

Elaboración de kombucha enriquecida con *Chlorella vulgaris* a partir del mucílago de *Theobroma cacao* L.

Production of kombucha enriched with *Chlorella vulgaris* from *Theobroma cacao* L. mucilage

Reni Danilo Vinocunga-Pillajo ^{1,2}, Alexis Fabián Coello Baños ^{1,3}, Manuel Lázaro Pérez Quintana ^{1,4}.

¹Universidad Estatal Amazónica. Puyo, Ecuador. ²✉ danilovinocunga@gmail.com; ³✉ af.coellob@uea.edu.ec; ⁴✉ mperez@uea.edu.ec



DOI: <https://doi.org/10.15446/acag.v73n4.120585>

2024 | 73-4 p 361-367 | ISSN 0120-2812 | e-ISSN 2323-0118 | Rec.: 2025-05-26 Acep.: 2025-09-21

Resumen

El objetivo del presente estudio fue formular una bebida nutricional de kombucha a partir del mucílago del cacao con diferentes concentraciones de *Chlorella vulgaris*. Se diseñaron 3 tratamientos con diferentes concentraciones de microalga (2, 4 y 6 g), manteniendo constantes los demás ingredientes, y se aplicaron principios de buenas prácticas de manufactura durante la elaboración. Las muestras fueron sometidas a análisis fisicoquímicos, bromatológicos y sensoriales, empleando métodos estandarizados como AOAC, HPLC y espectrofotometría UV-Vis. Para el análisis estadístico, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn. Los resultados mostraron que la mayor concentración de microalga (6 g) incrementó la actividad antioxidante (1584.77 mg eq. Trolox/l), el contenido de aminoácidos (336.28 mg/l) y polifenoles totales (825.06 mg EAG/l), sin alterar significativamente el pH ni el contenido alcohólico. En términos sensoriales, esta formulación obtuvo mayores puntuaciones en olor y sabor, con diferencias significativas frente a las otras 2. Se concluye que el mucílago de cacao representa una alternativa fermentativa viable, y que la incorporación de *Chlorella vulgaris* a 6 g potencia el valor nutricional y sensorial de la kombucha.

Palabras claves: aminoácidos, análisis sensorial, antioxidantes, fermentación simbiótica, polifenoles.

Abstract

The objective of this study was to develop a nutritional kombucha beverage using cacao mucilage with different concentrations of *Chlorella vulgaris*. Three treatments were designed, each with a different concentration of microalgae (2, 4, and 6 g), while keeping the other ingredients constant and applying Good Manufacturing Practices during production. The samples underwent physicochemical, bromatological, and sensory analyses, using standardized methods such as AOAC, HPLC, and UV-Vis spectrophotometry. The Kruskal-Wallis test followed by Dunn's post hoc test was applied for statistical analysis. The results showed that the highest microalgae concentration (6 g) increased the beverage's antioxidant activity (1584.77 mg Trolox equivalents/l), amino acid content (336.28 mg/l), and total polyphenols (825.06 mg GAE/l), without significantly altering pH or alcohol content. In sensory terms, this formulation received higher scores of aroma and flavor, with significant differences compared to the other two formulations. It is concluded that cacao mucilage is a viable fermentative alternative, and incorporating *Chlorella vulgaris* at 6 g enhances both the nutritional and sensory value of kombucha.

Keywords: Amino acids, antioxidants, polyphenols, sensory analysis, symbiotic fermentation.

Introducción

Los probióticos, según la definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), son “microorganismos vivos que, cuando se ingieren en cantidades adecuadas, proporcionan beneficios a la salud del anfitrión”. Estos beneficios incluyen la prevención y tratamiento de una amplia gama de afecciones, lo que mejora la salud en general (Tabrizi *et al.*, 2020). Entre los alimentos que son una rica fuente de probióticos se encuentra la kombucha, una bebida fermentada que ha ganado prominencia por sus ventajas para el bienestar (Almeida *et al.*, 2023). Su origen se atribuye a Manchuria, en el noreste de China, desde donde se expandió a Japón, Corea, India, Java y Filipinas, y actualmente se consume en países como Rusia, Alemania, Reino Unido y América (Antolak *et al.*, 2021).

La kombucha se elabora a partir de la fermentación de té negro o verde endulzado con un 5-8 % de azúcar, mediante la acción de bacterias acéticas y levaduras (Coelho *et al.*, 2020). Al concluir la fermentación, se generan etanol, ácido glucónico y ácido acético. También se identifican polifenoles del té, como catequinas, teaflavinas y flavanoles. Así mismo, incluye una variedad de ácidos orgánicos: fólico, láctico, málico, cítrico, entre otros (Abaci *et al.*, 2022). El creciente interés global por productos saludables ha impulsado su presencia en el mercado de alimentos y bebidas. En 2019, el valor de mercado de la kombucha alcanzó los 1900 millones de USD, y se proyecta una tasa de crecimiento anual del 16.8 % para el periodo 2020-2025. Al finalizar dicho periodo, se estima que su valor oscilará entre 3500 y 5000 millones de USD (De Oliveira *et al.*, 2023).

