

VALORIZACIÓN DE SUBPRODUCTOS ENOLÓGICOS Y SU APROVECHAMIENTO PARA LA ELABORACIÓN DE BEBIDAS FERMENTADAS TIPO KOMBUCHA

Production of kombucha from oenological by-products

Alcaraz-Férez, E.¹; López-Gálvez, F.^{1*}; Medina, S.²

1. Departamento de Tecnología de Los Alimentos, Nutrición y Bromatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, 30100, Murcia, España.
2. Laboratorio de Fitoquímica y Alimentos Saludables (LabFAS), Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, CEBAS-CSIC, 30100, Murcia, España.

***Autor de correspondencia:** López-Gálvez, F., f.lopezgalvez@um.es

Tipo de artículo: Trabajo de Fin de Grado (Ciencia y Tecnología de los Alimentos)

Recibido: 14/11/2024

Aceptado: 10/12/2024

RESUMEN

La mayoría de las industrias vitivinícolas enfrentan el desafío de encontrar soluciones que les permitan avanzar en la gestión de la economía circular durante el proceso de producción del vino. Las bodegas buscan reducir, reutilizar o reciclar los desechos producidos durante el proceso de elaboración.

La investigación llevada a cabo en este estudio se centra en el desarrollo de una bebida fermentada tipo kombucha, por parte de una colonia simbiótica de bacterias y levaduras (SCOBY, del inglés *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*), a partir de subproductos vitivinícolas, con el propósito de desarrollar una bebida saludable y sostenible. Para llevar a cabo esta tarea, se realizaron mediciones fisicoquímicas, incluyendo pH, grados Brix, acidez, concentración de azúcares, etanol y ácido acético. El diseño experimental contempló la evaluación de los siguientes tipos de muestras: una muestra control (sin matriz vegetal), una bebida tipo kombucha de bagazo de uva, y bebidas comerciales de kombucha disponibles en el mercado.

Durante el análisis estadístico de los resultados, se encontraron similitudes significativas entre nuestra bebida experimental y las bebidas comerciales, lo que demuestra la calidad fisicoquímica de la bebida fermentada desarrollada en el marco de esta investigación.

Es importante destacar que, en el análisis de las kombuchas comerciales, se identificó un contenido de etanol superior al detectado en la bebida de bagazo desarrollada en este estudio. Esto sugiere que las bebidas de bagazo podrían ser más beneficiosas en comparación con las bebidas comerciales debido a su menor contenido de etanol y perfil nutricional optimizado.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican que la bebida experimental tipo kombucha desarrollada a partir de bagazo de uva cumple con los estándares de calidad fisicoquímica. Esta investigación refuerza la viabilidad de incorporar subproductos vitivinícolas en la elaboración de bebidas, ofreciendo una alternativa sostenible y saludable.

Palabras clave: SCOBY, Bacterias ácido lácticas, Bacterias del ácido acético, Dihidroxiacetona, OIV.

ABSTRACT

Most of the wine industries face the challenge of finding solutions that allow them to advance in the management of the circular economy during the wine production process. The goal of wineries is to reduce, reuse or recycle the waste produced during the winemaking process.

The research carried out in the present work focuses on the development of a kombucha-type fermented beverage, by a symbiotic colony of bacteria and yeast (SCOBY), from wine by-products, with the purpose of developing a healthy and sustainable beverage. To carry out this task, physico-chemical measurements, including pH, Brix, acidity, sugar concentration, ethanol and acetic acid. The experimental design contemplated the evaluation of the following types of samples: a control sample (without matrix), a grape bagasse Kombucha-type beverage, and commercial kombucha beverages available on the market.

During the statistical analysis of the results, significant similarities were found between our experimental beverage and the commercial beverages, demonstrating the physicochemical quality of the fermented beverage developed within the framework of this research.

It is important to mention that, in the analysis of commercial kombuchas, a higher ethanol content was identified than that detected in the bagasse beverages developed in this study. This suggests that bagasse beverages could be more beneficial compared to commercial beverages due to their lower ethanol content and optimized nutritional profile.

The results of the present study indicate that the experimental kombucha-type beverage developed from grape bagasse meets the physicochemical quality standards. This research reinforces the feasibility of incorporating wine by-products in the production of beverages, offering a sustainable and healthy alternative.

Keywords: SCOBY, Lactic acid bacteria, Acetic acid bacteria, Dihydroxyacetone, OIV.

INTRODUCCIÓN

La vid, cuyo nombre científico es *Vitis vinifera*, es una planta de amplio cultivo en todo el mundo, siendo de gran relevancia en países como Francia, España o Chile. El fruto de la vid, la uva, es empleada en la elaboración del vino, un tipo de bebida alcohólica procedente de la fermentación de zumo de uva y que es una de las bebidas alcohólicas más consumidas del mundo (Troilo et al., 2020).

Según el Informe de la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV) sobre la producción mundial de uvas y vino en 2021, se cosecharon un total de 74.8 millones de toneladas de uvas en todo el mundo. De esta cantidad, aproximadamente el 41% se utilizó para producir uvas de mesa, alrededor del 7% se destinó a la producción de pasas, y el restante 52% se empleó para vinificación, generando más de 262 millones de hectolitros de vino a nivel global (OIV, 2021). Además, a partir de la

información recogida sobre veintinueve países que representan el 94% de la producción mundial en 2022, la producción mundial de vino (excluidos zumos y mostos) en 2023 se estimó en una media de 244.1 millones de hectolitros.

Esto representa un descenso del 7% respecto al volumen de 2022, ya por debajo de la media. Este descenso en la producción se atribuye a las condiciones climáticas extremas, como las heladas tempranas, las lluvias torrenciales y la sequía, que han afectado considerablemente a la producción del viñedo mundial. (Delgrosso, 2023). El 65% del vino mundial se produce en la UE, con Italia, Francia y España como los principales productores. Con casi un millón de hectáreas dedicadas a este cultivo, lo que representa el 13% de la superficie total, España se destaca como el país con la mayor extensión de viñedos del mundo. La mayor parte de la uva cosechada en España, más del 95%, se utiliza para la producción de vino, alcanzando una producción de 44.4 millones de hectolitros en el año 2021, según datos de la OIV.

En cambio, el impacto ambiental del sector vitivinícola es significativo, ya que los subproductos representan el 25% del material procesado, lo cual es preocupante en los países líderes en la producción de vino, como Francia y España. En consecuencia, existe una tendencia creciente a tratar estos subproductos no como desechos, sino como nuevas materias primas (Estrategia Española de Economía Circular y Planes de Acción, 2023). En este contexto, los subproductos vitivinícolas se originan a lo largo de las diferentes etapas de elaboración y producción del vino y presentan un desafío en términos de gestión y aprovechamiento. (Maicas & Mateo, 2020; Troilo et al., 2021). La producción de vino es una actividad industrial de gran relevancia en España. Como consecuencia de esta actividad de las industrias vitivinícolas se generan importantes cantidades de subproductos, destacando entre ellos los raspones, orujos de uva (bagazo) y lías de vino. En este contexto, es importante la reducción efectiva e inocua de

estos residuos para evitar riesgos medioambientales, así como la búsqueda de alternativas de uso para su revalorización. Además, los subproductos enológicos son materias primas naturales que se caracterizan por su alto contenido en nutrientes y compuestos fenólicos, los cuales poseen propiedades bioactivas que pueden resultar beneficiosas para la salud humana (Silva et al., 2023).

Actualmente, la mejora de la sostenibilidad en la industria vitivinícola ha focalizado su interés en la gestión de los subproductos del vino, adoptando acciones de aprovechamiento integral, que permitan utilizarlos como una interesante fuente de compuestos 'biofuncionales' y ser empleados en diversas aplicaciones de la industria alimentaria, cosmética y/o farmacéutica con el consecuente beneficio económico, medioambiental y social (Ferrer Gallego & Silva, 2022). Entre los subproductos enológicos, la reutilización del bagazo, un subproducto fibroso resultante de la extracción del jugo de las uvas en la industria vitivinícola, es fundamental para promover prácticas sostenibles de gestión, optimización de residuos y economía circular en las bodegas.

