentó la capacidad antioxidante (Fig. 2C). Se utilizó el análisis de gases de escape a la atmósfera para determinar los gases existentes en el espacio de la cabeza. Durante las primeras 72 hs, se observó una saturación con CO₂ y una reducción simultánea del contenido de oxígeno. Además, el potencial redox alcanzado

después de 48 h mostró una buena relación con las propiedades sensoriales deseadas y un contenido de alcohol inferior al 0,5 %vol. requerido para la declaración como bebida "no alcohólica".

Sobre la base de los datos recopilados, las investigaciones adicionales deben mostrar cómo se comportan los parámetros mencionados al utilizar los cultivos de arranque elegidos en concentraciones definidas y si un perfil de fermentación se puede reproducir mediante un control de proceso adecuado.

Otras técnicas modernas disponibles para el desarrollo de procesos de fermentación se pueden utilizar para analizar las características de crecimiento de los microorganismos respectivos. Así, con la ayuda de los métodos de medida de impedancia, se puede llevar a cabo una determinación de concentración estadísticamente significativa, que puede utilizarse para distinguir entre diferentes poblaciones como levaduras y bacterias determinando simultáneamente la distribución del tamaño de las células.

Debido a la multitud de marcadores disponibles, los métodos cito métricos de flujo ofrecen la posibilidad de hacer declaraciones adicionales sobre la fisiología sobre la base de las células individuales. Para el análisis de bacterias lácticas en forma de varilla y bacterias de ácido acético se pueden aplicar métodos electroópticos para cuantificar el estado fisiológico de las células dependientes de la polarización de la membrana con el fin de hacer una declaración sobre la vitalidad de la población.

Para la comprensión del proceso utilizando muchos diferentes cultivos , estas tecnologías de análisis solo se pueden aplicar con reservas. Además de la fermentación estática, los exopolisacáridos secretados complican los análisis microbiológicos. El desarrollo de métodos analíticos microbiológicos adecuados requiere una atención especial cuando se utilizan cultivos mixtos complejos.

Debido al tamaño de partícula, que se extiende por todo el rango de tamaño de las bacterias y levaduras y además de la existencia natural de turbidez del medio, los datos de los métodos ópticos y la medición de impedancia para el proceso de fermentación mostrado en la Fig. 2 fueron inutilizable.

Además, debe señalarse que, debido a la distribución no homogénea de los microorganismos presentes en los granos y en el líquido, no es posible tomar muestras representativas del lote global. En consecuencia, el recuento celular clásico de las células en suspensión se recurrió al uso de la cámara de recuento de células Thoma, lo que permite una buena diferenciación manual de las levaduras y bacterias, así como la determinación de las unidades formadoras de colonias (CFU) mediante su cultivo en medios nutritivos selectivos (Figura 2D). Para un mayor desarrollo, cultivos puros aislados de granos de kéfir de agua deben utilizarse después de que han sido analizados y bien caracterizados.

En el caso de la kombucha tradicional basada en el té hay diferencias características en la microbiología involucrada. Sin embargo, los desafíos para un proceso de fabricación industrial y una estabilidad adecuada del almacenamiento, especialmente si se quiere perseguir el deseo del consumidor de un producto sin pasteurizar, son muy similares.

Mediante la aplicación de métodos de análisis extensos, se puede realizar un seguimiento de todo el proceso de fabricación hasta el producto embotellado. El conocimiento profundo del proceso también permite responder adecuadamente a los diversos desafíos, especialmente con los productos crudos. Un criterio de calidad importante es la evaluación sensorial del producto fermentado a lo largo de todo su ciclo de vida. Por último, pero no menos importante, este aspecto también determina la vida útil, así como la aceptación por parte del consumidor del producto.



¡Error! Marcador no definido.: Uso de la tecnología moderna de bio procesamiento y análisis diversos que acompañan a los procesos fermentativos de agua de kéfir con granos.;