



TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO®



# INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR DE TEZIUTLÁN

## Tesis



“Diseño experimental para la optimización del crecimiento de biomasa de kéfir para la mejora el uso de sustratos”

PRESENTA:

**DARIANNA HERNANDEZ MOTA**

CON NÚMERO DE CONTROL

**17TE0396**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**INGENIERA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

CLAVE DEL PROGRAMA ACADÉMICO

**IIAL-2010-219**

DIRECTOR (A) DE TESIS:

**DR. HIRAM ALEJANDRO WALL MARTINEZ**

“ La Juventud de hoy, Tecnología del Mañana”

TEZIUTLÁN, PUEBLA, MAYO 2022



# **PRELIMINARES**

## **Agradecimientos**

El presente trabajo está dedicado a mis padres, quienes fueron mi principal motor a lo largo de toda mi carrera universitaria.

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por ser la luz incondicional que me guío, me acompañó, me cuidó, me dio salud, me brindó paciencia y sabiduría durante todo este tiempo y me permitió culminar con éxito una de las etapas más importantes de mi vida, mi carrera profesional.

A mi familia, en especial a mis papas Pedro Hernandez Ramos y Judith Mota Miranda, por ser mi principal motor y fuente de inspiración desde muy pequeña, no sin antes mencionar que gracias a su apoyo, consejos, regaños, valores pero sobre todo amor, pudieron sacarme adelante y eso me hace estar infinitamente agradecida con ustedes dos, quiero que sepan que todo esfuerzo, dedicación, sacrificio y metas alcanzadas no son solo mías, sino también de ustedes, ya que esto solo refleja el amor que ustedes invirtieron para que yo pudiera hacer posible este sueño en mi vida y ver por terminada mi carrera profesional, gracias por acompañarme y guiarme por el buen camino, por siempre ir juntos de la mano, pero sobre todo por confiar siempre en mí, orgullosamente puedo decir que la persona que soy en la actualidad es gracias a ustedes. A mi hermana Monserrat Hernandez Mota, por aconsejarme y darme el valor para no rendirme en mis crisis de ansiedad, por ser un gran ejemplo para mí y por ser mí no solo mi hermana sino también mi compañera de vida. A mis abuelitos maternos Oscar Mota Miranda e Isabel Miranda Herrera quienes fueron las personas que junto con mis papas más se preocupaban por mí, agradecida por todos esos consejos que siempre me están dando, por enseñarme el camino correcto de la vida, por todo el amor y apoyo incondicional que siempre me han dado y sobre todo por siempre llevarme en sus oraciones, sus valiosas palabras son sinónimo de sabiduría, y siempre las llevare muy presentes en mi corazón. A mi abuelita paterna Margarita Ramos Reyes, que en paz descansa y que ahora es un ángel en mi vida, me enseñó que

pese a todos los obstáculos que la vida nos ponga, no dejemos de confiar en nosotros mismos, solo así podremos construir y ser dueños de nuestro propio camino, una mujer muy valiente y que pese a las adversidades siempre saca a su familia por delante, gracias por todas tus bendiciones, este trabajo va dedicado hasta el cielo.

A todos mis amigos y amigas con los que compartí dentro y fuera de las aulas y que se convirtieron en una nueva familia para mí, gracias por todas esas experiencias, momentos y aprendizajes que vivimos juntos, por esos consejos que marcaron mi vida y sobre todo por brindarme su apoyo incondicional en mis momentos más difíciles, gracias por siempre estar, los llevo y los llevaré siempre presentes en mi mente y mi corazón.

Así mismo, expreso mis agradecimientos al Instituto Tecnológico Superior de Teziutlán, por todas las atenciones, buenos tratos y por brindarme todos los recursos y herramientas que fueron necesarias durante mi formación académica. A todos mis docentes de la carrera de Ingeniería en Industrias Alimentarias gracias por ejercer tan bella profesión, les agradezco por instruirme, por compartir ante mí vivencias únicas, enseñanzas magníficas, consejos y sobre todo por ser una gran fuente de inspiración para mí, en especial a la ingeniera Carolee Chuzeville Munguía, la Doctora Julieta del Carmen Villalobos Espinoza, la ingeniera Lillian Patricia González Ríos, la ingeniera Marlen Hernandez Hernandez, la ingeniera Araceli Valdivia Camarillo y la ingeniera Alejandra Aragón Parra.

Agradezco a mi asesor de tesis el D.R. Hiram Alejandro Wall Martínez por su valioso apoyo y por permitirme llevar a cabo todas las actividades propuestas durante la realización de este trabajo, su apoyo y confianza en mi trabajo ha sido un aporte invaluable.

Con gratitud y mucho respeto, Darianna Hernandez Mota.

## Resumen

Se han utilizado granos de kéfir en investigación con finalidad tecnológica; sin embargo, se pretende buscar una manera de poder conservarlos fuera de su medio lácteo convencional y utilizar diferentes sistemas de fermentación por lo que se pretende dar respuesta a este comportamiento. Por lo tanto, en este estudio se investigó el crecimiento de biomasa del grano de kéfir a partir de dos sustratos lácteos en diferentes porcentajes de grasa que permitieron distinguir mediante cinéticas de crecimiento el de mayor eficacia.

En el diseño de experimentos se utilizaron dos variables cualitativas, utilizando dos diferentes sustratos lácteos, un sustrato graso con leche entera pasteurizada (marca comercial Lala) con un porcentaje de grasa de 3% y un sustrato bajo en grasa con leche (marca comercial Svelty) con un porcentaje de grasa de 1%, en los cuales fueron colocados diferentes porcentajes de inóculo. Los sustratos inoculados fueron almacenados y se realizaron cinéticas de crecimiento a diferentes concentraciones (2, 5 y 10%) a temperatura ambiente de aproximadamente 22 a 30°C.

La fermentación se llevó a cabo durante 10 días, haciendo cambios del medio cada 24 h y midiendo, en cada cambio, el aumento de biomasa, las mediciones de pH y °Brix se realizaban cada 12 h a excepción de 1 día cuyas mediciones se realizaban cada 4 h.

Los resultados obtenidos para ambos sustratos, la cinética del 2% presentó un efecto mayor de producción de biomasa, seguido de la concentración de 5% dejando al 10% con un menor incremento durante los 10 días que duró el estudio, en el sustrato graso se obtuvieron porcentajes de incrementos máximos y mínimos de biomasa de 473% y 207% y para el sustrato bajo en grasa porcentajes de 300% y 154%, por otro lado, en el sustrato graso se obtuvo mayor incremento de biomasa al comparar con el sustrato bajo en grasa, específicamente en la cinética

del 2%, logrando de esta manera cumplir con los objetivos planteados en el proyecto.

## Introducción

Durante siglos, el kéfir tradicional se ha consumido de generación en generación gracias a su alto contenido nutricional. En la actualidad, este cumple un papel muy importante, ya que su consumo continúa ganando popularidad a nivel internacional.

Los granos de kéfir se utilizan como cultivo iniciador para el proceso de fermentación de la leche, el grano es un polisacárido que está conformado por una compleja asociación entre bacterias y levaduras (García-Fontán et al., 2006).

El kéfir se produce tradicionalmente a partir de leche de vaca pero también se puede preparar a partir de leche obtenida de otras especies, como cabras, ovejas o búfalos, mientras que otras fuentes, como la soja, coco, arroz, o leche de almendras, también se pueden aplicar para la producción de bebidas similares al kéfir (Gul et al., 2015).

El proceso de fermentación de la leche de cualquier vaca da como resultado una bebida láctea ligeramente ácida, muy baja en alcohol, que tiene un sabor distintivo, es ligeramente efervescente y que se puede obtener a temperatura ambiente (Matos et al., 2018). Sin embargo, la composición microbiana y las condiciones óptimas de crecimiento de los granos de kéfir dependen según su origen, tipo de sustrato, temperaturas, tiempos de fermentación y lugar de almacenamiento.

En el presente trabajo se realizó experimentalmente un diseño que permitió optimizar el crecimiento de biomasa de kéfir a partir de dos diferentes sustratos lácteos con diferente contenido en grasa mediante cinéticas de crecimiento para identificar si existe alguna diferencia en el producto con respecto al sustrato, pH y °Brix.

# Índice

CAPÍTULO I GENERALIDADES DEL PROYECTO.....	10
1.1 Descripción de la empresa.....	11
1.1.1 Antecedentes .....	11
1.1.2 Misión y visión .....	12
1.1.3 Valores.....	12
1.1.4 Estructura organizacional .....	13
1.2 Problemas de investigación a resolver.....	15
1.3 Preguntas de investigación.....	15
1.4 Objetivos .....	16
1.5 Justificación.....	16
CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO .....	17
2.1 Generalidades del kéfir.....	18
2.1.1 Origen.....	18
2.1.2 Ruta histórica de la leche fermentada en la nutrición humana .....	19
2.1.3 Kéfir.....	20
2.1.4 Microbiota de los granos de kéfir .....	22
2.1.5 Composición nutricional del kéfir.....	23
2.1.6 Tipos de kéfir .....	23
2.1.7 Producción de exopolisacáridos.....	26
CAPÍTULO III DESARROLLO Y METODOLOGÍA.....	28



3.1 Procedimiento y descripción de actividades realizadas.....	29
3.2 Alcance y enfoque de la investigación .....	29
3.3 Hipótesis.....	29
3.4 Diseño y metodología de la investigación .....	29
3.5 Metodología .....	29
3.5.1 Producción inicial de gránulos de kéfir.....	30
3.5.2 Crecimiento de la biomasa del lote inicial de kéfir .....	30
3.5.3 Cultivo de sustrato graso.....	30
3.5.4 Cultivo de sustrato bajo en grasa.....	31
3.5.5 Medición de aumento de biomasa .....	32
CAPÍTULO IV RESULTADOS .....	33
4.1 Resultados .....	34
CAPÍTULO V CONCLUSIONES.....	39
5.1 Conclusiones del proyecto .....	40
CAPÍTULO VI COMPETENCIAS DESARROLLADAS.....	41
6.1 Competencias desarrolladas y/o aplicadas .....	42
CAPÍTULO VII FUENTES DE INFORMACIÓN .....	44
7.1 Fuentes de Información .....	45
CAPÍTULO VIII ANEXOS.....	53
8.1 Anexos.....	54
8.1.1 Carta de Autorización de Publicación .....	64

# **CAPÍTULO I**

## **GENERALIDADES DEL PROYECTO**

## **1.1 Descripción de la empresa**

### **1.1.1 Antecedentes**

El Instituto Tecnológico Superior de Teziutlán es una institución de educación superior ubicada en Fracción I y II S/N, Aire Libre, en el municipio de Teziutlán en el Estado de Puebla. La institución cuenta con canales de atención como número telefónico: 231 311 4000, correo electrónico: [webmaster@live.itsteziutlan.edu.mx](mailto:webmaster@live.itsteziutlan.edu.mx).