Los principales subproductos que se obtienen durante la vinificación son los residuos orgánicos (80-85%) constituidos principalmente por el orujo o bagazo (62%), las lías (14%), los lodos de depuradora (12%) y los tallos o raspones (12%) (Ruggieri et al., 2009). Además, los residuos enológicos son materias primas ricas en compuestos orgánicos que actúan disminuyendo el pH de los mismos, lo que impide su rápida biodegradación (Maicas & Mateo, 2020; Troilo et al., 2021). A su vez, presentan carácter estacional, lo que conlleva una elevada acumulación en ciertos y cortos periodos de tiempo, teniendo repercusiones negativas en la sostenibilidad ambiental y económica (Maicas & Mateo, 2020). Dichos residuos vitivinícolas son matrices naturales caracterizadas por un alto contenido en nutrientes y no nutrientes, como son los compuestos fenólicos, que son un con-

junto heterogéneo de moléculas o metabolitos secundarios que se encuentran de forma natural en las plantas, denominándose fitoquímicos, y que presentan determinadas propiedades (antioxidantes, antimicrobianas, antialérgicas, antiinflamatorias, anticancerígenas y antivirales) con implicaciones beneficiosas en la salud humana (Silva et al., 2023).

A este respecto, el orujo de uva o bagazo puede contener entre el 15 y el 26 % de proteínas y el 70 % de fibras. Estas fibras incluyen lignina (28%), hemicelulosa (28–35) y celulosa (15.5–25%). Además, pueden contener lípidos, que representan entre 3.9 y un 18%. Además, en pequeña proporción presentan en su composición minerales, tales como calcio, fósforo y selenio, además de compuestos fenólicos. Debido a dicha composición tan heterogénea, el bagazo puede ser utilizado en diversos procesos, como alimentación para animales, procesos biotecnológicos, producción de biocombustibles, obtención de productos de alto valor añadido, dietas humanas, etc. (Lynch et al., 2016).

Tradicionalmente, la kombucha es una bebida fermentada de té que ha ganado popularidad recientemente debido a sus potenciales beneficios para la salud humana. Esta bebida tiene una historia de varios miles de años en Oriente, y pronto se popularizó también en Occidente debido a su sabor agradable, su aroma, su facilidad de preparación y sus potenciales efectos saludables (Mohammadshirazi y Kallhor, 2016).

La kombucha se produce mediante la fermentación de bebidas de té azucaradas por una colonia simbiótica de bacterias y levaduras (SCOBY, del inglés *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*). Generalmente, se utiliza té negro o verde como matriz vegetal y el periodo de incubación oscila entre 7 y 10 días. Actualmente, existe una tendencia creciente a utilizar otras matrices alimentarias o subproductos de las mismas como una alternativa a la kombucha tradicional de té, con la obtención de bebidas fermentadas tipo kombucha con un perfil fisiológico y fitoquímico diferenciado.

La kombucha es una bebida ácida, ligeramente dulce y carbonatada, rica en ácidos orgánicos y numerosos compuestos producidos por las actividades metabólicas simbióticas del cultivo de bacterias y levaduras. El ácido acético, el ácido glucónico y el ácido glucurónico son los principales metabolitos producidos durante la fermentación independientemente de la matriz usada para elaborar la kombucha. Además, cabe destacar la presencia de otros compuestos importantes, como polifenoles, vitaminas, minerales, lípidos, aminoácidos y enzimas hidrolíticas. Muchos de estos compuestos son generados por el proceso de fermentación de la matriz vegetal por la actividad de levaduras y bacterias (Watawana et al, 2015). En cuanto a las concentraciones finales de azúcar, difieren fácilmente de una fermentación a otra ya que la ruta metabólica no siempre sigue el mismo camino (Villarreal-Soto et al., 2018).

Durante la fermentación de una kombucha tradicional a partir de té, el alcohol y el azúcar se degradan para formar ácidos orgánicos, principalmente ácido acético, lo que disminuye el pH a un rango de 5 a 3. Este descenso es gradual al inicio y más abrupto después, debido al crecimiento microbiano. En general, el pH inicial es de aproximadamente 5.3 reduciéndose primero a valores alrededor de 4.3 y luego de 3.6 dentro de los primeros siete días. Durante la segunda semana, el pH de la kombucha puede descender rápidamente hasta 2.5, que es el límite mínimo seguro para su consumo.

A medida que la fermentación avanza, la acidez aumenta por la actividad de bacterias del ácido acético y láctico, que se desarrollan mejor en un entorno ácido (a pH inferior a 5.4), actuando como defensa contra la contaminación microbiana (Neffe-Skocińska et al., 2017; Amarsinghe, 2018). En concentraciones superiores a los 5 g/L de ácido acético, la bebida puede volverse demasiado ácida, lo que podría hacerla menos agradable al gusto. A medida que progresa la fermentación, los valores de ácido acético tienden a aumentar gradualmente, alcanzando un rango

de concentración aceptable de 2 a 3 g/L de ácido acético, lo que contribuye al equilibrio deseado de sabores y al perfil sensorial característico de la kombucha (Greenwalt, 2000).

Al inicio de la fermentación de una kombucha tradicional, la concentración de sólidos solubles, medida en grados Brix, se sitúa típicamente entre 10 y 15 grados Brix dependiendo de la cantidad de azúcar añadida. Esta concentración disminuye progresivamente hasta aproximadamente 4 a 5 grados Brix a medida que avanza la fermentación. Las concentraciones finales de azúcares en la fermentación de kombucha pueden variar considerablemente entre lotes debido a la variabilidad inherente en las rutas metabólicas microbianas (Villarreal-Soto et al., 2018). Se ha observado que los valores de glucosa y fructosa tienden a aumentar de manera similar, con rangos entre 5 g/L y 20 g/L a medida que se hidroliza la sacarosa. En consecuencia, los niveles de sacarosa tienden a disminuir desde sus valores iniciales, que suelen estar entre 50 y 100 g/L, hasta alrededor de 20 g/L.

En general, una kombucha casera presenta un contenido alcohólico que oscila entre 0.15% y 0.5%, al final del periodo de fermentación de 7 a 10 días. A medida que progresa la fermentación, los niveles de etanol tienden a aumentar gradualmente, pasando de 500 mg/L a 1500 mg/L. Las kombuchas comerciales suelen mantenerse por debajo del 0.5% de alcohol, es decir, menos de 5000 mg/L de etanol para cumplir con las regulaciones que rigen sobre las bebidas no alcohólicas.

El cultivo simbiótico responsable del proceso de fermentación está compuesto por bacterias ácido lácticas (BAL) (*Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Oenococcus oeni*, etc.), bacterias del ácido acético (BAA) (*Komagataeibacter* spp., *Acetobacter* spp., *Gluconobacter* spp., etc.) y levaduras (*Zygosaccharomyces* spp., *Saccharomyces* spp., *Schizosaccharomyces* spp., *Brettanomyces* spp., *Candida* spp., *Pichia* spp., *Torulaspora* spp., etc.) (Coton et al., 2017; De Roos y De Vuyst, 2018; Marsh et al., 2014).

Durante el proceso de fermentación simbiótica de la kombucha coexisten las fermentaciones lácticas, acéticas y alcohólicas. Se inicia con la descomposición de la sacarosa en fructosa y glucosa por parte de las células de levadura. Estos azúcares son luego metabolizados por la levadura para producir etanol y dióxido de carbono. Además, la levadura puede generar glicerol debido a la presión osmótica, el cual es convertido por las BAA en dihidroxiacetona (DHA). Las BAL fermentan los azúcares para producir ácido láctico, contribuyendo a la acidez total y al perfil sensorial de la kombucha. También ayudan a mantener el equilibrio microbiano y la estabilidad microbiológica de la bebida.

Durante este proceso, se generan también diversos ésteres que contribuyen al perfil aromático característico de la kombucha. La fructosa es utilizada preferiblemente como sustrato sobre la glucosa, y el etanol resultante es transformado por las BAA en ácido acético, disminuyendo así la concentración de etanol en la bebida y facilitando la formación de la película celulósica. Esta película celulósica, compuesta principalmente de celulosa, es una estructura gelatinosa que se forma en la superficie del líquido. Proporciona protección y soporte al consorcio microbiano del SCOBY, facilita el intercambio de nutrientes y es un indicador de una fermentación saludable. Las BAA metabolizan la glucosa en ácidos glucónico y glucurónico. Además, la autólisis de la levadura durante la maduración de la kombucha proporciona vitaminas y otros nutrientes que apoyan el crecimiento de las BAA y puede influir en el aroma y sabor finales de la bebida (May et al., 2019).