En el procesamiento del cacao, se genera el mucílago, que representa aproximadamente el 52 % del peso total del fruto (Soares y Oliveira, 2022). Este subproducto, generalmente descartado, contribuye a una huella de carbono estimada en 26.04 tCO₂e durante la etapa de poscosecha (Cabezas-Andrade *et al.*, 2024). Sin embargo, su potencial como medio fermentativo en kombucha no ha sido suficientemente investigado, lo que impide su aprovechamiento y contribuye a su gestión ineficiente. Esta limitación impide comprender su comportamiento frente al consorcio simbiótico de bacterias y levaduras característico de esta bebida (Villarreal-Soto *et al.*, 2018). La ausencia de investigaciones dificulta el establecimiento de parámetros estandarizados de formulación, control de calidad y composición nutricional, lo cual restringe el aprovechamiento de estos insumos en el desarrollo de bebidas funcionales innovadoras.

El presente estudio cobra relevancia al proponer el aprovechamiento del mucílago de cacao, subproducto rico en azúcares fermentables, como medio alternativo para la elaboración de kombucha. El mucílago

de cacao, residuo agroindustrial, habitualmente desaprovechado, posee un alto valor nutricional y representa una opción sostenible dentro de la economía circular (Lóor Vélez y Heredia Moyano, 2023). A su vez, la incorporación de *Chlorella vulgaris*, microalga reconocida por su elevado contenido proteico, aminoácidos esenciales, vitamina B12 y compuestos antioxidantes, permite enriquecer nutricionalmente la bebida y ampliar su funcionalidad (López-Padrón *et al.*, 2020).

Frente a la necesidad de innovar en alimentos saludables y reducir el desperdicio agroindustrial, esta propuesta plantea una alternativa tecnológicamente viable y alineada con las tendencias de consumo responsable. El objetivo de esta investigación fue formular una bebida nutricional de uso humano (kombucha), a partir del mucílago del cacao con diferentes concentraciones de *Chlorella vulgaris*.

Metodología

Localización

La investigación se llevó a cabo en la Universidad Estatal Amazónica (UEA), situada en el Paso Lateral km 2½, dirección a Napo, en el cantón Puyo, de la provincia de Pastaza. La UEA se encuentra en el corazón de la Amazonía Ecuatoriana, con coordenadas que oscilan entre 1° 10' de latitud sur y 78° 10' de longitud oeste, y 2° 35' de latitud sur y 76° 40' de longitud oeste.

Procedimiento experimental

En la Tabla 1 se muestran los ingredientes y la cantidad de cada materia prima para las 3 concentraciones de *Chlorella vulgaris*. Para la elaboración de la kombucha con mucílago del cacao, se comenzó con la recepción de la materia prima, sobre la cual se llevó a cabo una inspección visual y una limpieza meticulosa para eliminar impurezas. El mucílago se obtuvo de frutos de *Theobroma cacao* L. cultivar nacional, cosechados en estado de maduración 4-5, procedentes de la provincia de Pastaza, Ecuador.

Siguiendo los principios de buenas prácticas de manufactura, el cacao se lavó antes de la extracción. El mucílago se obtuvo de manera manual de la mazorca. Posteriormente, se utilizó un colador fino o tela de algodón para filtrar el mucílago y eliminar residuos sólidos, asegurando que no quedaran semillas ni otros sólidos en suspensión. El líquido filtrado se recogió en un recipiente previamente limpiado. Luego, se pasteurizó el mucílago calentándolo a 70 °C durante 5 minutos y se dejó enfriar, garantizando así la eliminación de posibles microorganismos y obteniendo un producto de calidad e higiénico (Figura 1).

Posteriormente, se hirvió agua y se le añadió el contenido de té negro. Tras dejar reposar la infusión, se procedió a retirar el contenido del té negro. Al té caliente se incorporó azúcar hasta que su disolución (Figura 2). A esta mezcla se añadió el cultivo iniciador (SCOBY) y se cubrió el recipiente con tela de algodón. La fermentación se realizó a temperatura ambiente promedio de 25 ± 2 °C durante 7 días. Tras la adición del jugo de mucílago, *Chlorella vulgaris* y benzoato de sodio, la bebida permaneció a la misma temperatura (25 ± 2 °C). Finalmente, las muestras se conservaron en refrigeración a 4 ± 1 °C durante 7 días hasta la realización de los análisis.

Los tratamientos se sometieron, antes del análisis sensorial, a recuentos microbiológicos de aerobios mesófilos, mohos, levaduras y coliformes totales (*Escherichia coli*). Los resultados confirmaron la ausencia de coliformes y *E. coli*, con recuentos de mesófilos y hongos dentro de rangos aceptables para bebidas fermentadas no alcohólicas.