El Instituto Tecnológico Superior de Teziutlán comenzó hace más de quince años, cuando siendo Diputado del Estado de Puebla, el Ing. Jorge Barrón Levet, conoció de la intención del entonces Gobernador del Estado, Lic. Manuel Bartlett Díaz, de fundar dos Tecnológicos Descentralizados del entonces Sistema Nacional de Institutos Tecnológicos en Puebla y en particular en la Sierra Norte y Nororiental del Estado, descentralizados porque establecían una modalidad de convenio de coordinación entre la Secretaría de Educación Pública Federal y el Gobierno del Estado de Puebla para compartir a partes iguales su financiamiento.

El Ing. Barrón abanderó la causa por Teziutlán logrando la designación de un equipo de trabajo que encabezó el Ing. Emilio Ortega Balbuena para realizar la planeación, estudios de factibilidad de carreras, y la coordinación de actividades y contratación de personal docente, promoción e inscripción de la primera matrícula, el Instituto Tecnológico Superior de Teziutlán, abriera sus actividades en las instalaciones del CBTis No. 44 con la Oferta Educativa de la Licenciatura en Administración e Ingeniería Industrial.

Para el segundo semestre, el Tecnológico de Teziutlán traslado sus operaciones a una casa particular en el Barrio de Chignaulingo, que se rentó y adaptó porque había la voluntad de crecer con independencia y mostrar de lo que se era capaz. En el ciclo escolar 94-95 la matrícula creció 128% a 294 alumnos, esto solo tenía una lectura, la sociedad serrana recibía, respaldaba y confiaba en el nuevo Tecnológico.

Un grupo de distinguidos Teziutecos encabezado por el Ing. Jorge Barrón localizó en condiciones ventajosas el terreno que la Compañía Minera Autlán estaba dispuesta a vender para construir las instalaciones propias del Instituto y que cumplieran con la normatividad de la SEP, en el predio La Mina de la comunidad de Aire Libre del Municipio de Teziutlán, Fracción I y II Aire Libre S/N, C.P 73960 Teziutlán, Puebla, con el invaluable apoyo del Gobierno del Estado se autorizó la construcción de los primeros dos edificios en el predio, mismos que fueron inaugurados en Agosto de 1996 aumentando la Oferta Educativa con la Licenciatura en Informática y con una matrícula de 545 alumnos.

### **1.1.2 Misión y visión**

**Misión:** El Instituto Tecnológico Superior de Teziutlán tiene como misión formar profesionales que se constituyan en agentes de cambio y promuevan el desarrollo integral de la sociedad mediante la implementación de procesos académicos de calidad.

**Visión:** Llegar a ser la Institución de Educación Superior Tecnológica más reconocida en el Estado de Puebla, que ofrezca un proceso de enseñanza-aprendizaje certificado, comprometido con la excelencia académica y la formación integral del alumno, contribuyendo al desarrollo sustentable, económico, político y social de nuestro Estado.

### **1.1.3 Valores**

**Integridad:** Actuar con rectitud, honestidad, honradez y transparencia de manera congruente, sin engaños, ni falsedades en la realización de sus funciones.

**Compromiso:** Cumplir con la sociedad ofreciéndoles profesionales capaces y comprometidos con su región y el Estado para satisfacer las necesidades presentes y futuras.

**Creatividad:** Mantener una actitud constructiva, considerando la mejora continua y la innovación. **Lealtad.-** Ajustar su actuación al compromiso personal con los

objetivos del ITST, de tal modo que se refleje y fortalezca el conjunto de logros del Instituto.

Actitud de servicio: Fomentar en el alumno el deseo de servir a su comunidad y su identificación plena con el instituto a colaborar en todas y cada una de las actividades programadas, así como la aplicación de las políticas y procedimientos una vez que se integren al sector productivo.

Legalidad: Conocer y cumplir la normativa aplicable a las actividades relativas a su ámbito de competencia.

#### **1.1.4 Estructura organizacional**

La estructura organizacional representa la forma en la que se organiza el trabajo dentro de la institución, es decir, se establece el modo de comunicación y coordinación, se asignan los puestos, funciones y responsabilidades que deben de cumplir cada uno de los miembros que integran la organización con la finalidad de alcanzar sus metas y objetivos propuestos.

Actualmente el ITST ofrece 6 licenciaturas, entre ellas; Ingeniería en Industrias Alimentarias, Ingeniería Industrial, Ingeniería en Sistemas Computacionales, Ingeniería Mecatrónica, Ingeniería Informática e Ingeniería en Gestión Empresarial, que como resultado del esfuerzo para el cumplimiento de estándares de calidad educativa el instituto ha obtenido acreditaciones internacionales.

El Instituto Tecnológico Superior de Teziutlán establece, implementa, mantiene y mejora continuamente su Sistema de Gestión de Calidad de acuerdo a los requisitos de la Norma ISO 9001:2015.

La institución cuenta con un área espacial de 12 hectáreas, donde se encuentra un conjunto de 06 edificios conformado por:

1. Edificio de Unidad Administrativa.
2. Laboratorio de Química.

3. Edificio de Biblioteca, Dirección General.
4. Edificio de Unidad Académica.
5. Edificio Multifuncional de Talleres y Laboratorios.
6. Aulas.

El área en donde se implementará la propuesta es en Ingeniería en Industrias Alimentarias, específicamente con el Cuerpo Académico en consolidación "Biotecnología, bioingeniería alimentaria y productos funcionales" con clave ITESTEZ-CA-4, dentro de la línea de investigación Microbiología aplicada, alimentos funcionales y sostenibles. El Cuerpo Académico se orienta a la generación y aplicación del conocimiento científico y tecnológico, al apoyo de las funciones de docencia y vinculación y a la formación de recursos humanos para la investigación, coherente con las necesidades de la institución y del entorno local, regional, nacional e internacional.

## **1.2 Problemas de investigación a resolver**

En la actualidad, existen diferentes tipos de sustratos lácteos y no lácteos que se utilizan para el acondicionamiento en granos de kéfir; sin embargo, la composición microbiana y las condiciones óptimas de crecimiento de los granos dependen del origen, del tipo y composición del medio de fermentación (sustrato), temperaturas, tiempos de fermentación y lugar de almacenamiento. El trabajo surge como una posible alternativa para identificar que sustrato lácteo (graso y bajo en grasa) presenta un mejor comportamiento dependiendo de las condiciones de crecimiento y porcentaje de incremento en biomasa.

## **1.3 Preguntas de investigación**

- ¿El tiempo será suficiente para poder desarrollarlo?
- ¿Se cuenta con los recursos necesarios y cuáles son?
- ¿Dónde se puede encontrar la información?
- ¿La información del tema es suficiente?
- ¿Existe evidencia científica actualmente?
- ¿La dependencia del pH durante el proceso de fermentación depende de las temperaturas y tiempos de fermentación?
- ¿La composición microbiana y las condiciones óptimas de crecimiento de los granos de kéfir dependen según su origen, tipo de sustrato, temperaturas, tiempos de fermentación y lugar de almacenamiento?
- ¿Qué tipo de sustrato será ideal para optimizar el crecimiento de biomasa de kéfir?
- ¿En cuál de las cinéticas se mostró un mayor crecimiento?
- ¿Qué resultados traerá el desarrollo de esta investigación?

## **1.4 Objetivos**

### **Objetivo General**

Diseñar experimentalmente la optimización del crecimiento de biomasa de kéfir para el uso de sustratos.

### **Objetivos Específicos**

- Proponer condiciones iniciales de crecimiento de biomasa de kéfir para el uso de sustratos.
- Estandarizar los acondicionamientos para el crecimiento de biomasa de kéfir.
- Optimizar el crecimiento de biomasa de kéfir a partir de los diferentes sustratos implementados mediante cinéticas de crecimiento.

A continuación, veremos la importancia de la propuesta basada en las necesidades que justifican la misma actividad.

## **1.5 Justificación**

La presente investigación busca optimizar el crecimiento de biomasa de kéfir a partir de dos sustratos lácteos en diferentes porcentajes de grasa, que permitan distinguir mediante cinéticas de crecimiento el de mayor eficacia.



# **CAPÍTULO II**

## **MARCO TEÓRICO**

## 2.1 Generalidades del kéfir

### 2.1.1 Origen

El kéfir fue producido desde la antigüedad en el Cáucaso, es una bebida láctea fermentada refrescante y que a partir de allí se sigue extendiendo alrededor del mundo (Tratnik et al., 2006; Tramsek y Gorsek, 2008; Wróblewska et al., 2009).

La bebida de kéfir y su origen se remonta a los Balcanes, Europa del Este y el Cáucaso (Satir y Guzel-Seydim, 2016). Posiblemente 'kéfir' proviene de la palabra *keyif* del turco, que significa 'sentirse bien' (Can et al., 2009).

Se cree que los granos de kéfir se transmitían tradicionalmente de generación en generación entre las tribus del Cáucaso y fueron considerados como una fuente de riqueza familiar (Guzel-Seydim et al., 2021). La gente de la tribu de esta región posiblemente desarrolló kéfir por puro accidente y posteriormente consumió la bebida nutritiva durante los años siguientes (Guzel-Seydim et al., 2021).

La fermentación del ácido láctico ha sido utilizada durante siglos para conservar, mejorar o modificar el sabor de leche, carnes, cereales y verduras. Los principales agentes de la fermentación que se encargan de convertir el azúcar de la leche en ácido láctico son los (LAB), entre ellos; *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Streptococcus* (García-Fontán et al., 2006; Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001; Penna et al., 2007).

El kéfir tradicional se ha consumido durante siglos (Wouters et al., 2002; Bourrie et al., 2016) debido a su alto valor nutricional y, por lo tanto, se considera un alimento que promueve la salud (Vinderola et al., 2005).

Hoy en día, la popularidad de esta bebida láctea fermentada y su consumo ha generado un gran impacto a nivel internacional (Marsh et al., 2014).

### **2.1.2 Ruta histórica de la leche fermentada en la nutrición humana**

La evidencia arqueológica indica que el bioproceso de la fermentación de alimentos se descubrió accidentalmente hace miles de años (Terpou et al., 2019; Bats, 2020; Liu et al., 2019).