De acuerdo con los antecedentes descritos anteriormente, el siguiente trabajo ha consistido en el desarrollo de una bebida saludable y sostenible, específicamente una variante de kombucha utilizando el bagazo de uva como ingrediente principal. El estudio se enfocó en el análisis de parámetros de calidad fisicoquímicos de interés de la nueva bebida desarrollada y posteriormente

su comparativa con diferentes bebidas de kombucha disponibles en el mercado.

El trabajo desarrollado para este estudio se enmarcó dentro de un proyecto más amplio cuyo objetivo fue el desarrollo de una bebida fermentada saludable tipo kombucha a partir de un subproducto de la industria vitivinícola, el bagazo de uva. Los objetivos específicos de este estudio fueron: 1) La elaboración de una bebida fermentada tipo kombucha a partir de bagazo de uva; 2) La evaluación de parámetros fisicoquímicos durante el proceso de elaboración de la kombucha basada en bagazo de uva en comparación con un control; 3) La comparación de parámetros fisicoquímicos del producto terminado basado en bagazo de uva con el control, y con dos kombuchas comerciales.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Descripción de los reactivos para análisis y las materias primas utilizadas en el proceso experimental

1.1. Sustancias químicas y reactivos usados en los análisis fisicoquímicos

Para llevar a cabo el análisis de grados Brix de las muestras de kombucha se utilizó un refractómetro portátil (Ref. # 39050, ATAGO

CO., LTD, Tokio, Japón). Para medir el pH de las muestras se usó el pH-metro de sobremesa SensION + pH 3 (HACH LANGE, Loveland, Colorado, Estados Unidos). Para calibrar el pH-metro se utilizó una solución tampón de pH 4.01 (25 °C) (Ref. # 9463, CRISON, Barcelona, España), otra solución tampón de pH 7.00 (25 °C) (Ref. # 9464, CRISON), y la última solución tampón para pH 9.21 (25 °C) (Ref. # 9465, CRISON).

En el análisis de los azúcares se utilizaron diferentes reactivos (solución de D-glucosa + D-fructosa diluida 1:10 (Ref. # 12800, BioSystems, Barcelona, España) y sacarosa 1:40 (Ref. # 12819, BioSystems)). Además, para el análisis de etanol y de ácido acético se usaron soluciones diluidas 1:20 de etanol (Ref. # 12847, Biosystems) y de ácido acético (Ref. # 18063, BioSystems). Incluyendo la utilización de un kit de MULTICAL para el proceso de calibración del equipo Y15 (Ref. # 12818, Biosystems).

1.2. Subproductos enológicos

Para llevar a cabo el trabajo experimental se utilizó una matriz de origen vegetal, en concreto, bagazo de uva liofilizado (*Vitis vinifera* L. variedad 'Monastrell'). Este subproducto fue suministrado por la bodega Viña Elena, ubicada en Jumilla (Murcia), una reconocida Denominación de Origen Protegida (DOP) vinícola del sureste de España. (Figura 1).



Figura 1. Bagazo de uva usado para el desarrollo de una bebida fermentada tipo kombucha.

2. Elaboración de una bebida fermentada tipo kombucha

Se llevó a cabo el desarrollo de una bebida fermentada tipo kombucha a partir de bagazo de uva “Monastrell” previamente liofilizado (Kombucha de bagazo). Para la preparación de la bebida fermentada tipo kombucha, se utilizaron 20 g/L de bagazo liofilizado disueltos en agua mineral con una concentración de azúcar de 70 g/L, y para la muestra control (Control) se usó solo agua mineral y azúcar, sin bagazo (Figura 2).

En primer lugar, se procedió a calentar 1 L de agua mineral, durante 5 minutos, se añadió la cantidad de subproducto de bagazo mediante filtración con gasas para eliminar partículas grandes de bagazo (sedimentos, residuos), dejando disolver durante aproximadamente 15 min. A continuación, se añadió 1 L de agua mineral (para un volumen total de 2 L) a temperatura ambiente, para bajar su temperatura antes de añadir el SCOBY, dado que es sensible a las altas temperaturas, y su temperatura óptima se sitúa en un rango entre 25-30 °C.

Se procedió a incorporar la cantidad de azúcar especificada (70 g/L), y se agitó la solución nuevamente hasta que el azúcar se disolviera

por completo, asegurando así una distribución homogénea de los ingredientes en la solución líquida. Para desarrollar este experimento, se añadió el SCOBY adquirido en la empresa *Ke-firalia* (Burumart Commerce S.L. Guipúzcoa, España), tanto a las soluciones líquidas con material vegetal como a las muestras Control (sin bagazo de uva), siguiendo las instrucciones del fabricante.

A lo largo del proceso de fermentación de la bebida basada en bagazo y la bebida control, que se extendió por un total de 10 días, se tomaron muestras periódicas cada dos días, que se fueron conservando en congelación (-20 °C) para análisis posteriores. Es importante señalar que, aunque la congelación a -20 °C es una práctica común y los ácidos orgánicos suelen ser estables a estas temperaturas, algunos compuestos volátiles y la viabilidad microbiana pueden verse afectados. Por lo tanto, se tomaron precauciones para asegurar que las muestras estuvieran bien homogeneizadas antes del análisis para obtener resultados precisos y comparables. Destacar que las muestras de la Kombucha de bagazo fueron designadas como día 0, antes de la adición del SCOBY, y día 0* después de añadir el SCOBY, una vez que la temperatura del medio se ajustó a 26 °C.

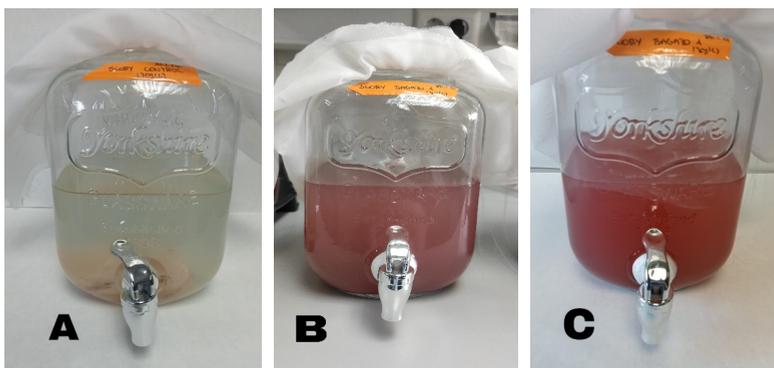


Figura 2. Bebidas tipo kombucha desarrolladas a partir de bagazo de uva. Control sin bagazo con SCOBY (A), Kombucha de bagazo en el día 0* de fermentación con SCOBY (B) y Kombucha de bagazo en el día 10 de fermentación.

Cuando el SCOBY se trasladó a su nuevo entorno/ambiente, se le añadieron 10 mL del medio de cultivo donde el SCOBY había crecido, como cultivo iniciador, para continuar su actividad metabólica de manera ininterrumpida. Además, los SCOBY se conservan en “hoteles” SCOBY, mantenidos a temperatura ambiente (20-25 °C), en oscuridad y cubiertos con un velo para evitar posibles contaminaciones. Una vez terminada la fermentación, a los productos obtenidos (Kombucha de bagazo y Control) se le realizaron los análisis pertinentes para compararlos con dos kombuchas comerciales (Kombucha Comercial 1 y Kombucha Comercial 2).

2.1. *Parámetros fisicoquímicos de pH, grados Brix y acidez*

Para el análisis de pH, grados Brix y acidez, se emplearon como herramientas de medición un pH-metro y un refractómetro portátil. Estos dispositivos son fundamentales para garantizar la exactitud y fiabilidad de los resultados obtenidos en los análisis.

No obstante, antes de proceder con los análisis, es necesario realizar una calibración adecuada de ambos equipos. Mediante una solución tampón en el caso del pH-metro, y la utilización de agua Milli-Q realizando el “zero” en el refractómetro portátil, siguiendo las indicaciones del fabricante. Para poder realizar el análisis de acidez total en las muestras, se llevó a cabo una dilución previa de la muestra en una proporción de 1:50 (v/v). Esto implica la preparación de esta solución diluida utilizando las siguientes proporciones: 980 µL de agua Milli-Q a los cuales se le añadieron 20 µL de muestra (control y bebidas tipo kombucha). Para llevar a cabo la caracterización de las propiedades fisicoquímicas de las muestras del Control, la Kombucha de bagazo, y las dos bebidas comerciales, se realizaron tres mediciones de los diferentes parámetros en cada momento de muestreo.