Determinaciones fisicoquímicas

La evaluación de la kombucha suplementada con *Chlorella vulgaris* incluyó la determinación de materia seca, cenizas, pH, alcohol y carbohidratos. La materia seca se cuantificó mediante secado en estufa a 105 °C, y se registró la pérdida de masa por evaporación de agua (Mortazavian *et al.*, 2010). Las cenizas totales se estimaron mediante incineración en horno mufla a 550 °C, de acuerdo con la norma (INEN 401, 2013). El pH se midió directamente en la muestra líquida utilizando pH-metro (Suh y Rodríguez, 2017). El contenido de alcohol se evaluó mediante destilación simple y lectura con alcoholímetro (Veiga, 2016). Los carbohidratos totales se determinaron siguiendo el método AOAC (2023), que consiste en la hidrólisis

ácida de polisacáridos con ácido clorhídrico 6 N a 100 °C durante 2 h, seguida de neutralización y cuantificación de la glucosa liberada por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) con detector de índice de refracción.

Determinaciones bromatológicas

Se analizaron parámetros relacionados con la calidad nutricional y funcional de la bebida. La acidez total se determinó mediante valoración ácido-base con NaOH; se detectó el punto final con fenolftaleína y se calculó el contenido de ácido acético (Valdez-Fragoso *et al.*, 2013). Los polifenoles totales se cuantificaron con el método Folin-Ciocalteu, que registró absorbancia a 765 nm (Muñoz-Bernal *et al.*, 2017). La capacidad antioxidante se evaluó mediante el método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), que mide la reducción de Fe^{3+} a Fe^{2+} en medio ácido y la absorbancia a 593 nm (Fernandes *et al.*, 2022).

Los aminoácidos totales fueron liberados por hidrólisis con HCl 6 N, derivados e identificados por HPLC (AOAC, 2023). Finalmente, el fósforo se cuantificó mediante espectrofotometría UV-Vis, tras digestión ácida de cenizas y lectura a 880 nm (Chileshe *et al.*, 2020). Todos los análisis se realizaron en triplicado y utilizando curvas de calibración con estándares certificados.

Prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis

Se realizó un análisis sensorial con 30 evaluadores (estudiantes y personal universitario), edad promedio 24 años (rango 20-35). Se excluyeron participantes con alergias declaradas a ingredientes de la matriz. Antes de la prueba, el grupo recibió inducción breve sobre uso de la escala hedónica (Tabla 2) y condiciones de evaluación (Severiano Pérez, 2019). El estudio contó con aval de la Universidad Estatal Amazónica y consentimiento informado por escrito de cada participante.

Las muestras se sirvieron a 8 ± 1 °C, en porciones de 30 ml, dentro de vasos plásticos transparentes desechables (60 ml) con códigos aleatorios de 3 dígitos. La presentación fue monádica y balanceada entre panelistas. El servicio se realizó en sala con luz blanca neutra, sin interferencias aromáticas. Se entregó agua a temperatura ambiente entre muestras y se fijó un intervalo de 2-3 min entre evaluaciones.

Tabla 1. Ingredientes para las 3 concentraciones de *Chlorella vulgaris* en la kombucha

Ingrediente	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
Zumo del mucílago del cacao	300 ml	300 ml	300 ml
Azúcar refinada	50 g	50 g	50 g
Cultivo iniciador de kombucha	1 disco	1 disco	1 disco
<i>Chlorella vulgaris</i>	2 g	4 g	6 g
Té negro	30 g	30 g	30 g
Benzoato de sodio	0.8 g	0.8 g	0.8 g
Agua	500 ml	500 ml	500 ml

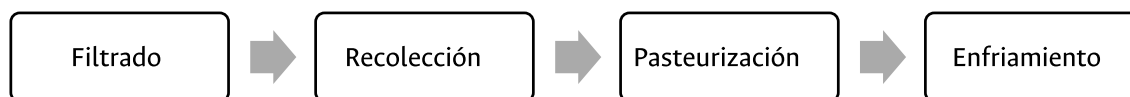


Figura 1. Obtención de zumo del mucílago del cacao.

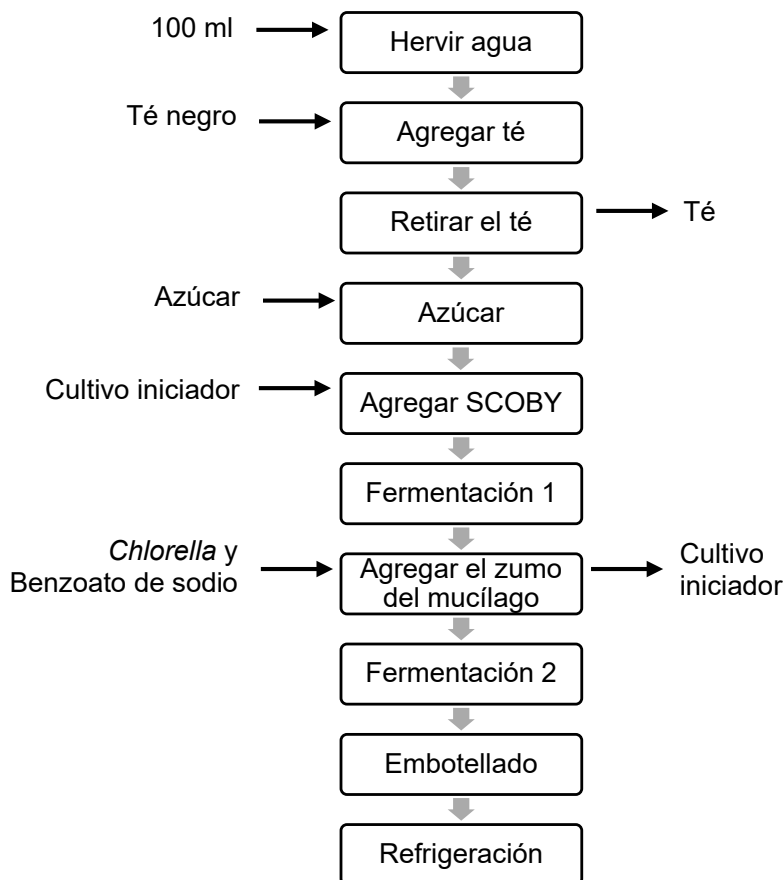


Figura 2. Elaboración de la kombucha.