Las propiedades medicinales y nutricionales de los alimentos fermentados se han promovido recientemente a medida que más evidencia científica destaca la transformación microbiana como un enfoque para mejorar la funcionalidad de los alimentos (Terpou et al., 2019; Champagne et al., 2018; Turkmen, 2017; Brown et al., 2018). Asimismo, el papel de la leche fermentada en la nutrición humana ha sido bien documentada, ya que las virtudes de estos productos han sido conocidos por la humanidad desde la época de las civilizaciones antiguas (Abd El-Salam, 2011; Terpou, 2020).

El bioproceso de la fermentación de la leche cruda utilizada en la Edad Media implicaba un amargo lento e impredecible de la leche, que se lograba mediante la incubación con microorganismos naturales (Terpou, 2020). Se cree que los productos lácteos fermentados aparecieron accidentalmente cuando la leche se almacenaba a temperatura ambiente y se agriaba naturalmente, y no se tenía conocimiento de ninguna microflora exógena (Terpou, 2020; Terpou et al., 2017).

Posteriormente, nuevos productos lácteos fermentados con aspectos mejorados para la salud se han apoderado del mercado mediante la incorporación de cultivos microbianos beneficiosos (Terpou et al., 2019; De Simone, 2019). Es de suma importancia que la microbiota de los alimentos fermentados deben mantenerse vivos hasta su consumo para brindar sus beneficios para la salud (Terpou et al., 2019). Los principales productos lácteos fermentados que han conquistado el mercado pueden clasificarse en tres categorías diferentes: (i) tipos de leche agria moderadamente fermentada con un aroma agradable, por ejemplo, leche cultivada; (ii) tipos de leche fermentada ácida y muy ácida, por ejemplo, cuajada y

yogur; y (iii) leche fermentada enriquecida con alcohol o ácido acético en pequeñas cantidades, por ejemplo, kumiss y kéfir (Abd El-Salam, 2011; Terpou, 2020).

### 2.1.3 Kéfir

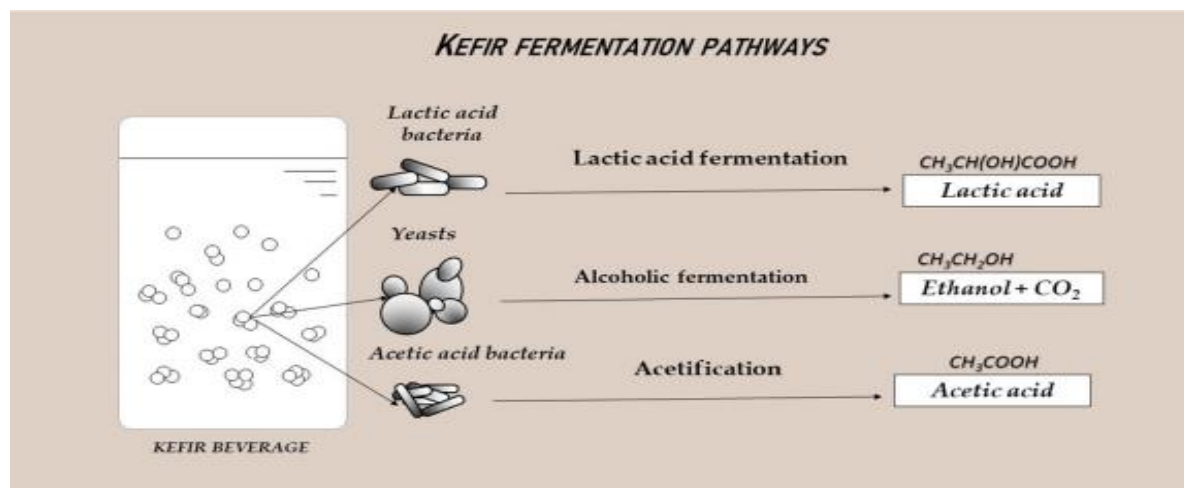
Los granos de kéfir se utilizan como cultivo iniciador para el proceso de fermentación de la leche, el grano es un polisacárido que está conformado por una compleja asociación entre bacterias y levaduras (García-Fontán et al., 2006).

Para la producción de kéfir se pueden utilizar cultivos iniciadores de kéfir liofilizados comerciales y granos tradicionales que llevan a cabo el proceso de fermentación de leche y el producto que queda después de la eliminación de los granos (Bensmira et al., 2010).

Los granos de kéfir incluyen una amplia gama de microfloras, principalmente bacteriana (ácido láctico, ácido acético) y cepas de levadura, que están involucrados en el bioproceso de fermentación de la leche, siendo responsables de la calidad final del producto (Turkmen, 2017).

Figura 1

*Diferentes vías de fermentación a partir de las principales especies microbianas (bacterias del ácido láctico, levaduras y bacterias del ácido acético) contenidas en kéfir y granos de kéfir.*



Fuente: Ganatsios, V.; Nigam, P.; Plessas, S.; Terpou, A. Kefir as a Functional Beverage Gaining Momentum towards Its Health Promoting Attributes. *Beverages* 2021, 7, 48. <https://doi.org/10.3390/beverages7030048>

Las abundantes bacterias del ácido láctico contenidas en los granos de kéfir utilizan lactosa de la leche como azúcar fermentable y la metabolizan en glucosa y galactosa. Posteriormente, las bacterias metabolizan la glucosa a través de la vía homofermentativa (Hikmetoglu et al., 2020). En todos los casos, el ácido láctico se produce como metabolito principal, proporcionando un sabor ácido distintivo al producto final (Figura 1). En los casos en que las bacterias del ácido acético se vean favorecidas durante la fermentación (por ejemplo, en condiciones aeróbicas), la calidad del producto final tiende a exhibir un sabor ácido y un ligero olor picante debido a la acumulación de ácido acético (Figura 1) en estas bebidas de kéfir (Terpou, 2020; Terpou y Mantzourani, 2019).

Los granos de kéfir se descomponen en granos de nueva generación posterior a la fermentación, sin embargo, después de sucesivas fermentaciones estos siguen teniendo las mismas características que los antiguos (Gao et al., 2012).

En general, la fermentación de la leche de cualquier vaca da como resultado una bebida láctea ligeramente ácida, muy baja en alcohol, que tiene un sabor distintivo, es ligeramente efervescente y que se puede obtener a temperatura ambiente (Matos et al., 2018). Sin embargo, la composición microbiana del kéfir también varía según el origen de los granos de kéfir, las diferentes temperaturas de cultivo, las diferentes técnicas de producción y los diferentes tipos y composiciones del medio de fermentación, e incluso las condiciones de almacenamiento pueden alterar la composición microbiana del producto final (Plessas et al., 2017; Farag et al., 2020).

## 2.1.4 Microbiota de los granos de kéfir

En general, el proceso de elaboración del kéfir se basa en la actividad fermentativa de la microbiota de los granos sobre los componentes químicos de la leche (Satir y Guzel-Seydim, 2016).

Los cultivos iniciadores para esta bebida son de forma irregular, pequeños, gelatinosos granos blancos / amarillos que son una combinación de bacterias vivas (bacterias del ácido láctico del género *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* y bacterias del ácido acético) y levaduras (consisten en *Kluyveromyces*, *Candida*, *Saccharomyces* y *Pichia*), que están incrustados en una matriz viscosa de polisacáridos y son responsables del ácido láctico y la fermentación alcohólica (Garrote et al., 1997; Dimitrellou et al., 2007; Papavasiliou et al., 2008; Ferreira et al., 2010).

A continuación, se muestra la composición de la microbiota presente en la bebida y/o en los granos de kéfir. Estos microorganismos simbióticos están constituidos principalmente por bifidobacterias, entre ellas; *Bifidobacterium spp.* y *Bifidobacterium bifidum*, bacterias ácido lácticas (BAL), entre ellas; *Lc. lactis subsp. lactis*, *Lc. lactis subsp. cremoris*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus (Lb.) kefiranofaciens*, *Lb. kefiranofaciens subsp. kefirgranum*, *Lb. kefiranofaciens subsp. kefiranofaciens*, *Lb. kefiri*, *Lb. parakefiri*, *Lb. plantarum*, *Lb. kéfir*, *Lb. paracasei*, *Lb. helveticus*, *Lb. parakefir*, *Lb. satsumensis*, *Lb. uvarum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. crispatus*, *Lb. reuteri* y *Lb. Leuconostoc (Leu.) mesenteroides*, bacterias ácido acéticas (BAA), entre ellas; *Lb. Acetobacter lovaniensis*, *Lb. Acetobacter syzygii* y *Lb. Gluconobacter japonicus*, además de levaduras, entre ellas; *Lb. Saccharomyces (S.) cerevisiae*, *Lb. Kluyveromyces (Klu.) marxianus*, *Lb. Klu. Dobzhanskii* y *Lb. Kazachatania (Kaz.) unispora*. Por otro lado, Marsh et al. (2013) sugieren que las bifidobacterias se encuentran en menor proporción. Rodríguez-Figueroa, José Carlos, & Noriega-Rodríguez, Juan Antonio, & Lucero-Acuña, Armando, & Tejeda-Mansir, Armando (2017). Avances en el estudio de la bioactividad multifuncional del kéfir.

### **2.1.5 Composición nutricional del kéfir**

El kéfir se produce tradicionalmente mediante la fermentación de la leche utilizando granos de kéfir y normalmente consta de al menos un 2,7% de proteína, un 0,6% de ácido láctico y menos de un 10% de grasa, dependiendo de la leche (Prado et al., 2015).

Kefiran consta de unidades repetidas de hexasacáridos y se compone principalmente de 85 a 90% de humedad y 10% de masa seca. La masa seca incluye 57% de carbohidratos, 33% de proteínas, 4% de grasas y 6% de cenizas (Prado et al., 2015; Petrova et al., 2021).

El suero, un residuo líquido lácteo de costo insignificante, es una materia prima alternativa para la producción de biomasa de kéfir. Se produce en grandes cantidades en todo el mundo y genera una grave contaminación ambiental ya que su tratamiento es muy difícil debido a su alta carga orgánica. Por el contrario, tiene un valor nutricional importante ya que contiene cantidades considerables de lactosa (aproximadamente un 5%), proteínas, minerales, vitaminas, ácidos orgánicos y grasas. Por tanto, la conversión del suero en productos de valor agregado es una preocupación importante para la ciencia y la industria (Bekatorou et al., 2006; Dimitrellou et al., 2007; Koutinas et al., 2007; Dimitrellou et al., 2008; Papapostolou et al., 2008; Tramsek y Gorsek, 2008).

### **2.1.6 Tipos de kéfir**

El kéfir se produce tradicionalmente a partir de leche de vaca pero también se puede preparar a partir de leche obtenida de otras especies, como cabras, ovejas o búfalos, mientras que otras fuentes, como la soja, coco, arroz, o leche de almendras, también se pueden aplicar para la producción de bebidas similares al kéfir (Gul et al., 2015).