2.2. *Evaluación del contenido en azúcares, etanol y ácido acético*

Para la caracterización del contenido de azúcares, etanol y ácido acético, se empleó un analizador automático multiparamétrico Y-15 (Biosystems, Barcelona, España), diseñado específicamente para su implementación en entornos de laboratorios y bodegas, ofreciendo un rendimiento superior y una eficacia máxima mediante la utilización de técnicas programadas.

Este equipo cuenta con un rango espectral que abarca desde los 340 nm hasta los 900 nm, lo que le permite realizar análisis precisos en una amplia gama de longitudes de onda. Para llevar a cabo las mediciones, el analizador dispone de más de 100 cubetas, que se distribuyen en un rotor no reutilizable, donde se llevan a cabo las reacciones químicas. Además, el equipo cuenta con dos botellas, una destinada para los residuos generados durante el proceso y la otra utilizada tanto para la solución de lavado como para el líquido de sistema, lo que contribuye a mantener la imprescindible limpieza del equipo. En el centro del analizador se ubican los reactivos necesarios para el análisis, los cuales han sido conservados en condiciones de refrigeración a 4 °C, y junto a estos reactivos, se colocan las muestras a analizar en “vasos pediátricos” para su medición.

En el marco del experimento desarrollado en el presente estudio, se empleó el analizador Y-15 para realizar dos mediciones de las concentraciones de azúcares, etanol y ácido acético en cada momento de muestreo. Estas mediciones se realizaron tanto en la muestra Control, como en la Kombucha de bagazo y en las dos Kombuchas Comerciales diferentes. En primer lugar, cada día de análisis, se inició con el correspondiente proceso de calibrado para cada molécula a analizar, cada uno abordado de manera distinta y precisa según indicaciones del fabricante. Adicionalmente, se realizó el proceso de control y blanco con desviaciones <8% en todos los casos.

En el caso de los azúcares, tanto para el disacárido como los monosacáridos analizados, se inicia con un proceso de calibrado mediante el uso de un MULTICAL del kit correspondiente. Se establecen criterios de aceptación basados en resultados de blancos, que son 3 g/L para glucosa, 4 g/L para D-glucosa+D-fructosa, y 1 g/L para sacarosa.

En cuanto a la medición del contenido de etanol, el proceso de calibración implica el uso de un factor proporcionado por el proveedor, en este caso un valor de 4278 mg/L, con una tolerancia de desviación del 10%. Posteriormente se realizó el blanco y control, cuyo rango aceptable es de 417-625 mg/L de etanol, según los criterios establecidos. En este contexto, es importante resaltar la volatilidad del etanol y cómo podría afectar la medición del mismo en las muestras, por lo que los análisis se realizaron individualmente, manteniendo las restantes en congelación.

Finalmente, para el ácido acético, se llevó a cabo el calibrado mediante el uso del kit *acetic liquid*. Seguidamente, se realiza un control con el número 5 del kit MULTICAL, donde se espera un valor representativo de 1.2 g/L de ácido acético. Una vez realizada la calibración y los controles pertinentes del fotoanalizador multiparamétrico Y-15 para cada uno de los compuestos a analizar, se procedió a la medición de las muestras.

3. Análisis estadístico

Para analizar los diferentes parámetros fisicoquímicos y contenido de azúcares, etanol y ácido acético en las distintas muestras de bebida kombucha (control, bagazo, comercial 1 y comercial 2), se empleó el software SPSS 29.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.).

Para determinar si los datos seguían una distribución normal, se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra. Los resultados de esta prueba indicaron que los datos de las bebidas de kombucha no seguían una distribución normal para los parámetros evaluados, que

incluían pH, grados Brix, acidez, azúcares, etanol y ácido acético. Debido a la naturaleza no normal de la distribución de los datos, se optó por comparar los tratamientos usando pruebas no paramétricas. En particular, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para comparar tres o más grupos independientes y determinar si existen diferencias significativas entre ellos. Para identificar que tratamientos mostraron diferencias significativas entre sí, se consideró un valor de $p < 0.05$, y se realizaron comparaciones por pares mediante pruebas post hoc adecuadas (test de Mann-Whitney) para identificar los grupos específicos que diferían. Los datos cuantitativos se presentan como $\text{media} \pm \text{desviación estándar (DE)}$.

RESULTADOS

1. Características fisicoquímicas de las bebidas fermentadas de bagazo de uva

El análisis fisicoquímico de las bebidas fermentadas de bagazo incluyó la monitorización de pH, grados Brix y acidez durante los 10 días de fermentación de la Kombucha de bagazo en comparación con las muestras del Control (agua azucarada sin subproducto enológico).

En la Figura 3, se ilustra la evolución del pH de las muestras del Control y de la Kombucha de bagazo desde el día 0 hasta el día 10, que corresponde a la duración total de la fermentación. En el día 0 (antes de la adición de SCOBY), los valores de pH registrados fueron de 7.46 ± 0.04 para el Control y de 5.41 ± 0.01 para la Kombucha de bagazo. También en el día 0, tras la introducción del SCOBY (0*), se observó una ligera disminución del pH en ambos casos, alcanzando valores de pH de 6.77 ± 0.01 para el Control y de 3.91 ± 0.02 para la Kombucha de bagazo. Durante el período de fermentación, se evidenció una reducción progresiva en los valores de pH. Al finalizar la fermentación en el día 10, los valores medios de pH fueron de 3.22 ± 0.01 para el Control y de 3.09 ± 0.01 para la Kombucha de bagazo.

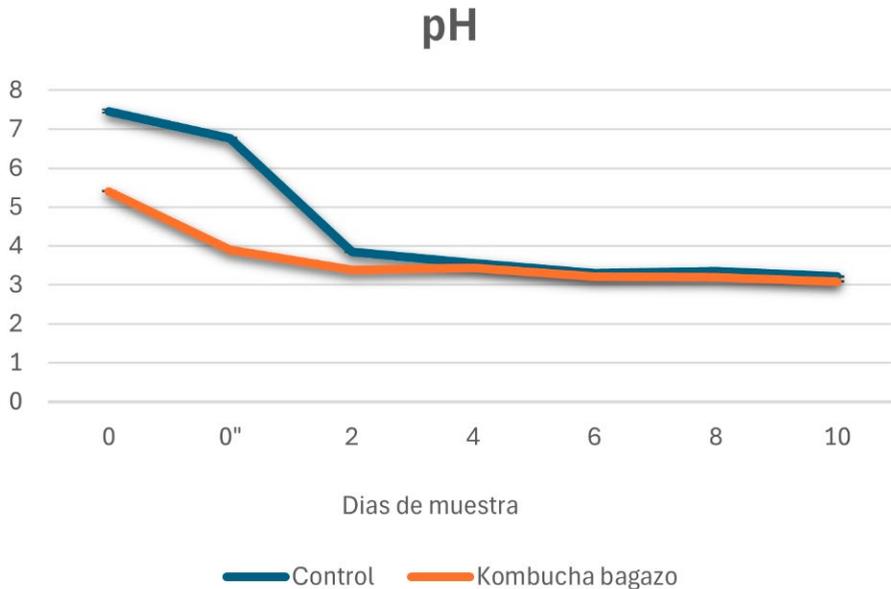


Figura 3. pH de las muestras Control y Kombucha de bagazo a lo largo del proceso de fermentación durante 10 días.

Como se muestra en la Figura 4, el valor de los grados Brix a día 0*, en la muestra control y la Kombucha de bagazo experimental, fue de media 6.70 ± 0.06 para el Control, y 6.80 ± 0.03 para la Kombucha bagazo, respectivamente. En comparación, al día 10 de fermentación, el valor promedio fue de 6.80 ± 0.06 para el control y de 7.05 ± 0.00 para la Kombucha de bagazo.