Análisis estadístico

Los valores reportados para parámetros fisicoquímicos y bromatológicos corresponden a promedios \pm desviación estándar ($n= 3$ réplicas analíticas por tratamiento). La bebida se elaboró en un lote por tratamiento, seguido de mediciones independientes en triplicado. Los resultados fueron analizados mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y, cuando se identificaron diferencias significativas, se aplicó la prueba de Dunn con corrección de Bonferroni. El procesamiento estadístico se efectuó en Statgraphics Centurion XVIII.

Resultados

Parámetros fisicoquímicos

La materia seca en las muestras de kombucha se mantuvo entre 15.20 y 15.32 %. En cuanto a las cenizas totales, se observó un incremento de 0.21 a 0.22 % al aumentar la concentración de microalga de 2 a 6 g (Tabla 3). El pH se mantuvo en un rango estrecho entre 3.33 y 3.36, sin diferencias significativas entre tratamientos. El contenido de alcohol disminuyó de 2.50 % en la formulación con 2 g a 2.10 % en las formulaciones con 4 y 6 g.

Tabla 2. Escala hedónica de sabor, olor, color y textura

Puntaje	Evaluación del color	Evaluación del olor	Evaluación del sabor	Evaluación de la textura
5	Me gusta mucho	Me gusta mucho	Me gusta mucho	Me gusta mucho
4	Me gusta	Me gusta	Me gusta	Me gusta
3	Ni me gusta ni me disgusta	Ni me gusta ni me disgusta	Ni me gusta ni me disgusta	Ni me gusta ni me disgusta
2	No me gusta	No me gusta	No me gusta	No me gusta
1	Me disgusta mucho	Me disgusta mucho	Me disgusta mucho	Me disgusta mucho

Los carbohidratos totales variaron entre 139.45 y 154.50 mg/l, con el valor más alto en la muestra en 4 g, mientras que la formulación con 6 g mostró una ligera disminución (140.29 mg/l). El fósforo se encontró en un rango de 288.74 a 296.63 mg/l, con los valores más altos en las formulaciones con 2 y 4 g de microalga.

Parámetros bromatológicos

Los valores de acidez total oscilaron entre 11.8 y 12.0 %, expresados en equivalentes de ácido acético. La acidez fue constante en las muestras con 2 y 4 g, mientras que la formulación con 6 g presentó un incremento leve (Tabla 4). Los polifenoles totales se encontraron entre 776.20 y 825.06 mg equivalentes de ácido gálico por litro (mg EAG/l), cuya concentración más baja fue en la formulación con 4 g y la más alta en la de 6 g.

La capacidad antioxidante aumentó progresivamente con la suplementación, ya que alcanzó valores entre 1512.64 y 1584.77 mg equivalentes de Trolox por litro, con el mayor nivel en la formulación con 6 g. Los aminoácidos oscilaron entre 244.89 mg/l y 336.28 mg/l; allí la formulación con 6 g registró el mayor contenido frente al valor más bajo en la muestra con 4 g.

Análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis

El análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis evidenció diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las medianas de los tratamientos en todos los atributos sensoriales evaluados: color ($p = 0.0383$), olor ($p = 0.0110$), sabor ($p = 0.0206$) y textura ($p = 0.0134$) (Tabla 5). Estos resultados indican que al menos uno de los tratamientos con diferentes concentraciones generó percepciones sensoriales diferenciadas por parte del panel. La significancia observada sugiere que la incorporación de *Chlorella* influye en la

aceptabilidad organoléptica de la kombucha, lo cual resalta la importancia de evaluar cuidadosamente la concentración utilizada para equilibrar sus beneficios nutricionales sin comprometer la percepción del consumidor.

La prueba de Dunn para el atributo color no mostró diferencias significativas entre los tratamientos. Todos los valores de p -ajustado fueron superiores a 0.05, lo que confirma la homogeneidad perceptual identificada previamente con la prueba de Kruskal-Wallis (Tabla 6).

La prueba de Dunn identificó diferencias significativas en el atributo de olor entre los tratamientos. T3 (6 g de *Chlorella vulgaris*) presentó diferencias frente a T1 y T2, con p -valores ajustados de 0.0010 y 0.0234, respectivamente, lo que indica una percepción olfativa diferenciada en la muestra con mayor concentración.