### **2.1.6.1 Sustratos no lácteos**

La preparación del kéfir de agua o kéfir de azúcar consta en añadir el inóculo a una mezcla de agua, azúcar y, a veces, frutas secas o frescas, este tipo de kéfir es considerado como una bebida fermentada tradicional (Laureys et al., 2018). El carbohidrato principal es la sacarosa, ya que este se utiliza como una fuente de energía para producir biomasa (Plessas et al., 2017).

Los granos de kéfir se han adaptado a diferentes sustratos no lácteos, como miel, verduras, té y jugos, para producir bebidas probióticas funcionales con características sensoriales distintas (García-Fontán et al., 2006; Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001; Penna et al., 2007).

### **2.1.6.2 Sustratos utilizados en la fermentación de gránulos de kéfir**

**Miel.** La miel es un alimento que se considera sano y nutritivo ya que posee propiedades antioxidantes y funcionales. Esta es una sustancia dulce natural con buen aroma y sabor y es producida por las abejas a partir del néctar de las plantas (Codex Alimentarius, 2001).

Recientemente, se ha evaluado el uso de la miel como sustrato alternativo para diseñar una nueva bebida probiótica utilizando granos de kéfir como cultivo iniciador a escala de laboratorio (Fiorda et al., 2016; Soccol et al., 2014). Estos estudios proporcionaron evidencia que indica que la miel puede servir como sustrato crudo para la producción de bebidas similares al kéfir con propiedades funcionales (alta capacidad antioxidante, contenido de exopolisacáridos y efecto protector del ADN) y con una alta calidad sensorial en comparación con la bebida tradicional de kéfir (TKB).

**Frutas y verduras.** Estudios recientes han informado del desarrollo exitoso de nuevas bebidas de kéfir no lácteas a partir de frutas y verduras, como manzanas, uvas, fresas, kiwi, cacao, granadas, tunas y jugos de verduras (zanahorias, frijoles,



hinojos, melones, cebollas y tomates) (Terpou y Mantzourani, 2019; Oliveira et al., 2019; Corona et al., 2016). Los jugos de frutas y verduras también tienen un alto contenido de humedad y contienen carbohidratos, proteínas, aminoácidos, vitaminas y minerales y por lo tanto se consideran un medio adecuado para el crecimiento microbiano y la producción de bebidas fermentadas, como el kéfir, el vino y otros productos (Terpou y Mantzourani, 2019; Koutinas et al., 2009; Duarte et al., 2010).

Los nombres de las bebidas kéfir no lácteas pueden variar según el sustrato de fermentación y el país de origen. Por ejemplo, el 'tepache' es una bebida de kéfir de azúcar obtenida a través de la fermentación de la piña, azúcar morena y la canela con granos de kéfir (De la Fuente-Salcido et al., 2015). Otra bebida de kéfir a base de uva es el 'kéfir duva', que se produce mediante la fermentación del mosto de uva (Gaware et al., 2011).

Estudios recientes han propuesto el uso de frutas y verduras como sustratos para la adaptación de granos de kéfir (Terpou y Mantzourani, 2019; Oliveira et al., 2019). Las frutas y los jugos de frutas contienen azúcares naturales y, como resultado, no se necesitan suplementos de azúcar cuando las frutas se aplican como sustratos para la fermentación. Los jugos de frutas y verduras también tienen un alto contenido de humedad y contienen carbohidratos, proteínas, aminoácidos, vitaminas y minerales, por lo que se consideran un medio adecuado para el crecimiento microbiano y la producción de bebidas fermentadas, como el kéfir, el vino y otros productos (Terpou y Mantzourani, 2019; Koutinas et al., 2009; Duarte et al., 2010).

Los sustitutos similares a la leche, como la leche de soja, coco, nuez, arroz, avena, almendra, avellana, sésamo, chufa, cáñamo, maní y pulpa de cacao, tienen un gran potencial como candidatos para la producción de bebidas kéfir no lácteas (Aydar et al., 2020). Sin embargo, estos sustratos deben complementarse con

azúcares para estimular la microbiota de los granos de kéfir, ya que tienden a debilitar el inóculo.

### **2.1.6.3 Efecto de diferentes fuentes de sustrato utilizados para la fermentación**

La fermentación es un proceso biotecnológico aplicado desde la antigüedad para la transformación de materias primas con el fin de elaborar y conservar alimentos. Cuando se habla de fermentación, se debe entender como la acción de microorganismos (bacterias, hongos o levaduras) sobre diversos sustratos biológicos, es decir aprovechar la actividad metabólica de aquellos a fin de obtener una transformación favorable de las materias primas para la obtención de alimentos procesados (Rodríguez-Couto y Sanromán, 2006; Ferrer et al., 2014).

En los últimos años el proceso de fermentación sobre sustratos sólidos (FSS) ha recibido una creciente atención por parte de investigadores de todo el mundo. Como resultado de ello, se han realizado muchos estudios sobre su viabilidad para ser aplicado en obtención de enzimas, aromas y sabores, colorantes, ácidos orgánicos, y otras sustancias de interés para la industria de alimentos. Adicionalmente, es una alternativa para el aprovechamiento y agregado de valor de desperdicios o subproductos de la agroindustria, ya que la mayoría de los sustratos usados para la FSS surgen de allí (Rodríguez-Couto y Sanromán, 2006; Ferrer et al., 2014).

Actualmente se continúa empleando la acción de microorganismos en esos y muchos otros procesos en la industria de alimentos (Rodríguez-Couto y Sanromán, 2006; Ferrer et al., 2014).

### **2.1.7 Producción de exopolisacáridos**

Otros metabolitos también incluidos en las bebidas kéfir son péptidos bioactivos, exopolisacáridos, antibióticos y bacteriocinas (Nogay, 2019).

### **2.1.7.1 Kefiran, un potencial exopolisacárida**

El EPS kefiran es producido por *Lactobacillus kefiranofaciens* (Kooiman, 1968; Wang et al., 2010) de los granos de kéfir, que se componen de proteínas, polisacáridos y una compleja mezcla microbiana simbiótica (Witthuhn et al., 2005; Jianzhong et al., 2009).

Los exopolisacáridos formados de los granos de kéfir son en realidad heteropolisacáridos, con unidades de glucosa y galactosa, y se observa un aumento de peso durante la fermentación debido a la formación de biopelículas, que se produce junto con el crecimiento de la biomasa microbiana (Petrova et al., 2021).

Esta matriz es producida por la microflora de ácido láctico, que coloniza principalmente en forma de granos, y su presencia en el medio de fermentación puede afectar posteriormente las características reológicas del producto final (Terpou y Mantzourani, 2019; Dertli y Con, 2017; Walsh et al., 2016).

Diversos informes han demostrado que la cantidad de los EPSs y sus propiedades dependen de los microorganismos que se utilizan para el proceso y las condiciones de fermentación, así como también para la composición de los medios de cultivo (Kim et al., 2008). Los EPSs se consideran adecuados para emplearse como aditivos ya que tienen propiedades fisicoquímicas y reológicas que pueden utilizarse como estabilizantes, emulsionantes, agentes gelificantes y mejoradores de la viscosidad. Las propiedades biológicas que poseen los EPSs sugieren su uso como antioxidantes, agentes antitumorales, agentes antimicrobianos e inmunomoduladores, etcétera (Suresh Kumar et al., 2008; Bensmira et al., 2010; Piermaria et al., 2010).

# **CAPÍTULO III**

## **DESARROLLO Y METODOLOGÍA**

### **3.1 Procedimiento y descripción de actividades realizadas**

El diseño metodológico para esta investigación permite generar información que aporte al estudio sobre los parámetros para la fermentación de los gránulos de kéfir a partir de diferentes sustratos variando el contenido de grasa en condiciones climáticas de Tlapacoyan, Veracruz.

### **3.2 Alcance y enfoque de la investigación**

Anteriormente con trabajos pasados se ha utilizado el kéfir como investigación, con finalidad biotecnológica, pero siempre se ha buscado una manera de conservarlos fuera de su medio lácteo convencional y utilizar diferentes sistemas de fermentación, ya sea reducidos en carbohidratos fermentativos, proteína o como en este caso, con cambios en el contenido de grasa, por lo que se pretende dar respuesta a este comportamiento mediante la pregunta de investigación propuesta.

### **3.3 Hipótesis**

La fermentación de los gránulos de kéfir y por ende el aumento de biomasa es estadísticamente diferente en un sistema fermentativo graso y bajo en grasa.

### **3.4 Diseño y metodología de la investigación**

El diseño utilizado para esta investigación constituye dar respuesta a la hipótesis planteada anteriormente, desglosando una metodología básica para generar los resultados esperados.

### **3.5 Metodología**

En el transcurso de esta investigación, las variables independientes fueron: temperaturas de fermentación y de almacenamiento y tiempos de fermentación y las variables dependientes fueron: porcentaje de incremento biomasa, pH y °Brix.

El estudio se realizó con equipo y materiales disponibles por el laboratorio de Química y de la Unidad de Tecnología de Alimentos y equipo proporcionado de igual manera por el Cuerpo Académico, en el periodo comprendido en los meses de agosto-diciembre de 2021.

### **3.5.1 Producción inicial de gránulos de kéfir**

Los gránulos de kéfir de leche fueron obtenidos del mercado local del municipio de Teziutlán, Puebla, los cuales eran conservados y mantenidos en crecimiento en leche pasteurizada entera, con cambios de medio de fermentación cada 24 h, esto de acuerdo a recomendaciones mencionadas por el proveedor de los gránulos de kéfir a una temperatura ambiente de aproximadamente 22 a 30°C.

### **3.5.2 Crecimiento de la biomasa del lote inicial de kéfir**

Para el crecimiento del lote de kéfir, este se siguió de acuerdo a las recomendaciones de cultivo en las que se encontraban, las cuales indicaban aproximadamente una cucharada para un litro de leche pasteurizada entera. Este debe mantenerse en un recipiente de cristal cubierto con una tela que permita llevar a cabo la fermentación, pero que sin embargo evite el acceso de contaminantes como insectos, entre otros; debe mantenerse en un ambiente fresco a una temperatura de aproximadamente de 22 a 30°C.