En la Figura 5, se observa un aumento progresivo en cuanto a los valores de acidez total conforme transcurren los días de fermentación. En el día 0, tras la introducción del SCOBY (0*), los valores medios de acidez fueron de 0.00 ± 0.00 g/l (no detectado) para el Control y 0.17 ± 0.00 g/l para la Kombucha de bagazo. Al finalizar la fermentación, en el día 10 de fermentación, el valor medio fue de 0.16 ± 0.00 g/l para el Control, y 0.45 ± 0.00 g/l para la Kombucha de bagazo.

Para poder realizar una comparativa con las Kombuchas comerciales, se usaron los datos

de pH, grados Brix y acidez del Control y de la Kombucha bagazo al finalizar el proceso de fermentación (día 10) (Tabla 1).

De acuerdo con el análisis estadístico realizado sobre los valores de pH, se observan valores significativamente más bajos en la Kombucha Comercial 1 comparada con el resto de los tratamientos ($p < 0.05$). El valor del pH en la muestra Control, Kombucha de bagazo y en la Comercial 2 no es significativamente diferente al final de la fermentación ($p > 0.05$).

En el parámetro de grados Brix, se identificaron diferencias significativas entre todas las muestras analizadas, con un p-valor cercano a 0.

De acuerdo con el análisis estadístico de la acidez, se observaron diferencias significativas entre todas las muestras analizadas ($p < 0.05$), excepto en la comparación entre la Kombucha de bagazo y la Kombucha Comercial 1 ($p > 0.05$).

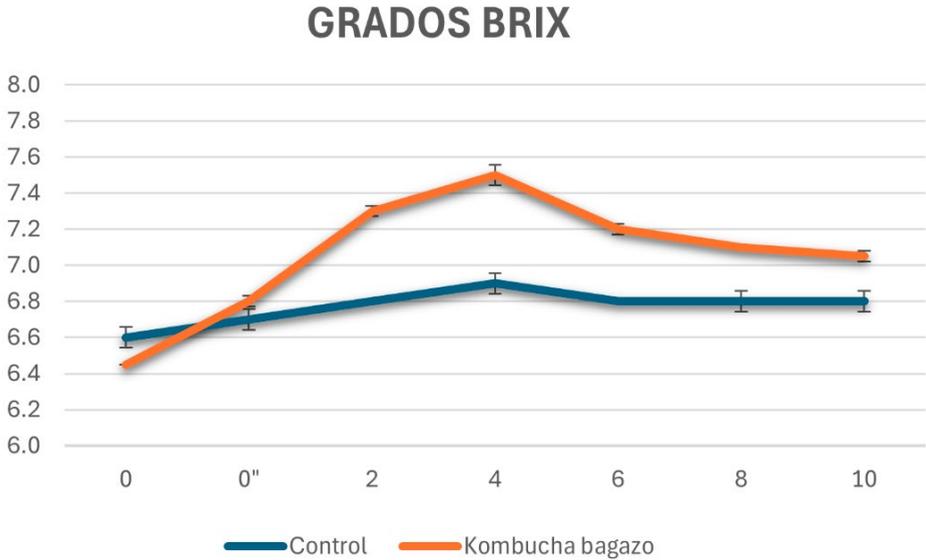


Figura 4. Resultados de grados Brix a lo largo del proceso de fermentación durante 10 días del tratamiento Control y la Kombucha de bagazo.

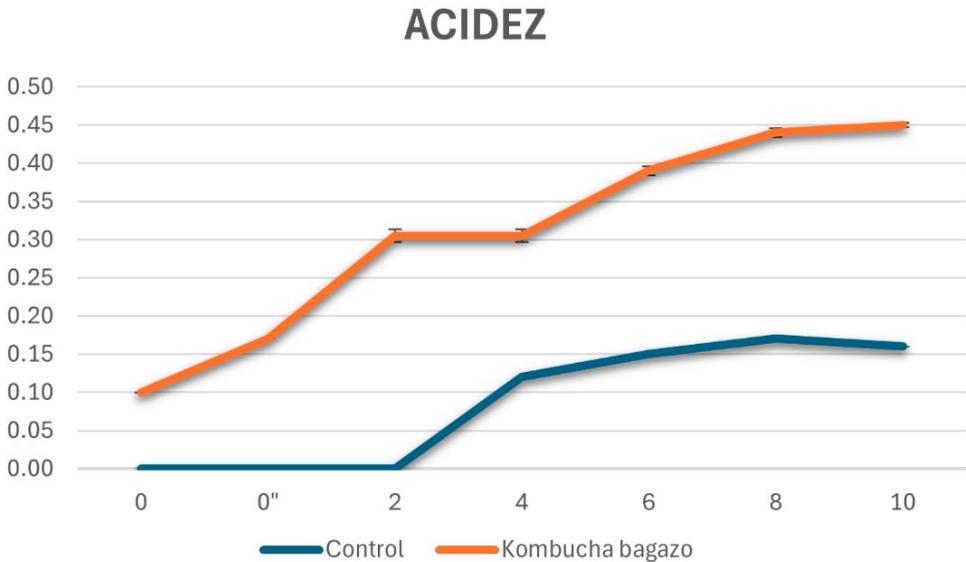


Figura 5. Acidez total (g/L) a lo largo del proceso de fermentación en muestras Control y Kombucha de bagazo.

Tabla 1. Características fisicoquímicas de pH, grados Brix y acidez de las diferentes kombuchas.

Tipo de Kombucha	pH	Parámetros	
		Grados Brix	Acidez
Control	3.22±0.01 ^a	6.8±0.06 ^b	0.16±0.00 ^c
Kombucha bagazo	3.08±0.01 ^a	7.05±0.03 ^a	0.45±0.00 ^a
Comercial 1	2.93±0.01 ^b	5.9±0.00 ^c	0.49±0.01 ^a
Comercial 2	3.16±0.01 ^a	4.2±0.02 ^d	0.26±0.00 ^b

Los datos corresponden a la media±desviación estándar. Letras diferentes en las columnas de los distintos parámetros: pH, grados Brix y acidez muestran diferencias significativas ($p<0.05$) entre los distintos subconjuntos detectadas mediante el test de Mann-Whitney para comparar dos muestras independientes.

2. Perfil cuantitativo de azúcares, etanol, y ácido acético en bebidas fermentadas tipo Kombucha

Tras analizar los azúcares en las diferentes muestras experimentales (Control, Kombucha experimental de bagazo y Kombuchas comerciales 1 y 2), se identificaron diferencias significativas en el contenido en sacarosa entre todas las muestras analizadas, con p-valores cercanos a cero, excepto en la comparación entre la Kombucha de bagazo y la Comercial 2, con un p-valor de 0.06. Se observó que el contenido de sacarosa fue significativamente más elevado en la bebida Control (agua, azúcar y SCOBY) con un contenido de 60.29±0.36 g/L en comparación con las otras kombuchas analizadas, que tuvieron valores de 24.08±3.55, 34.31±0.55 y 26.36±0.80 g/L en Kombucha de bagazo, Comercial 1 y Comercial 2, respectivamente (Figura 6).

En relación con el monosacárido glucosa, el tratamiento estadístico de los resultados obtenidos de su análisis, detectó diferencias significativas entre todas las muestras analizadas con excepción de la comparación entre la muestra Control y la Comercial 1, con un p-valor de 0.07. Para este parámetro, el valor medido en la Kombucha de bagazo fue significativamente mayor al detectado en los otros tres tratamien-

tos. Con respecto a la fructosa generada por la hidrólisis de la sacarosa añadida a las muestras, se observaron diferencias significativas entre todas las muestras analizadas, con un p-valor cercano a 0. Igual que para la glucosa, para la fructosa el valor medido en la Kombucha de bagazo fue significativamente mayor al detectado en los otros tres tratamientos.

En relación con el contenido de etanol en producto terminado, el análisis estadístico de las muestras revela diferencias significativas entre todas las muestras analizadas, con un p-valor cercano a 0. Se observó que el contenido de etanol fue significativamente más elevado en la bebida Comercial 1 con un contenido de 12096±152 mg/L en comparación con el Control y las otras kombuchas analizadas, que tuvieron valores de 75±7, 1360±242 y 3656±33 mg/l en la muestra Control, Kombucha de bagazo y Comercial 2, respectivamente (Figura 7). La Kombucha de bagazo muestra un contenido en etanol significativamente más elevado (1360 mg/L) que la Control (75 mg/L). Por otro lado, es de destacar que la Kombucha de bagazo elaborada en este estudio tiene un contenido de etanol significativamente menor que las comerciales (casi 9 veces menos que la Comercial 1 y 2.68 veces menos que la Comercial 2; $p<0.05$).