La prueba de Dunn para el atributo de sabor mostró diferencias significativas entre los tratamientos. T3 (6 g de *Chlorella vulgaris*) presentó valores de $p = 0.0473$ frente a T1 y $p = 0.0041$ frente a T2, lo que indica una mayor aceptación gustativa en la muestra con mayor concentración del alga.

La prueba de Dunn para el atributo de textura no mostró diferencias significativas entre tratamientos ($p = 0.06$). Sin embargo, las comparaciones T1 vs. T3 y T2 vs. T3 presentaron p -valores ajustados de 0.0601, lo que indica una proximidad al umbral de significancia.

Discusión

Los valores obtenidos superan notablemente los niveles de acidez registrados en kombuchas tradicionales, que se encuentran entre 0,36 y 0,32 % (Malbaña *et al.*, 2011). Esta diferencia puede atribuirse a la presencia de *Chlorella vulgaris* y mucílago de cacao, cuya composición rica en carbohidratos

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos y nutricionales en kombucha suplementada con *Chlorella vulgaris*

Muestra	Materia seca (%) \pm DE	Cenizas totales (%) \pm DE	pH \pm DE	Alcohol (%) \pm DE	Carbohidratos totales (mg/l \pm DE)	Fósforo (mg/l \pm DE)
2 g	15.32 \pm 0.12	0.21 \pm 0.01	3.33 \pm 0.02	2.50 \pm 0.04	139.45 \pm 1.50	293.64 \pm 2.80
4 g	15.20 \pm 0.15	0.22 \pm 0.01	3.36 \pm 0.03	2.06 \pm 0.03	154.50 \pm 1.60	296.63 \pm 2.60
6 g	15.30 \pm 0.14	0.22 \pm 0.01	3.36 \pm 0.02	2.10 \pm 0.05	140.29 \pm 1.40	288.74 \pm 2.70

*Valores expresados como promedio \pm desviación estándar; $n = 3$ réplicas analíticas por tratamiento.

Tabla 4. Parámetros bromatológicos y funcionales en kombucha suplementada con *Chlorella vulgaris*

Muestra	Ácidos totales (% ácido acético \pm DE)	Polifenoles totales (mg EAG/L \pm DE)	Actividad antioxidante (mg eq. Trolox/L \pm DE)	Aminoácidos totales (mg/L \pm DE)
2 g	11.8 \pm 0.2	812.80 \pm 5.6	1 512.64 \pm 12.3	303.70 \pm 3.8
4 g	11.8 \pm 0.3	776.20 \pm 6.1	1 574.77 \pm 11.8	244.89 \pm 4.2
6 g	12.0 \pm 0.2	825.06 \pm 5.9	1 584.77 \pm 12.6	336.28 \pm 3.6

*Valores expresados como promedio \pm desviación estándar; $n = 3$ réplicas analíticas por tratamiento.

fermentables y compuestos bioactivos influye sobre la actividad del consorcio SCOBY, lo cual intensifica la síntesis de ácidos orgánicos como el acético y el glucónico (Vera Chang *et al.*, 2023). Adicionalmente, variables como la temperatura, duración de la fermentación y condiciones de almacenamiento afectan directamente esta producción ácida (Loureiro *et al.*, 2017), lo que sugiere un entorno favorable para una mayor actividad metabólica microbiana en las formulaciones evaluadas.

Cardoso *et al.* (2020) reportaron niveles de 700-1090 mg EAG/l respecto a los valores obtenidos de polifenoles se encuentran dentro de ese rango, lo que refleja la contribución del mucílago de cacao como fuente de compuestos fenólicos. La falta de un patrón ascendente sugiere una respuesta no lineal a la concentración de *Chlorella vulgaris*.

Los valores alcanzados evidencian un efecto directo de los compuestos antioxidantes de *Chlorella vulgaris*. Sun *et al.* (2015) reportaron incrementos similares al incorporar jugo de pasto de trigo en bebidas fermentadas. Jayabalan *et al.* (2008) y Chu y Chen (2006) indicaron que condiciones controladas como temperatura y tiempo de fermentación favorecen la acumulación de antioxidantes.

La variación en los niveles de carbohidratos está influenciada por la composición de los polisacáridos presentes en las hojas de té y el mucílago de cacao. Kaewkod *et al.* (2019) reportaron que los azúcares presentes en el té y el mucílago, como los ácidos

urónicos y monosacáridos neutros, afectan la utilización microbiana. Por su parte, Antolak *et al.* (2021) señalaron que la actividad de la invertasa y la liberación de glucosa y fructosa pueden alterarse con la inclusión de *Chlorella vulgaris*, lo que modifica el consumo de carbohidratos durante la fermentación.

Sen *et al.* (2020) atribuyen la variación de aminoácidos en bebidas fermentadas a ajustes metabólicos del SCOBY ante cambios nutricionales. El incremento observado con 6 g podría estar relacionado con el aporte proteico de *Chlorella vulgaris*. Martínez Leal *et al.* (2018) mencionaron que compuestos como la teanina también influyen en el perfil aminoacídico final.

A su vez, Jayabalan *et al.* (2010) y Kaewkod *et al.* (2019) reportaron niveles de fósforo inferiores a 100 mg/l en kombuchas tradicionales. El aumento observado puede atribuirse al contenido mineral de *Chlorella vulgaris*, rica en fósforo, hierro y manganeso (Jakubczyk *et al.*, 2020). Bishop *et al.* (2022) destacaron que estos minerales se ven afectados por las condiciones de fermentación.