### **3.5.3 Cultivo de sustrato graso**

A partir de los gránulos de kéfir almacenados en el lote a temperatura ambiente de aproximadamente 22 a 30°C se realizó un experimento con 3 diferentes porcentajes de inóculo, se colocaron los gránulos de kéfir en un tamiz de plástico y se dejaron escurrir para eliminar la mayor cantidad de líquido, se utilizó una proporción de inóculo de 2, 5 y 10% de biomasa de kéfir y cada proporción fue colocada en su respectivo recipiente, el sustrato para esta proporción de gránulos de kéfir fue leche entera pasteurizada (marca comercial Lala) con un porcentaje de grasa de 3%, el volumen de leche se agregaba dependiendo al porcentaje

correspondiente de cada cinética. Una vez colocados los cultivos en sus respectivos recipientes, para las mediciones de pH y °Brix las cuales eran realizadas cada 12 h a excepción de 1 día cuyas mediciones se realizaban cada 4 h se utilizó un potenciómetro (marca OHAUS ST10) y un refractómetro (marca ATC-RHW), las mediciones del aumento de biomasa de granos de kéfir eran cada 24 h, haciendo cambio de su medio para su seguimiento y eliminando el sustrato y excedente de líquido (leche).

El experimento se llevó a cabo por un período de 10 días con la finalidad de observar cambios en el aumento de biomasa.

### **3.5.4 Cultivo de sustrato bajo en grasa**

A partir de los gránulos de kéfir almacenados en el lote a temperatura ambiente de aproximadamente 22 a 30°C se realizó un experimento con 3 diferentes porcentajes de inóculo, se colocaron los gránulos de kéfir en un tamiz de plástico y se dejaron escurrir para eliminar la mayor cantidad de líquido, se utilizó una proporción de inóculo de 2, 5 y 10% de biomasa de kéfir y cada proporción fue colocada en su respectivo recipiente, el sustrato para esta proporción de gránulos de kéfir fue leche descremada baja en grasa (marca comercial Svelty) con un porcentaje de grasa de 1%, el volumen de leche se agregaba dependiendo al porcentaje correspondiente de cada cinética. Una vez colocados los cultivos en sus respectivos recipientes, para las mediciones de pH y °Brix las cuales eran realizadas cada 12 h a excepción de 1 día cuyas mediciones se realizaban cada 4 h se utilizó un potenciómetro (marca OHAUS ST10) y un refractómetro (marca ATC-RHW), las mediciones del aumento de biomasa de granos de kéfir eran cada 24 h, haciendo cambio de su medio para su seguimiento y eliminando el sustrato y excedente de líquido (leche).

El experimento se llevó a cabo por un período de 10 días con la finalidad de observar cambios en el aumento de biomasa.

### **3.5.5 Medición de aumento de biomasa**

Posteriormente, se determinó el aumento de la biomasa expresado en porcentaje, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ incremento biomasa} = \frac{\text{Peso fresco final} - \text{Peso fresco inicial}}{\text{Peso fresco inicial}} \times 100$$



# **CAPÍTULO IV**

## **RESULTADOS**

## 4.1 Resultados

En la Figura 2 se observa los tratamientos utilizados para favorecer el crecimiento de biomasa en granos de kéfir tomando en cuenta el sustrato de alto y bajo contenido en grasa a diferentes concentraciones.

Para ambos sustratos la cinética del 2% presentó un efecto mayor de producción de biomasa, seguido de la concentración de 5% dejando al 10% con un menor incremento, durante los 10 días que duró el estudio.

Por otro lado, el sustrato graso obtuvo mayor incremento de biomasa al compararlo con el de sustrato bajo en grasa.

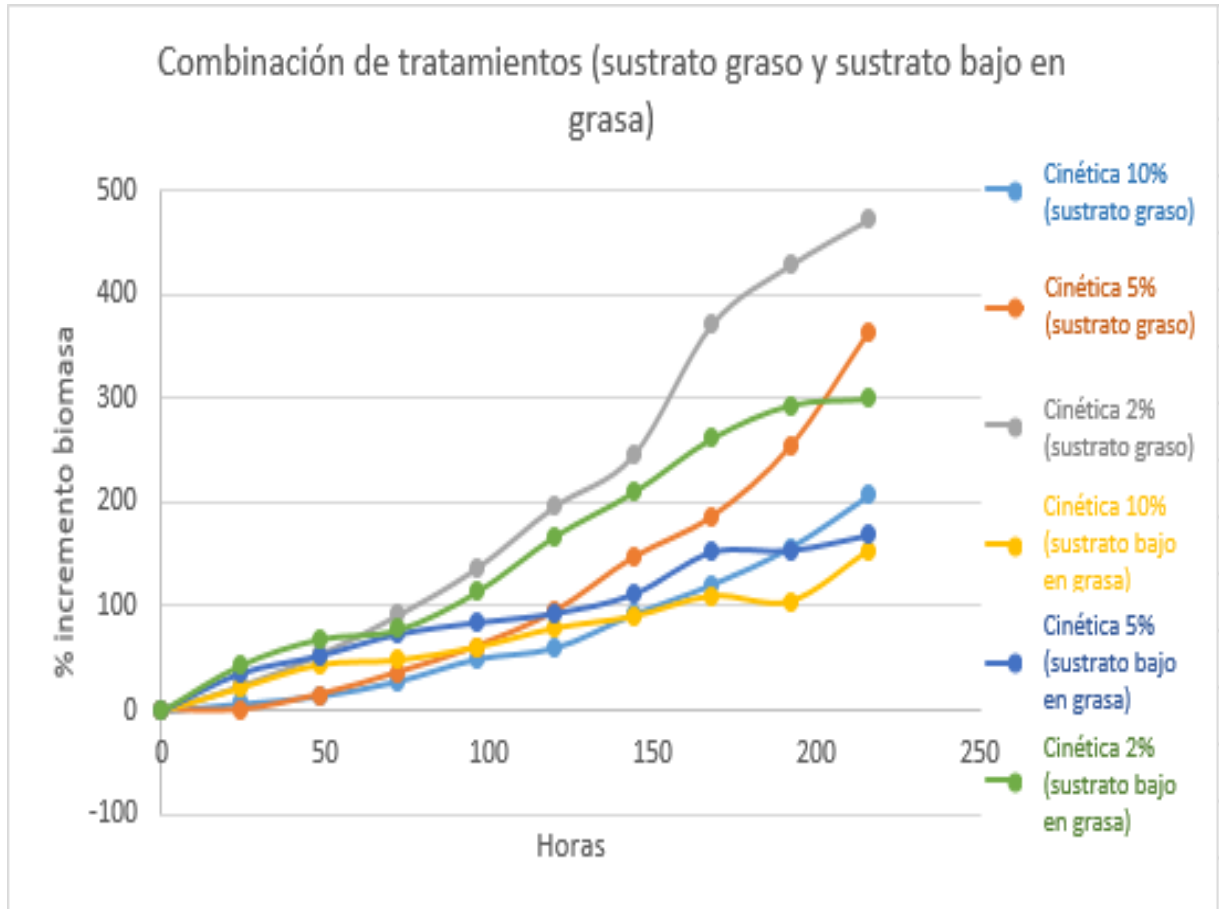
Para la cinética grasa el mayor porcentaje de incremento lo tuvo la cinética de 2% con un 473%, seguido de la cinética de 5% con 364%, mientras que la menor la obtuvo el tratamiento con 10% alcanzando valores de 207%.

De la misma manera para la cinética bajo en grasa el mayor porcentaje de incremento lo tuvo la cinética de 2% con un 300%, seguido de la cinética de 5% con 169%, mientras que la menor la obtuvo el tratamiento con 10% alcanzando valores de 154%.

En conclusión, se puede observar que, para las cinéticas, el mayor porcentaje de incremento biomasa fue en el sustrato graso específicamente en la cinética del 2%.

Figura 2

*Combinación de sistemas de fermentación; sustrato con un contenido de grasa de 3% y 1%, esto de acuerdo a la naturaleza del sistema de fermentación.*



Fuente: Elaboración propia , 2021

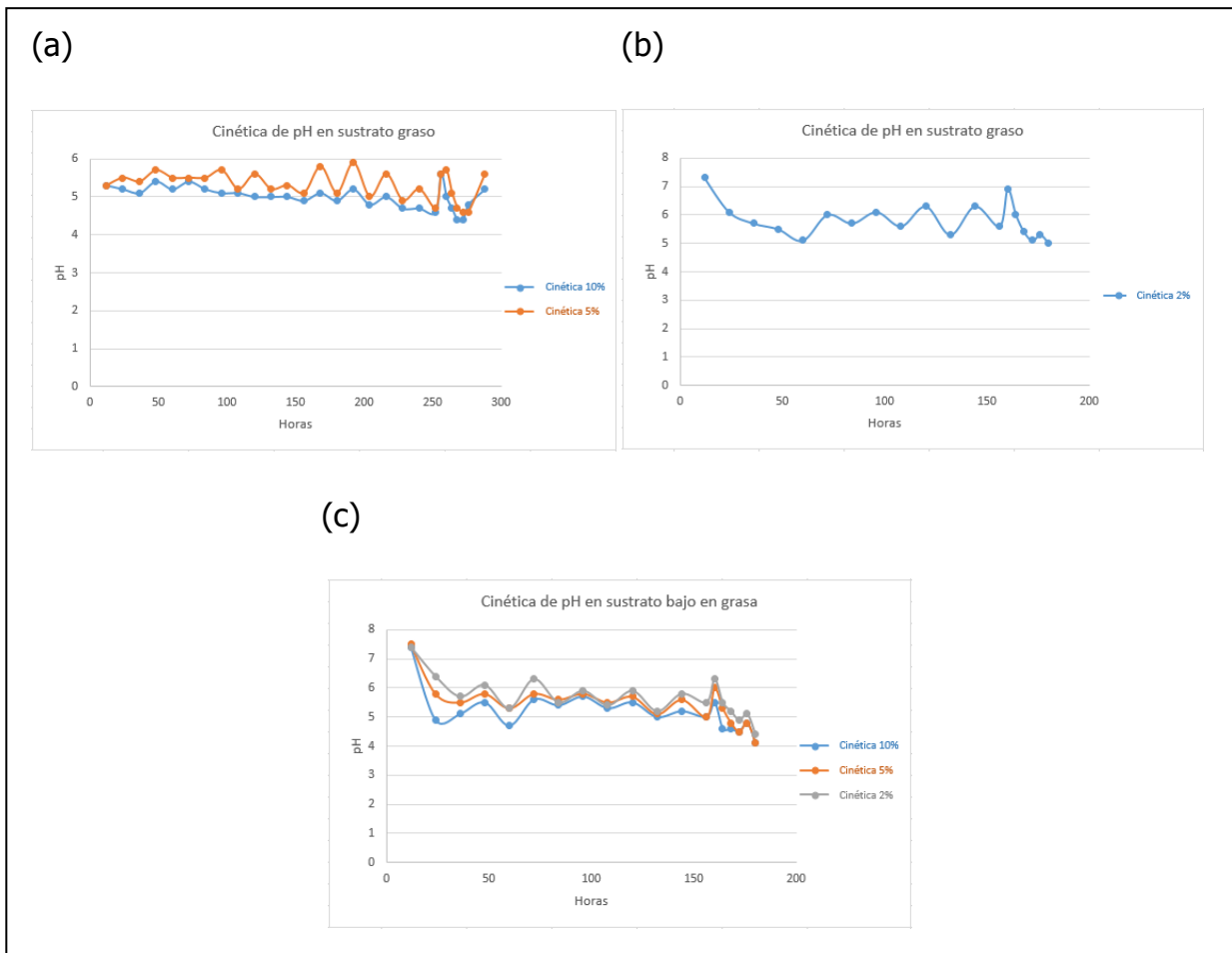
En trabajos previos se investigó el crecimiento de biomasa del grano de kéfir en suero enriquecido con algunos aditivos como yogur, leche, glucosa, sacarosa, extracto de levadura y extracto de algarroba durante un período de 10 días, en ese estudio el que mayor aumento de biomasa presento fue con la adición de extracto de levadura (1,657%) seguido de la adición de yogur (1,458%) y leche (1,294%) y en cuanto a la adición de glucosa, sacarosa y extracto de algarroba se obtuvo un aumento de biomasa del 1,225, 1,173 y 836% respectivamente, mientras que en este estudio el que tuvo mayor aumento de biomasa fue el sustrato graso en la cinética de 2% (473%) seguido de la cinética de 5% (364%) y sustrato bajo en