Como muestra la Figura 5 sobre la acidez evaluada en las bebidas fermentadas de baga-

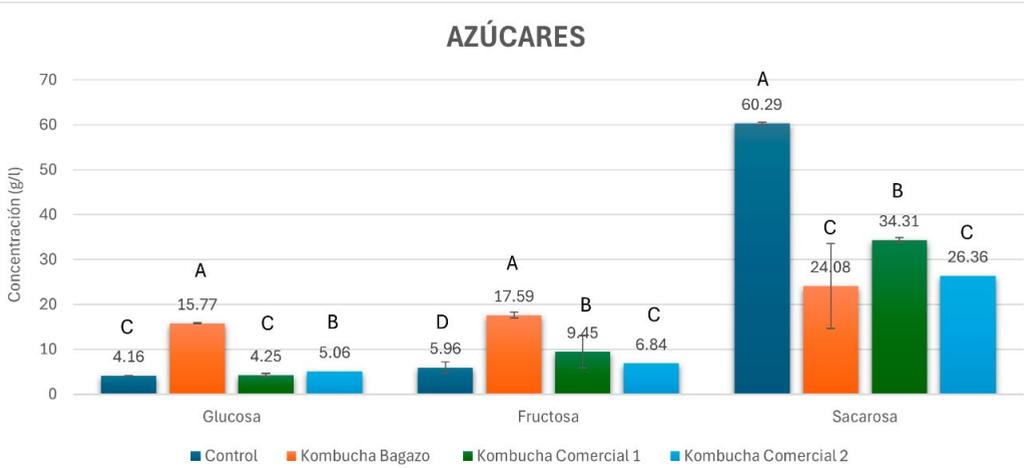


Figura 6. Perfil de azúcares (sacarosa, glucosa y fructosa) (g/L) en el día 10 de fermentación para las bebidas Control, Kombucha de Bagazo, y dos Kombuchas comerciales. Letras diferentes encima de las barras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos.

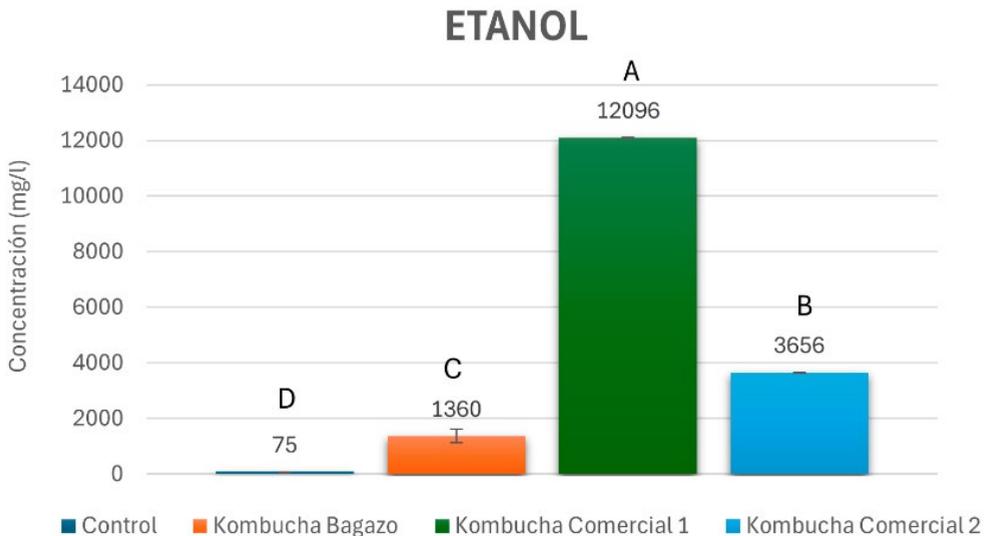


Figura 7. Contenido de etanol (mg/L) presente en Kombucha experimental de bagazo en comparación con las Kombuchas Comerciales y el Control. Letras diferentes encima de las barras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos.

zo, existe un incremento en dicho parámetro por el aumento de ácidos orgánicos durante el proceso fermentativo. Este incremento se debe, en parte, al aumento en la concentración de ácido acético, existiendo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las muestras analizadas al final de la fermentación (Figura 8). Destacando un valor de 2.55 ± 0.17 g/L de ácido acético registrado para la bebida fermentada experimental con bagazo con respecto a las muestras Control (0.21 ± 0.02 g/L). Por otra parte, el contenido de ácido acético detectado en la muestra Control fue significativamente menor que en el resto de las bebidas analizadas (0.21 g/L; Figura 8; $p < 0.05$). Para este parámetro también se observaron en el producto elaborado con bagazo valores similares a los observados en un producto comercial (Kombucha Comercial 1).

DISCUSIÓN

El uso de residuos alimentarios para la producción de kombucha ha sido objeto de estu-

dios previos que han evaluado la viabilidad de utilizar subproductos como el banano como sustrato para la fermentación de kombucha (Jarrin Diaz, 2023).

Asimismo, el subproducto del bagazo ha sido reutilizado en diferentes aplicaciones de la industria cervecera (Pacheco Espejo, M., 2022). Sin embargo, nuestro proyecto sobre kombucha elaborada con bagazo de uva, un subproducto del proceso de vinificación representa una investigación novedosa en el campo de las bebidas fermentadas. Durante las búsquedas bibliográficas realizadas en este estudio, no se han encontrado estudios en la literatura científica que hayan utilizado el bagazo de uva para la elaboración de kombucha.

El mayor pH inicial del Control comparado con la Kombucha de bagazo se debería a las características ácidas intrínsecas al subproducto enológico. El descenso gradual producido en el pH es un indicador de que la fermentación se está llevando a cabo, ya que el metabolismo de las bacterias y levaduras que se encuentran

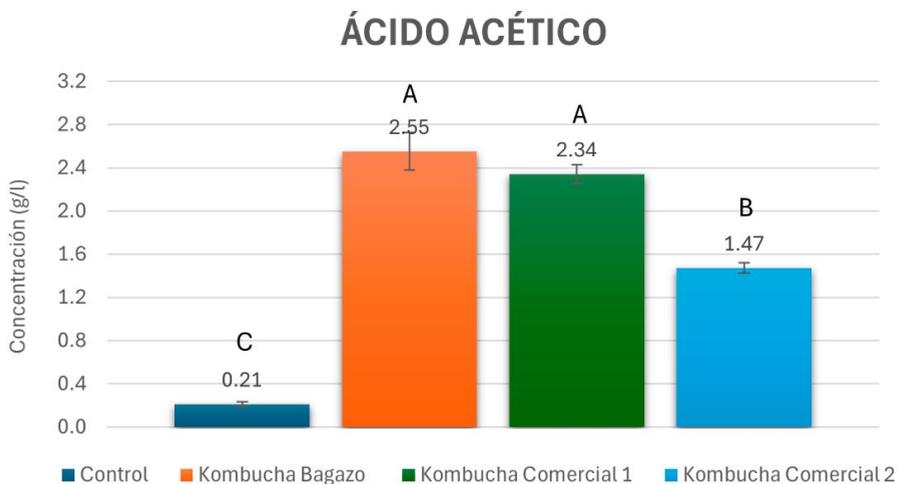


Figura 8. Concentración de ácido acético (g/L) al concluir el proceso de fermentación en la bebida Control, Kombucha de bagazo, y en las Kombuchas Comerciales. Letras diferentes encima de las barras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos.

en el SCOBY y en el medio produce ácidos orgánicos, responsables de la reducción del pH de la bebida, que se vuelve más ácida con el tiempo. Debido a este hecho, se estipulan periodos de fermentación entre 7-12 días para obtener kombuchas con propiedades fisicoquímicas y organolépticas atractivas para el consumidor. El hecho de que el pH de la Kombucha de bagazo no muestre diferencias significativas con la Kombucha Comercial 2, sugiere que está dentro de los rangos aceptables para su consumo. Estos resultados están en consonancia con estudios previos donde describen un pH inicial en torno a 5.00 que, con el tiempo estimado de fermentación, entre 10 y 15 días, debe reducir su nivel hasta un valor de 2.50 dependiendo de la matriz de origen vegetal utilizada (Dutta y Paul 2019). A nivel tecnológico, el bajo pH del producto juega un papel fundamental en su conservación al inhibir el crecimiento de microorganismos no deseados.