El leve aumento en cenizas puede explicarse por el contenido mineral de *Chlorella vulgaris*, reconocida por su aporte de micronutrientes esenciales. Este incremento no altera significativamente los sólidos totales, pero sí contribuye a mejorar el perfil nutricional global de la bebida fermentada.

Villarreal-Soto *et al.* (2018) indicaron que este rango de pH (entre 2,5 y 4,2) es típico y seguro para el consumo de kombucha. Hammel *et al.* (2016) reportaron valores similares en fermentaciones controladas, lo que respalda la estabilidad observada y la acción reguladora del SCOBY.

Por otra parte, Chen y Liu (2000) observaron un pico de 5,5 g/l de etanol seguido de una reducción durante la fermentación. La disminución en este estudio podría estar relacionada con un metabolismo

Tabla 5. Análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis en la Kombucha

Atributo	Estadístico de prueba	Grados de libertad	Valor p
Color	6.523049	2	0.03832993
Olor	9.017499	2	0.01101222
Sabor	7.762073	2	0.02062944
Textura	8.630857	2	0.01336082

Tabla 6. Prueba de Dunn en los atributos de color, olor y sabor

Atributo	Chi-cuadrado	Grados de libertad	p-valor	Comparaciones	Z-valor	p-valor ajustado
Color	1.9883	2	0.37	T1 vs. T2	-0.5737	0.8493
				T1 vs. T3	0.8287	0.6109
				T2 vs. T3	1.4024	0.2412
Olor	12.2399	2	0.000	T1 vs. T2	-0.9800	0.4907
				T1 vs. T3	-3.3985	0.0010*
				T2 vs. T3	-2.4186	0.0234*
Sabor	9.5518	2	0.01	T1 vs. T2	0.8476	0.5950
				T1 vs. T3	-2.1501	0.0473*
				T2 vs. T3	-2.9977	0.0041*
Textura	5.619	2	0.06	T1 vs. T2	0.0000	1.0000
				T1 vs. T3	-2.0529	0.0601
				T2 vs. T3	-2.0529	0.0601

**Chlorella vulgaris* de 2 g (tratamiento T1), *Chlorella vulgaris* de 4 g (tratamiento T2) y *Chlorella vulgaris* de 6 g (tratamiento T3).

más eficiente del SCOBY, estimulado por los nutrientes aportados. Villarreal-Soto *et al.* (2018) destacaron que este tipo de adiciones modula la actividad de levaduras y bacterias, lo cual afecta la dinámica del etanol.

Los resultados respecto al color indican que la concentración de *Chlorella vulgaris* no generó cambios visuales perceptibles. Spence *et al.* (2010) sugieren que factores como la uniformidad del sustrato y el entorno sensorial influyen en la percepción del color, lo que podría explicar la estabilidad observada en esta matriz fermentada.

Los resultados respecto al olor, Okechukwu *et al.* (2022) indicaron que la adición de *Chlorella* en bebidas fermentadas puede aumentar flavonoides y polifenoles, compuestos asociados a mejoras en el perfil aromático. Esto respalda la mayor aceptación olfativa observada en la muestra con 6 g, atribuible a una mayor liberación de volátiles funcionales.

En resultados respecto al sabor, Qazi *et al.* (2022) reportaron que *Chlorella vulgaris* aporta aminoácidos y péptidos que optimizan el sabor en alimentos fermentados. Esta composición funcional podría explicar la mejor percepción gustativa observada, al reducir notas indeseables y favorecer la preferencia del consumidor.

En cuanto a los resultados respecto al textura, Sahni *et al.* (2019) señalaron que *Chlorella vulgaris* puede modificar las propiedades texturales según la matriz y el método de formulación. La tendencia observada en este estudio sugiere que una mayor concentración del alga podría empezar a influir en la percepción de textura en la kombucha.

Conclusiones

La elaboración de kombucha con mucílago de cacao y *Chlorella vulgaris* evidenció que es posible integrar subproductos agroindustriales con ingredientes funcionales para desarrollar una bebida nutricionalmente enriquecida. El enfoque experimental, basado en buenas prácticas de manufactura y pruebas estadísticas como Kruskal-Wallis y Dunn, facilitó la identificación del tratamiento más equilibrado en términos de calidad y aceptación. Entre las formulaciones evaluadas, la bebida suplementada con 6 g de *Chlorella vulgaris* mostró un perfil más favorable al integrar mayores niveles de compuestos bioactivos (polifenoles y aminoácidos), mejor capacidad antioxidante y una percepción sensorial positiva, lo que la posiciona como la alternativa más prometedora para el desarrollo de productos funcionales innovadores.