grasa en la cinética de 2% (300%) y en cuanto al sustrato graso con respecto a la cinética del 10% se obtuvo (207%) seguido del sustrato bajo en grasa en la cinética de 5 y 10% obteniendo (169%) y (154%) respectivamente. El porcentaje de crecimiento de biomasa que tuvo el extracto de levadura en comparación a la cinética del 2% del sustrato graso de este estudio, probablemente se deba a las propiedades y componentes del medio empleado, las cuales favorecen las características del grano y los porcentajes de incremento en biomasa durante la fermentación.

En cuanto a las cinéticas de pH, en la figura 3a se puede observar que en el análisis del sustrato graso no arrojó una diferencia significativa por el efecto del contenido de grasa, los valores para la cinética de 10% oscilaban alrededor de 4.4 a 5.6 y para la cinética del 5% alrededor de 4.6 a 5.9. En la figura 3b se puede observar que en la cinética del 2% del sustrato graso hubo una diferencia en comparación al sustrato al 10% ya que a partir de las 60 horas de fermentación el pH desciende a 5.1 y posteriormente durante los siguientes días el pH empieza a variar. En la cinética del 10, 5 y 2% del sustrato bajo en grasa, en la figura 3c se puede observar una disminución en el pH, ya que las mediciones iniciales fueron de 7.4, 7.5 y 7.4 y a partir de las 180 horas de fermentación el pH desciende a 4.1, 4.1 y 4.4 respectivamente.

Figura 3

*Comportamiento de pH en sustrato graso y bajo en grasa.*



Fuente: Elaboración propia , 2021

En trabajos previos se encontró que, para todos los medios a todas las temperaturas de incubación, el pH descendió bruscamente durante las primeras 6-7 h y al final del período de fermentación de 24 h, el valor de pH de la solución de fermentación alcanzó aproximadamente 4 por 17°C y alcanzó alrededor de 3.4 para 27 y 37°C.

Para todas las concentraciones iniciales de granos de kéfir utilizadas, se encontró que el pH descendió bruscamente durante las primeras 6-7 h en todos los medios y al final del período de fermentación de 24 h para una concentración inicial de

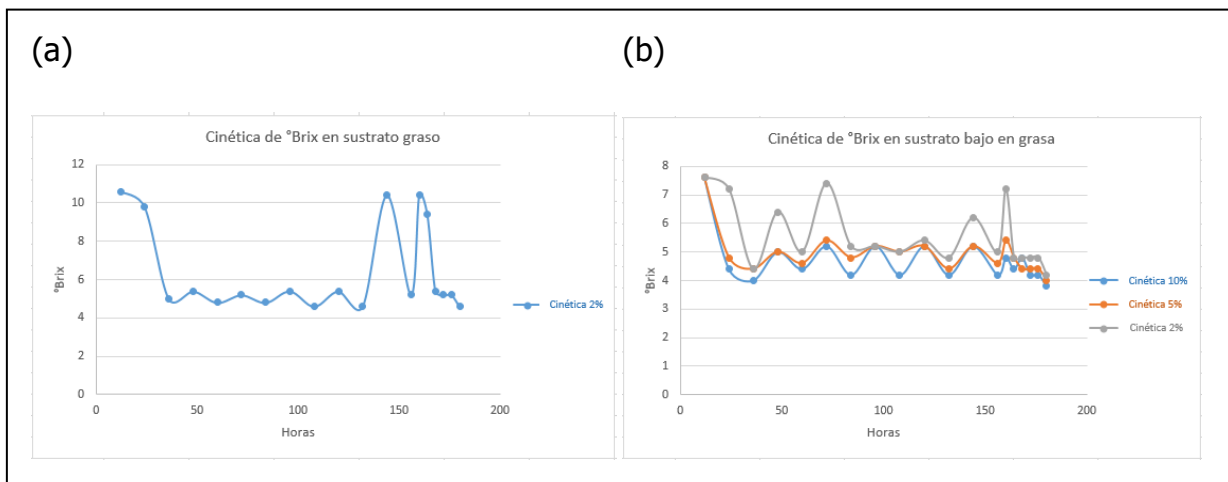
kéfir de 2.5% alcanzó aproximadamente 3.7, y para concentraciones iniciales de granos de kéfir de 5 y 7.5% alcanzó alrededor de 3.4.

En cuanto al pH de los dos estudios se puede decir que hubo una diferencia significativa en cuanto a los tiempos de descenso y los valores obtenidos.

En cuanto a las cinéticas de °Brix, en la figura 4a se puede observar que en el sustrato graso los °Brix de la cinética de 2% descendieron a partir de las 36 horas teniendo un valor de 5 °Brix; posteriormente, el comportamiento empezó a oscilar hasta llegar a un valor final de 4.6. En la figura 4b se puede observar el comportamiento de las 3 cinéticas del sustrato bajo en grasa, la cinética del 10% y 5% presentaron un comportamiento en similar, iniciando con un valor de 7.6 °Brix para ambas cinéticas y finalizando con valores de 3.8 y 4 respectivamente. Para la cinética del 2% se observa un comportamiento diferente en comparación a las otras dos cinéticas, ya que con el paso del tiempo hubo un aumento y descenso en los valores de °Brix, sin embargo, fue hasta el último día que se obtuvo un valor de 4.2 °Brix el cual se asemeja a los valores finales de las otras dos cinéticas.

Figura 4

*Comportamiento de °Brix en sustrato graso y bajo en grasa.*



Fuente: Elaboración propia , 2021

# **CAPÍTULO V**

## **CONCLUSIONES**

## 5.1 Conclusiones del proyecto

- Se realizó un estudio para optimizar el crecimiento de biomasa de kéfir utilizando dos sustratos con tres concentraciones por cada uno de ellos.
- Se establecieron como condiciones iniciales, 2 sustratos lácteos (graso y bajo en grasa), temperaturas de fermentación y de almacenamiento obteniendo un crecimiento de biomasa de kéfir deseable.
- Se probaron diferentes proporciones de inóculo al 2, 5 y 10% para cada medio de fermentación y se seleccionó la que resultara tener mayor crecimiento de biomasa durante un período de 10 días para cada tipo de grasa.
- Se analizaron dos diferentes sustratos (graso y bajo en grasa) en tres diferentes concentraciones alcanzando un mayor incremento de biomasa en las cinéticas del 2%, específicamente en el sustrato graso que presentó (473%) seguido del sustrato bajo en grasa (300%) durante el período de 10 días.
- Se acepta la hipótesis al encontrar diferencias significativas en los resultados de los sistemas fermentativos graso y bajo en grasa.



**CAPÍTULO VI**  
**COMPETENCIAS**  
**DESARROLLADAS**

## **6.1 Competencias desarrolladas y/o aplicadas**

Durante este transcurso de tiempo en el cual llevé a cabo mi proyecto de residencia profesional pude utilizar y desarrollar las siguientes competencias:

### **Desarrolladas:**

- Desarrollo de la capacidad de aprendizaje que permite ampliar e incorporar nuevos conocimientos a la investigación.
- Responsabilidad y cumplimiento en tiempo y forma con las obligaciones y deberes.
- Transmitir e intercambiar ideas de manera respetuosa y disciplinada con el asesor.
- Liderar el trabajo permite influir, gestionar, motivar, organizar y lograr de manera eficiente con los objetivos.
- Adaptar el trabajo a los nuevos cambios y la nueva modalidad que se vive en la actualidad.
- Mostrar flexibilidad cognitiva ante situaciones novedosas e inesperadas que surgen durante el desarrollo de la investigación.
- Coordinar de manera eficiente permite mantener una orientación y dirección correcta con el asesor.
- Tomar decisiones que permitan identificar y solucionar problemas en determinadas ocasiones.

### **Aplicadas:**

De las principales competencias desarrolladas durante la práctica profesional fueron todos los conocimientos adquiridos que me permitieron analizar, diseñar e implementar nuevas estrategias para poder alcanzar mis objetivos.

Con la información recabada logré realizar un correcto análisis y una buena interpretación que me permitió detectar nuevas oportunidades en los resultados obtenidos.

A lo largo de mi carrera profesional, fui desarrollando y fortaleciendo habilidades como la creación, el diseño, la innovación y la gestión que me permitieran desenvolverse de manera eficiente como futura ingeniera en nuevas oportunidades de trabajo.

# **CAPÍTULO VII**

## **FUENTES DE INFORMACIÓN**

## 7.1 Fuentes de Información

Abd El-Salam, M.H. Fermented Milks—Middle Eastern Fermented Milks. In *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 2nd ed.; Fuquay, J.W., Ed.; Academic Press: San Diego, CA, USA, 2011; pp. 503–506.

Application of solid-state fermentation to food industry — A review. Susana Rodriguez-Couto, Maria Angeles Sanromán. *Journal of Food Engineering*, octubre 2006.

Aydar, E.F.; Tutuncu, S.; Ozcelik, B. Plant-based milk substitutes: Bioactive compounds, conventional and novel processes, bioavailability studies, and health effects. *J. Funct. Foods* 2020, 70, 103975.

Bats, A. The production of bread in conical moulds at the beginning of the Egyptian Middle Kingdom: The contribution of experimental archaeology. *J. Archaeol. Sci. Rep.* 2020, 34, 102631.

Bekatorou, A., Psarianos, C. and Koutinas, A.A. 2006. Production of food grade yeasts. *Food Technol. Biotechnol.* 44, 407–415.