El aumento de acidez observado se debe también a la producción de ácidos orgánicos, como el ácido acético, por bacterias y levaduras, al consumir los azúcares presentes como fuente de energía para su metabolismo. Por otro lado, la menor acidez de la muestra Control puede atribuirse a la ausencia de azúcares adicionales y nutrientes presentes en el bagazo, lo que resulta en una fermentación menos activa y, por tanto, en una menor producción de ácidos. La similitud en los niveles de acidez entre la Kombucha de bagazo y la Kombucha Comercial 1 puede deberse a perfiles similares de ácidos orgánicos, lo que conduce a valores de acidez comparables. De nuevo, este resultado indica que el producto elaborado en este estudio presenta características similares a las de productos comerciales.

La fermentación de la kombucha es un proceso complejo que involucra la interacción de levaduras y bacterias acéticas para producir etanol y ácido acético, respectivamente. La fermentación alcohólica es llevada a cabo por levaduras, principalmente *Saccharomyces cere-*

visiae, que convierten los azúcares (glucosa y fructosa) en etanol y dióxido de carbono. En la etapa posterior de la fermentación, las bacterias acéticas (principalmente *Acetobacter aceti*) oxidan el etanol para producir ácido acético. La producción de ácido acético depende de la disponibilidad de oxígeno, el pH del medio, y la presencia de nutrientes adicionales que puedan modular la actividad microbiana. La conversión de etanol a ácido acético es un proceso crítico que determina el perfil final de la kombucha. Una mayor producción de etanol, seguida por su oxidación, puede resultar en un mayor contenido de ácido acético, lo que contribuye al sabor característico y a los beneficios para la salud de la kombucha. En la Kombucha de bagazo se observó un aumento significativo en el contenido de etanol en comparación con la muestra Control, lo que se debería a factores como los compuestos presentes en el bagazo que afectan a la actividad de levaduras y bacterias, las condiciones de fermentación, etc.

El ácido orgánico que más se genera durante el proceso fermentativo, es el ácido acético, aunque también se generan otros ácidos como son el ácido glucónico, glucurónico, cítrico, L-láctico, oxálico, tartárico, pirúvico y málico (Bueno et al., 2021, Jayabalan et al., 2016). El ácido acético es un ácido orgánico formado durante la fermentación de las kombuchas, que está estrechamente relacionado con las características organolépticas de las mismas, afectando directamente a su sabor e interviniendo en la aceptación por parte de los consumidores. La presencia de microorganismos (BAA) y su actividad metabólica y a la inclusión de una matriz *per se* ácida como es el bagazo de uva, podría favorecer condiciones que estimulen una mayor producción de ácido acético por parte de las BAA. Las levaduras convierten estos azúcares en etanol, que luego es oxidado a ácido acético por las bacterias acéticas (BAA). Así, un mayor contenido de azúcar inicial conduce a una mayor producción de etanol y, subsecuentemente, a una mayor producción de ácido acético. Este

proceso es evidente en el incremento significativo de ácido acético en la bebida fermentada con bagazo, debido a la actividad metabólica intensificada de las BAA en presencia de una matriz rica en azúcares y ácidos. Con respecto al porcentaje de ácido acético, teniendo en cuenta la normativa NTE INEN 2296:2013 con respecto a vinagres, la bebida elaborada con bagazo cumple con los límites máximos de 6%, teniendo valores incluso menores al 1%, con lo cual el consumo de esta bebida no presentaría problemas para la salud asociados al consumo excesivo de ácido acético (INEN, 2013). Los resultados obtenidos en el presente trabajo podrían indicar que, una vez alcanzado cierto grado de fermentación o en presencia de determinadas condiciones, la producción de ácido acético tiende a estabilizarse o a mantenerse por debajo de ciertos niveles, independientemente de las diferencias en la composición inicial de azúcares o de la capacidad de metabolización de los diferentes SCOBY, lo que habría que confirmar en ensayos futuros.

Por otra parte, la concentración de sólidos solubles totales, en grados Brix, (Figura 4) nos permite entender la cantidad de sustancias solubles presentes en las muestras analizadas, ofreciendo información sobre la calidad y composición de diferentes muestras. Los grados Brix de la kombucha generalmente disminuyen conforme progresa la fermentación, pero en el presente estudio en la kombucha experimental de bagazo se detectó un incremento. Este hallazgo es consistente con un estudio previo en el cual se sustituyó el té negro por café en el proceso de fermentación de kombucha, observándose una tendencia al aumento de los sólidos solubles. Este fenómeno puede ser atribuido a los compuestos generados por el metabolismo de las levaduras y bacterias presentes en la fermentación (Novillo et al., 2021). Estos metabolitos actúan contribuyendo al aumento de la concentración de sustancias solubles en la solución, lo cual se refleja en un incremento de la medida de los grados Brix. Adicionalmente, es impor-

tante destacar que la presencia de sacarosa no hidrolizada también juega un papel significativo en el valor de grados Brix, ya que contribuye a la concentración de azúcares solubles en la solución. La Kombucha de bagazo contiene azúcares residuales provenientes del bagazo, lo que incrementa los grados Brix. En contraste, la muestra Control depende exclusivamente del azúcar añadido al inicio del proceso de fermentación. Cabe destacar que, a partir del día 4 de fermentación se produce un ligero descenso en los valores de grados Brix debido al consumo de los azúcares por microorganismos, con la subsecuente producción de ácidos orgánicos como el ácido acético, contribuyendo a la acidificación del medio. Además, algunas cepas de bacterias presentes en la kombucha tienen la capacidad de producir polisacáridos extracelulares y formar una película o matriz gelatinosa en la superficie del líquido, reteniendo parte de los azúcares, disminuyendo así los valores de grados Brix (Marsh et al., 2020).

El análisis cuantitativo de azúcares (Figura 6), etanol (Figura 7) y ácidos orgánicos como el ácido acético (Figura 8) es esencial para una caracterización del perfil químico de las kombuchas. Estos parámetros son indicativos de la calidad, estabilidad y autenticidad de la bebida, además de influir en sus propiedades organolépticas y potencial valor nutricional.

Los valores obtenidos de los azúcares indicarían que el SCOBY de las muestras control podría necesitar un aporte adicional de nutrientes, para metabolizar los azúcares añadidos o podría afectar la velocidad de hidrólisis de la sacarosa en sus monosacáridos (fructosa y glucosa). Lo que indicaría que, la ausencia de una matriz fermentable, como el té o el bagazo, resultaría en un mayor contenido de sacarosa residual. En contraste, nuestra Kombucha experimental se encuentra dentro de los niveles de contenido en sacarosa de alguna de las kombuchas disponibles en el mercado.

Los valores más altos de glucosa y fructosa detectados en la Kombucha de bagazo se po-

drían deber a la presencia de residuos de glucosa y fructosa que se liberan durante el proceso de fermentación. Como se ha indicado anteriormente, hubo una mayor transformación de la sacarosa en la Kombucha de bagazo que en el Control. Esto indica que el bagazo puede estimular una mayor actividad enzimática durante la fermentación, lo que conduce a una mayor conversión de sacarosa en fructosa y glucosa. La presencia de una matriz vegetal como puede ser el bagazo de uva en la kombucha experimental elaborada en este estudio, puede actuar como una matriz fermentable que potencia la actividad fermentativa del SCOBY, al aportar otras moléculas aparte de azúcares, como aminoácidos u otros compuestos, necesarios para el correcto metabolismo de la colonia simbiótica. Además, el bagazo puede contener polisacáridos que experimentan hidrólisis, resultando en la liberación de glucosa y fructosa. Esta hidrólisis es facilitada por enzimas producidas por las levaduras y bacterias presentes en el SCOBY.

Por otro lado, es difícil determinar de manera exacta las causas de las diferencias en el contenido en azúcares entre la Kombucha de bagazo y las comerciales, ya que no se tienen detalles sobre el proceso de elaboración de las comerciales. Por ejemplo, el nivel de sacarosa al inicio de la fermentación, la diferente matriz vegetal, las condiciones de fermentación, y/o el tipo de SCOBY usado podrían haber causado dichas diferencias.