Referencias

- Abaci, N.; Senol Deniz, F. S. y Orhan, I. E. (2022). Kombucha – An ancient fermented beverage with desired bioactivities: A narrowed review. *Food Chemistry*, X, 14, 100302. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100302>
- Almeida, M. E. F. d.; Miranda, J. A. d. y Cavicchia, L. O. A. (2023). Knowledge of nutritionists on the management of type 1 Diabetes mellitus regarding macronutrient counts and insulin units. *Research, Society and Development*, 12(9), e10212943162. <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i9.43162>
- Antolak, H., Piechota, D. y Kucharska, A. (2021). Kombucha tea. A Double power of bioactive compounds from tea and symbiotic culture of bacteria and yeasts (SCOBY). *Antioxidants*, 10(10), 1541. <https://doi.org/10.3390/antiox10101541>
- AOAC. (2023). *Official methods of analysis: 22° edition*. AOAC International; Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/9780197610145.002.001>
- Bishop, P.; Pitts, E. R.; Budner, D. y Thompson-Witrick, K. A. (2022). Chemical composition of kombucha. *Beverages*, 8(3), 45. <https://doi.org/10.3390/beverages8030045>
- Cabezas-Andrade, D.; Jiménez-Gutiérrez, M. Y.; Torres-Castillo, R. M. y Bustamante-Cuenca, J. C. (2024). Huella de carbono en residuos postcosecha de *Theobroma cacao* L. y la economía circular. *Agroecología Global*, 6(11), 4-20. <https://doi.org/10.35381/a.g.v6i11.4143>
- 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. y Barros, F. A. R. d. (2020). Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. *Food Research International*, 128, 108782. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108782>
- Chen, C. y Liu, B. Y. (2000). Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. *Journal of Applied Microbiology*, 89(5), 834-839. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01188.x>
- Chileshe, J.; Van den Heuvel, J.; Handema, R.; Zwaan, B. J.; Talsma, E. F. y Schoustra, S. (2020). Nutritional composition and microbial communities of two non-alcoholic traditional fermented beverages from Zambia: A study of mabisi and munkoyo. *Nutrients*, 12(6), 1628. <https://doi.org/10.3390/nu12061628>
- Chu, S.-C. y 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>
- Coelho, R. M. D.; Almeida, A. L. d.; Amaral, R. Q. G. d.; Mota, R. N. d.; y Sousa, P. H. M. d. (2020). Kombucha: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 22, 100272. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100272>
- De Oliveira, P. V.; Da Silva Júnior, A. H.; De Oliveira, C. R. S.; Assumpção, C. F. y Ogeda, C. H. (2023). Kombucha benefits, risks and regulatory frameworks: A review. *Food Chemistry Advances*, 2, 100288. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100288>
- Fernandes, F.; Gorissen, K.; Delerue-Matos, C. y Grosso, C. (2022). Valorisation of agro-food by-products for the extraction of phenolic compounds. *Biology and Life Sciences Forum*, 18(1), 61. <https://doi.org/10.3390/Foods2022-13032>