Bensmira, M., Nsabimana, C., and Jiang, B. (2010). Effects of fermentation conditions and homogenization pressure on the rheological properties of Kefir. *Food Sci. Technol.* 43, 1180–1184.

Bourrie, B.C.T.; Willing, B.P.; Cotter, P.D. The Microbiota and Health Promoting Characteristics of the Fermented Beverage Kefir. *Front. Microbiol.* 2016, 7, 647.

Brown, L.; Caligiuri, S.P.B.; Brown, D.; Pierce, G.N. Clinical trials using functional foods provide unique challenges. *J. Funct. Foods* 2018, 45, 233–238.

Can G, Topuz E, Derin D, Durna Z, Aydiner A (2009) Effect of kefir on the quality of life of patients being treated for colorectal cancer. *Oncol. Nurs. Forum* 36: E335-E342.

Champagne, C.P.; Gomes da Cruz, A.; Daga, M. Strategies to improve the functionality of probiotics in supplements and foods. *Curr. Opin. Food Sci.* 2018, 22, 160–166.

Codex Alimentarius (2001). *Revised Codex Standard for Honey. United Nations. Codex Stan 12.* Rome, 1981.

Corona, O.; Randazzo, W.; Miceli, A.; Guarcello, R.; Francesca, N.; Erten, H.; Moschetti, G.; Settanni, L. Characterization of kefir-like beverages produced from vegetable juices. *LWT Food Sci. Technol.* 2016, 66, 572–581.

De la Fuente-Salcido, N.M.; Castañeda-Ramírez, J.C.; García-Almendárez, B.E.; Bideshi, D.K.; Salcedo-Hernández, R.; Barboza Corona, J.E. Isolation and characterization of bacteriocinogenic lactic bacteria from M-Tuba and Tepache, two traditional fermented beverages in México. *Food Sci. Nutr.* 2015, 3, 434–442.

Dertli, E.; Con, A.H. Microbial diversity of traditional kefir grains and their role on kefir aroma. *LWT Food Sci. Technol.* 2017, 85, 151–157.

De Simone, C. The Unregulated Probiotic Market. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2019, 17, 809–817.

Dimitrellou, D., Kourkoutas, Y., Banat, I.M., Marchant, R. and Koutinas, A.A. 2007. Whey-cheese production using freeze-dried kefir culture as a starter. *J. Appl. Microbiol.* 103, 1170–1183.

Dimitrellou, D., Tsaousi, K., Kourkoutas, Y., Panas, P., Kanellaki, M. and Koutinas, A.A. 2008. Fermentation efficiency of thermally dried immobilized kefir on casein as starter culture. *Process Biochem.* 43, 1323–1329.

Duarte, W.F.; Dias, D.R.; Oliveira, J.M.; Teixeira, J.A.; de Almeida e Silva, J.B.; Schwan, R.F. Characterization of different fruit wines made from cacao, cupuassu, gabirola, jaboticaba and umbu. *LWT Food Sci. Technol.* 2010, 43, 1564–1572.

Farag, M.A.; Jomaa, S.A.; Abd El-Wahed, A.; El-Seedi, H.R. The Many Faces of Kefir Fermented Dairy Products: Quality Characteristics, Flavour Chemistry, Nutritional Value, Health Benefits, and Safety. *Nutrients* 2020, 12, 346.

Fermentación en estado sólido: una alternativa biotecnológica para el aprovechamiento de desechos agroindustriales. Revista tecno científica URU – Universidad Rafael Urdaneta, Facultad de Ingeniería. José R. Ferrer, José L. Machado y Jana Brieva. Mayo 2014.

Ferreira, I.M.P.L.V.O., Pinho, O., Monteiro, D., Faria, S., Cruz, S. and Perreira, A. 2010. Effect of kefir grains on proteolysis of major milk protein. *J. Dairy Sci.* 93, 27–31.

Fiorda FA, Pereira GVM, Thomaz-Soccol V, Medeiros AP, Rakshit SK and Soccol CR. (2016). Development of kefir based probiotic beverages with DNA protection and antioxidant activities using soybean hydrolyzed extract, colostrum and honey. *LWT – Food Science and Technology* 68(1): 690–697.

Gao, J., Gu, F., Abdella, N. H., Ruan, H., and He, G. (2012). Investigation on culturable microflora in Tibetan kefir grains from different areas of China. *J. Food Sci.* 77, 425–433. doi: 10.1111/j.1750-3841.2012.02805.x

García-Fontán MC, Martínez S, Franco I and Carballo J. (2006). Microbiological and chemical changes during the manufacture of Kefir made from cows' milk, using a commercial starter culture. *International Dairy Journal* 16(1): 762–767.

Garrote, G.L., Abraham, A.G. and De Antoni, G.L. 1997. Preservation of kefir grains a comparative study. *Lebensm Wiss. U.-Technol.* 30, 77–84.

Gaware, V.; Kotade, K.; Dolas, R.; Dhamak, K. The magic of kefir: A review. *Pharmacology* 2011, 1, 376–386.

Gul, O.; Mortas, M.; Atalar, I.; Dervisoglu, M.; Kahyaoglu, T. Manufacture and characterization of kefir made from cow and buffalo milk, using kefir grain and starter culture. *J. Dairy Sci.* 2015, 98, 1517–1525.

Guzel-Seydim, Z.B.; Gokirmaklı, C.; Greene, A.K. A comparison of milk kefir and water kefir: Physical, chemical, microbiological and functional properties. *Trends Food Sci. Technol.* 2021, 113, 42–53.

Hikmetoglu, M.; Sogut, E.; Sogut, O.; Gokirmakli, C.; Guzel-Seydim, Z.B. Changes in carbohydrate profile in kefir fermentation. *Bioact. Carbohydr. Diet. Fibre* 2020, 23, 100220.

Jianzhong, Z., Xiaoli, L., Hanhu, J., and Mingsheng, D. (2009). Analysis of the microflora in Tibetan kefir grains using denaturing gradient gel electrophoresis. *Food Microbiol.* 26, 770–775. doi: 10.1016/j.fm.2009.04.009

Kim, Y., Kim, J. U., Oh, S., Kim, Y. J., Kim, M., and Kim, S. H. (2008). Technical optimization of culture conditions for the production of exopolysaccharide (EPS) by *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 9595. *Food Sci. Biotechnol.* 17, 587–593.

Kooiman, P. (1968). The chemical structure of kefirin, the water-soluble polysaccharide of the kefir grain. *Carbohydr. Res.* 7, 220–221. doi:10.1016/S0008-6215(00)81138-6

Koutinas, A.A., Athanasiadis, I., Bekatorou, A., Psarianos, C., Kanellaki, M., Agouridis, N. and Blekas, G. 2007. Kefir-yeast technology: Industrial scale-up of alcoholic fermentation of whey, promoted by raisin extracts, using kefir-yeast granular biomass. *Enzyme Microbial. Technol.* 41, 576–582.

Koutinas, A.A.; Papapostolou, H.; Dimitrellou, D.; Kopsahelis, N.; Katechaki, E.; Bekatorou, A.; Bosnea, L.A. Whey valorisation: A complete and novel technology development for dairy industry starter culture production. *Bioresour. Technol.* 2009, 100,3734–3739.



Laureys, D.; Aerts, M.; Vandamme, P.; De Vuyst, L. Oxygen and diverse nutrients influence the water kefir fermentation process. *Food Microbiol.* 2018, 73, 351–361.

Liu, L.; Wang, J.; Rosenberg, D.; Zhao, H.; Lengyel, G.; Nadel, D. Response to comments on archaeological reconstruction of 13,000-y old Natufian beer making at Raqefet Cave, Israel. *J. Archaeol. Sci. Rep.* 2019, 28, 101914.

Lourens-Hattingh A and Viljoen BC. (2001). Growth and survival of a probiotic yeast in dairy products. *Food Research International* 34(9): 791–796.

Marsh AJ, Hill C, Ross RP, Cotter PD (2014) Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives. *Trends Food Sci. Tech.* 38: 113–124.

Marsh AJ, O’Sullivan O Hill C, Ross RP, Cotter PD (2013) Sequencing-based analysis of the bacterial and fungal composition of kefir grains and milks from multiple sources. *PLoS ONE* 8(7), e69371.

Matos, R.S.; Lopes, G.A.C.; Ferreira, N.S.; Pinto, E.P.; Carvalho, J.C.T.; Figueiredo, S.S.; Oliveira, A.F.; Zamora, R.R.M. Superficial Characterization of Kefir Biofilms Associated with Açai and Cupuaçu Extracts. *Arab. J. Sci. Eng.* 2018, 43, 3371–3379.

Nogay, N.H. 8—Kefir Beverage and Its Effects on Health. In *Milk-Based Beverages*; Grumezescu, A.M., Holban, A.M., Eds.; Woodhead Publishing: Sawston, UK, 2019; pp. 273–296.

Oliveira, A.P.D.; Santos, G.A.D.; Nomura, C.S.; Naozuka, J. Elemental chemical composition of products derived from kefir fermented milk. *J. Food Compos. Anal.* 2019, 78, 86–90.

Papapostolou, H., Bosnea, L.A., Koutinas, A.A. and Kanellaki, M. 2008. Fermentation efficiency of thermally dried kefir. *Bioresour. Technol.* 99, 6949–6956.

Papavasiliou, G., Kourkoutas, Y., Rapti, A., Sipsas, V., Soupioni, M. and Koutinas, A.A. 2008. Production of freeze-dried kefir culture using whey. *Int. Dairy J.* 18, 247–254.

Penna ALB, Rao-Gurram S and Barbosa-Cánovas GV. (2007). Effect of milk treatment on acidification, physicochemical characteristics, and probiotic cell counts in low fat yogurt. *Milchwissenschaft* 62(1): 48–52.

Petrova, P.; Ivanov, I.; Tsigoriyna, L.; Valcheva, N.; Vasileva, E.; Parvanova-Mancheva, T.; Arsov, A.; Petrov, K. Traditional Bulgarian Dairy Products: Ethnic Foods with Health Benefits. *Microorganisms* 2021, 9, 480.

Piermaria, J., Bosch, A., Pinotti, A., Yantorno, O., Garcia, M. A., and Abraham, A. G. (2010). Kefiran films plasticized with sugars and polyols: water vapor barrier and mechanical properties in relation to their microstructure analyzed by ATR/ FT-IR spectroscopy. *Food Hydrocoll.* 25, 1261–1269. doi: 10.1016/j.foodhyd.2010.11.024

Plessas, S.; Nouska, C.; Mantzourani, I.; Kourkoutas, Y.; Alexopoulos, A.; Bezirtzoglou, E. Microbiological Exploration of Different Types of Kefir Grains. *Fermentation* 2017, 3, 1.