La producción de etanol durante la fermentación de kombucha está directamente relacionada con la cantidad de azúcares presentes. Los microorganismos (bacterias y levaduras) en la kombucha metabolizan los azúcares, produciendo etanol y otros subproductos. Las diferencias significativas observadas entre tratamientos en el contenido en etanol del producto terminado podrían deberse a las diferencias en la matriz usada en la elaboración de las diferentes kombuchas. El mayor contenido en etanol de la Kombucha de bagazo en comparación con el Control puede deberse a que las enzimas presentes en el bagazo

podrían promover una mayor actividad enzimática durante la fermentación.

Además, el etanol también tiene propiedades antimicrobianas que pueden contribuir a la estabilidad del producto, aunque niveles excesivamente altos pueden afectar negativamente el sabor y la calidad. Desde una perspectiva de salud, la Kombucha de bagazo presentaría un menor riesgo de efectos adversos ligados al consumo de alcohol, lo cual puede ayudar en la prevención de enfermedades crónicas, tener efectos antiinflamatorios, mejorar el metabolismo de los azúcares, etc.

Hay que destacar que, además de la menor cantidad de etanol de la Kombucha de bagazo en comparación con las versiones comerciales, esta bebida ofrecería otros beneficios adicionales para la salud debido a los nutrientes, antioxidantes y fibra presentes en el bagazo. Estos resultados de las medidas de etanol resaltan la kombucha experimental estudiada como una bebida saludable, con un perfil nutricional y funcional optimizado en comparación con las versiones comerciales.

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo, se puede concluir que es factible el uso del bagazo de uva, un subproducto de la industria vitivinícola, para el desarrollo de una bebida fermentada tipo kombucha con características fisicoquímicas similares a las de productos comerciales. La bebida experimental tipo kombucha desarrollada a partir de bagazo de uva cumple con los estándares de calidad fisicoquímica exigibles para este tipo de bebidas, pudiendo ser una alternativa sostenible, ya que se basa en el uso de subproductos agroalimentarios. Además, la bebida fermentada de bagazo desarrollada en este estudio presenta características distintivas y beneficiosas en relación al contenido de etanol, pudiendo valorarse como una alternativa saludable en el mercado de kombuchas.

FINANCIACIÓN

Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto AGROALNEXT, financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación con fondos NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) y con fondos de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia (CARM), a través de la Agencia de Ciencia y Tecnología de la Región de Murcia (Fundación Séneca).

AGROALNEXT



REFERENCIAS

- Amarasinghe, H., Weerakkody, N. S., & Waisundara, V. Y. (2018). Evaluation of physicochemical properties and antioxidant activities of kombucha “Tea Fungus” during extended periods of fermentation. *Food Science & Nutrition*, 6(3), 659-665.
- Balli, D., Cecchi, L., Innocenti, M., Bellumori, M., & Mulinacci, N. (2021). Food by-products valorisation: Grape pomace and olive pomace (pâté) as sources of phenolic compounds and fiber for enrichment of tagliatelle pasta. *Food Chemistry*, 355, 129642. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129642>
- Baldán, Y., Riveros, M., Fabani, M. P., & Rodríguez, R. (2021). Grape pomace powder valorization: A novel ingredient to improve the nutritional quality of gluten-free muffins. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01829-8>
- Base de datos | OIV. (s. f.). Recuperado 16 de mayo de 2023, de <https://www.oiv.int/es/what-we-do/data-discovery-report?oiv>
- Bolenz, S., & Glöde, L. (2021). Technological and nutritional aspects of milk chocolate enriched with grape pomace products. *European Food Research and Technology*, 247(3), 623-636. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03651-4>
- 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>
- 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.ij-foodmicro.2022.109783>
- Dutta, H., & Paul, S. K. (2019). Kombucha drink: Production, quality, and safety aspects. In *Production and management of beverages* (pp. 259-288). Woodhead Publishing. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128152607000080>
- Estrategia Española de Economía Circular y Planes de Acción. (s. f.). Recuperado 28 de mayo de 2023, de <https://www.miteco.gob.es/es/calidad-yevaluacion-ambiental/temas/economia-circular/estrategia/>
- Ferrer-Gallego, R., & Silva, P. (2022). The Wine Industry By-Products: Applications for Food Industry and Health Benefits. *Antioxidants*, 11(10), Art. 10. <https://doi.org/10.3390/antiox11102025>
- Gaglio, R., Barbaccia, P., Barbera, M., Restivo, I., Attanzio, A., Maniaci, G., Di Grigoli, A., Francesca, N., Tesoriere, L., Bonanno, A., Moschetti, G., & Settanni, L. (2021). The Use of Winery by-Products to Enhance the Functional Aspects of the Fresh Ovine «Primosale» Cheese. *Foods*, 10(2), 461. <https://doi.org/10.3390/foods10020461>

- Greenwalt, C., Ledford, R., & Steinkraus, K. (1998). Determinación y caracterización de la actividad antimicrobiana del té fermentado TeaKombucha. *Lwt - Ciencia y Tecnología de los Alimentos*, 31, 291-296.
- Jarrin Diaz, J. A., & Blanc Quimi, R. E. (2023). Evaluación del Proceso de Obtención de una Bebida Análoga al Té de Kombucha Utilizando Residuos del Banano como Sustrato. *ESPOL. FIMCP*.
- 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. (2016). Kombucha. Reference Module in Food Science. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03032-8>
- Lou, W., Bo Li, B., & Nataliya G. (2021). The influence of Cabernet Sauvignon wine grape pomace powder addition on the rheological and microstructural properties of wheat dough. *CyTA: Journal of Food*, 19(1), 751-761. <https://doi.org/10.1080/19476337.2021.1981458>
- López-Astorga, M., Molina-Quijada, C. C., Ovando-Martínez, M., Leon-Bejarano, M., (2022). Orujo de uva: Más que un residuo, una fuente de compuestos bioactivos. *Epistemus (Sonora)*, 16(33), 115-122. <https://doi.org/10.36790/epistemus.v16i33.283>
- Lynch, K. M., Steffen, E. J., & Arendt, E. K. (2016). Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. Review article. *J. Inst. Brew*, 122, 553–56. <https://doi.org/10.1002/jib.363>
- Maicas, S., & Mateo, J. J. (2020). Sustainability of Wine Production. *Sustainability*, 12(2), Art. 2. <https://doi.org/10.3390/su12020559>
- Marsh, A. J., O'Sullivan, O., Hill, C., Ross, R. P., & Cotter, P. D. (2020). Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiology*, 38, 171-178.
- Novillo, J. (2021). ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FERMENTADA CON TRES VARIETADES DE TÉ DE PULPA DE CAFÉ (typica, sarchymor y bourbón sydra), UTILIZANDO NIVELES DEL 1, 1.5 Y 2%. Riobamba, ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO. Consultado 22 nov. 2022. Disponible en <http://dspace.esoch.edu.ec/bitstream/123456789/15517/1/27T00469.pdf>.
- Pacheco Espejo, M. (2022). Estudio de alternativas de reutilización del bagazo producido en la industria cervecera. (Trabajo Fin de Grado Inédito). Universidad de Sevilla, Sevilla. <https://idus.us.es/handle/11441/143563>
- Silva, A., Silva, V., Igrejas, G., Aires, A., Falco, V., Valentão, P., & Poeta, P. (2023). Phenolic compounds classification and their distribution in winemaking by-products. *European Food Research and Technology*, 249(2), 207-239. <https://doi.org/10.1007/s00217-022-04163-z>
- Tolve, R., Simonato, B., Rainero, G., Bianchi, F., Rizzi, C., Cervini, M., & Giuberti, G. (2021). Wheat Bread Fortification by Grape Pomace Powder: Nutritional, Technological, Antioxidant, and Sensory Properties. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(1), 75. <https://doi.org/10.3390/foods10010075>
- Troilo, M., Difonzo, G., Paradiso, V. M., Summo, C., & Caponio, F. (2021). Bioactive Compounds from Vine Shoots, Grape Stalks, and Wine Lees: Their Potential Use in Agro-Food Chains. *Foods*, 10(2), Art. 2. <https://doi.org/10.3390/foods10020342>
- Tseng, A., & Zhao, Y. (2013). Wine grape pomace as antioxidant dietary fibre for enhancing nutritional value and improving storability of yogurt and salad dressing. *Food Chemistry*, 138(1), 356-365.