- Hammel, R.; Bcit School of Health Sciences; Karakilic, V. y Shaw, F. (2016). The affect of temperature and pH on the food safety of kombucha tea. *BCIT Environmental Public Health Journal*, 91. <https://doi.org/10.47339/ephj.2016.91>
- INEN 401. (2013). Conservas vegetales. Determinación de cenizas. Norma técnica ecuatoriana voluntaria. Primera edición. <https://studylib.es/doc/8957868/nteinen-401-2>
- Jakubczyk, K.; Kałduńska, J.; Kochman, J. y Janda, K. (2020). Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. *Antioxidants*, 9(5), 447. <https://doi.org/10.3390/antiox9050447>
- Jayabalan, R.; Malini, K.; Sathishkumar, M.; Swaminathan, K. y Yun, S.-E. (2010). Biochemical characteristics of tea fungus produced during kombucha fermentation. *Food Science and Biotechnology*, 19(3), 843-847. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0119-6>
- Jayabalan, R.; Subathradevi, P.; Marimuthu, S.; Sathishkumar, M. y Swaminathan, K. (2008). Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. *Food Chemistry*, 109(1), 227-234. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.037>
- Kaewkod, T.; Bovonsombut, S. y Tragoolpua, Y. (2019). Efficacy of kombucha obtained from green, oolong, and black teas on inhibition of pathogenic bacteria, antioxidation, and toxicity on colorectal cancer cell line. *Microorganisms*, 7(12), 700. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7120700>
- Lloor Vélez, Y. M. y Heredia Moyano, S. F. (2023). Aprovechamiento y evaluación de una bebida no alcohólica a base de mucílago y placenta de *Theobroma cacao* L., *Ananas comosus* y *Mangifera indica*. *Revista InGenio*, 6(1), 10-19. <https://doi.org/10.18779/ingenio.v6i1.559>
- López-Padrón, I.; Martínez-González, L.; Pérez-Domínguez, G.; Reyes-Guerrero, Y.; Núñez-Vázquez, M. y Cabrera-Rodríguez, J. A. (2020). Las algas y sus usos en la agricultura. Una visión actualizada. *Cultivos Tropicales*, 41(2), e10. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193264539010>
- Loureiro, G.; Reis de Araujo, Q.; René-Valle, R.; Andrade-Sodré, G. y Moreira de Souza, S. M. (2017). Influencia de factores agroambientales sobre la calidad del clon de cacao (*Theobroma cacao* L.) PH-16 en la región cacaotera de Bahía, Brasil. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 4(12), 579-587. <https://doi.org/10.19136/era.a4n12.1274>
- Malbaša, R. V.; Lončar, E. S.; Vitas, J. S. y Čanadanović-Brunet, J. M. (2011). Influence of starter cultures on the antioxidant activity of kombucha beverage. *Food Chemistry*, 127(4), 1727-1731. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.048>
- Martínez-Leal, J., Valenzuela Suárez, L., Jayabalan, R., Huerta Oros, J., & EscalanteAburto, 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>
- Mortazavian, A. M.; Khosrokhavar, R.; Rastegar, H. y Mortazaei, G. R. (2010). Effects of dry matter standardization order on biochemical and microbiological characteristics of freshly made probiotic doogh (Iranian fermented milk drink). *Italian Journal of Food Science*, 22(1), 98-104. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20103332085#>
- Muñoz-Bernal, Ó. A.; Torres-Aguirre, G. A.; Núñez-Gastélum, J. A.; Rosa, L. A. d. I.; Rodrigo-García, J. y Ayala-Zavala, J. F. (2017). Nuevo acercamiento a la interacción del reactivo de Folin-Ciocalteu con azúcares durante la cuantificación de polifenoles totales. *TIP*, 20(2). <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2017.04.003>
- Okechukwu, Q. N.; Adadi, P. y Kovaleva, E. G. (2022). Production and analysis of beer supplemented with *Chlorella vulgaris* powder. *Fermentation*, 8(11), 581. <https://doi.org/10.3390/fermentation8110581>
- Qazi, M. W.; De Sousa, I. G.; Nunes, M. C. y Raymundo, A. (2022). Improving the nutritional, structural, and sensory properties of gluten-free bread with different species of microalgae. *Foods*, 11(3), 397. <https://doi.org/10.3390/foods11030397>
- Sahni, P.; Sharma, S. y Singh, B. (2019). Evaluation and quality assessment of defatted microalgae meal of *Chlorella* as an alternative food ingredient in cookies. *Nutrition & Food Science*, 49(2), 221-231. <https://doi.org/10.1108/NFS-06-2018-0171>
- Sen, G., Sarkar, N., Nath, M., & Maity, S. (2020). Bioactive components of tea. *Archive of Food and Nutritional Science*, 4, 001-009. <https://doi.org/10.29328/journal.afns.1001020>
- Severiano Pérez, P. (2019). ¿Qué es y cómo se utiliza la evaluación sensorial? *Inter disciplina*, 7(19), 47-68. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485705e.2019.19.70287>
- Soares, T. F. y Oliveira, M. B. P. P. (2022). Cocoa by-products: Characterization of bioactive compounds and beneficial health effects. *Molecules*, 27(5), 1625. <https://doi.org/10.3390/molecules27051625>
- Spence, C.; Levitan, C. A.; Shankar, M. U. y Zampini, M. (2010). Does food color influence taste and flavor perception in humans? *Chemosensory Perception*, 3(1), 68-84. <https://doi.org/10.1007/s12078-010-9067-z>
- Suh, H. y Rodríguez, E. (2017). Determinación del pH y contenido total de azúcares de varias bebidas no alcohólicas: su relación con erosión y caries dental. *OdontoInvestigación*, 3(1). <https://doi.org/10.18272/oi.v3i1.851>
- Sun, T.-Y.; Li, J.-S. y Chen, C. (2015). Effects of blending wheatgrass juice on enhancing phenolic compounds and antioxidant activities of traditional kombucha beverage. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(4), 709-718. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.01.009>
- Tabrizi, A.; Dargahi, R.; Tehrani Ghadim, S.; Javadi, M.; Rasouli Pirouzian, H.; Azizi, A. y Homayouni Rad, A. (2020). Chapter 11 - Functional laxative foods: Concepts, trends and health benefits. In R. Atta ur (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry* (vol. 66, pp. 305-330). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817907-9.00011-8>
- Valdez-Fragoso, A.; Soto-Caballero, M. C.; Soria-Hernández, C. G.; Valiente-Banuet, J. I.; Welte-Chanes, J. y Mújica-Paz, H. (2013). Efecto de las variables de encurtido en los parámetros de transferencia de masa, estabilidad y calidad de chile piquín. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 12(1), 1-10. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382013000100001&lng=es&tlng=es
- Veiga, S. (2016). Actividad experimental para introducir el concepto de azeotropía. *Química Viva*, 15(3), 47-54. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86348856005>
- Vera Chang, J.; Cortez, L. H.; Alvarado V, K.; León, E.; Rivadeneira, C.; Intriago, F.; Dueñas Rivadeneira, A. y Hurtado, F. (2023). Caracterización de la miel obtenida del mucílago de tres grupos genéticos de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista Bases de la Ciencia*, 8, 17-30. <https://revistas.utm.edu.ec/index.php/Basedelaciencia/article/view/5728>
- Villarreal-Soto, S. A.; Beaufort, S.; Bouajila, J.; Souchard, J.-P. y Taillandier, P. (2018). Understanding kombucha tea fermentation: A review. *Journal of Food Science*, 83(3), 580-588. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14068>