Prado, M.R.; Blandón, L.M.; Vandenberghe, L.P.S.; Rodrigues, C.; Castro, G.R.; Thomaz-Soccol, V.; Soccol, C.R. Milk kefir: Composition, microbial cultures, biological activities, and related products. *Front. Microbiol* 2015, 6, 1177.

Satir G, Guzel-Seydim ZB (2016) How kefir fermentation can affect product composition? *Small Rum. Res.* 134: 1-7.

Soccol CR, Fiorda FA, Prado MRM and Bellettini MB (2014) *Bioprocesso para a producao de uma bebida fermentada a base de mel com propriedades probióticas*. Instituto Nacional de Propriedade Industrial. Patente Brazilian Patent No. BR 102014021724 0.

Suresh Kumar, A., Mody, K., and Jha, B. (2008). Bacterial exopolysaccharides – a perception. *J. Basic Microbiol.* 47, 103–117. doi: 10.1002/jobm.200610203

Terpou, A. Ethnic Selected Fermented Foods of Greece. In *Fermented Food Products*, 1st ed.; Sankaranarayanan, N.A., Dhanasekaran, D., Eds.; CRC Press: London, UK; Taylor & Francis Group: New York, NY, USA, 2020; p. 10.

Terpou, A.; Gialleli, A.-I.; Bekatorou, A.; Dimitrellou, D.; Ganatsios, V.; Barouni, E.; Koutinas, A.A.; Kanellaki, M. Sour milk production by wheat bran supported probiotic biocatalyst as starter culture. *Food Bioprod. Process.* 2017, 101, 184–192.

Terpou, A.; Mantzourani, I. Vinegars Made with Kefir. In *Advances in Vinegar Production*, 1st ed.; Bekatorou, A., Ed.; CRC Press: London, UK; Taylor & Francis Group: New York, NY, USA, 2019; p. 16.

Terpou, A.; Papadaki, A.; Lappa, I.K.; Kachrimanidou, V.; Bosnea, L.A.; Kopsahelis, N. Probiotics in food systems: Significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. *Nutrients* 2019, 11, 1591.

Tramsek, M. and Gorsek, A. 2008. Analysis of growth models for batch kefir grain biomass production in RC1 reaction system. *J. Food Process. Eng.* 31, 754–767.

Tratnik, L., Bozanic, R., Hergec, Z., Drgalic, I. 2006. The quality of plain and supplemented kefir from goat's and cow's milk. *Int. J. Dairy Technol.* 59, 40–46.

Turkmen, N. Chapter 29—Kefir as a Functional Dairy Product. In *Dairy in Human Health and Disease Across the Lifespan*; Watson, R.R., Collier, R.J., Preedy, V.R., Eds.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2017; pp. 373–383.

Vinderola, C.G.; Duarte, J.; Thangavel, D.; Perdigon, G.; Farnworth, E.; Matar, C. Immunomodulating capacity of kefir. *J. Dairy Res.* 2005, 72, 195–202.

Walsh, A.M.; Crispie, F.; Kilcawley, K.; O'Sullivan, O.; O'Sullivan, M.G.; Claesson, M.J.; Cotter, P.D. Microbial Succession and Flavor Production in the Fermented Dairy Beverage Kefir. *mSystems* 2016, 1.

Wang, Y. P., Li, C., Liu, P., Zaheer, A., Xiao, P., and Bai, X. (2010). Physical characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* KF5 isolated from Tibet Kefir. *Carbohydr. Polym.* 82, 895–903. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.06.013

Witthuhn, R. C., Schoeman, T., and Britz, T. J. (2005). Characterisation of the microbial population at different stages of kefir production and kefir grain mass cultivation. *Int. Dairy J.* 15, 383–389. doi: 10.1016/j.idairyj.2004.07.016

Wouters, J.T.M.; Ayad, E.H.E.; Hugenholtz, J.; Smit, G. Microbes from raw milk for fermented dairy products. *Int. Dairy J.* 2002, 12, 91–109.

Wróblewska, B., Kolakowski, P., Pawlikowska, K., Troszynska, A., Kaliszewska, A. 2009. Influence of the addition of transglutaminase on the immunoreactivity of milk proteins and sensory quality of kefir. *Food Hydrocoll.* 23, 2434–2445.

# **CAPÍTULO VIII**

## **ANEXOS**

## 8.1 Anexos

### Anexo 1. Acondicionamiento de las diferentes cinéticas (sustrato graso)









## Anexo 2. Acondicionamiento de las diferentes cinéticas (sustrato bajo en grasa)





### Anexo 3. Medición de pH (sustrato graso)





**Anexo 4. Medición de pH (sustrato bajo en grasa)**

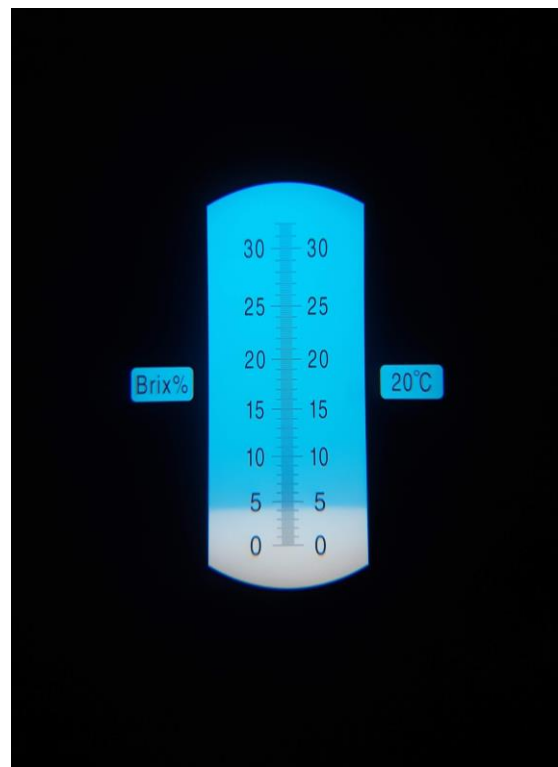
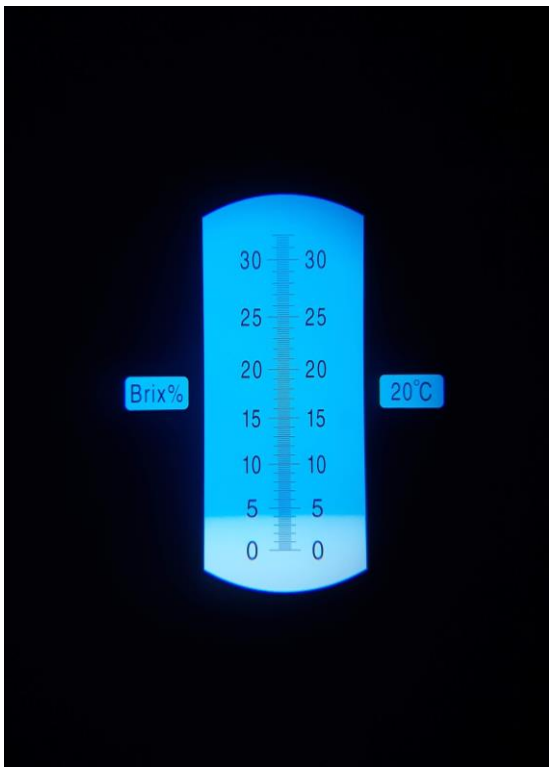
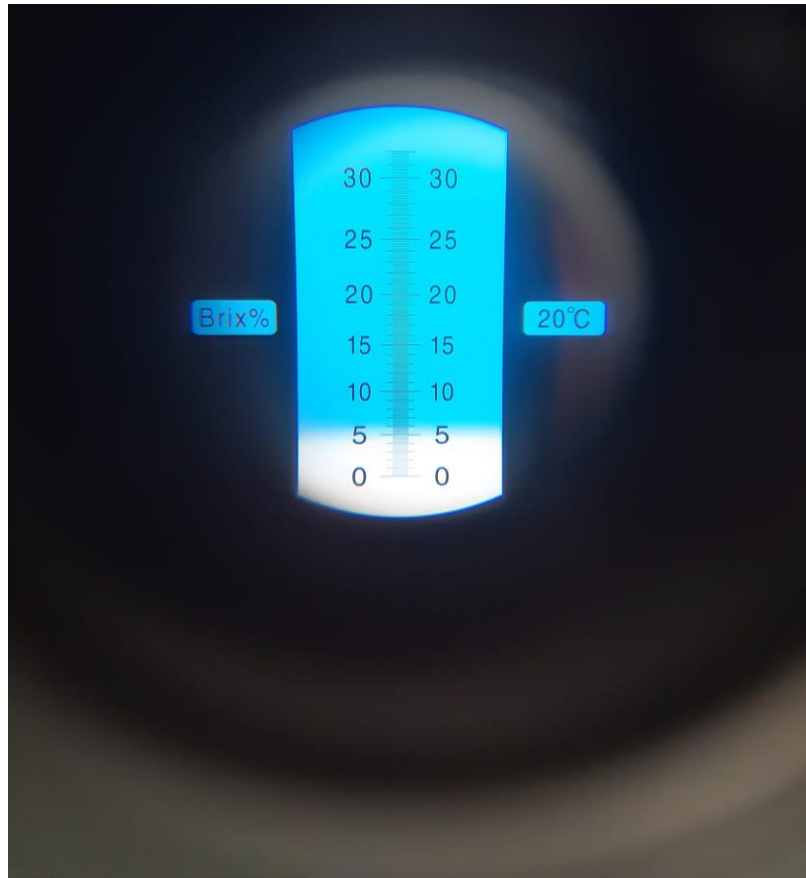




**Anexo 5. Medición de °Brix**







## Anexo 6. Gránulos de kéfir (sustrato graso)



## Anexo 7. Gránulos de kéfir (sustrato bajo en grasa)



## 8.1.1 Carta de Autorización de Publicación

Tecnológico Nacional de México  
Instituto Tecnológico Superior de Teziutlán

### CARTA DE AUTORIZACIÓN DEL(LA) AUTOR(A) PARA LA CONSULTA Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

El que suscribe:

**DARIANNA**

**HERNANDEZ**

**MOTA**

Con Número de Control **17TE0396**

Perteneciente al Programa Educativo **INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Por este conducto me permito informar que he dado mi autorización para la consulta y publicación electrónica del trabajo de investigación en los repositorios académicos.

Registrado con el producto: **TESIS**

Cuyo Tema es:

**DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA OPTIMIZACIÓN DEL CRECIMIENTO DE BIOMASA DE KÉFIR PARA LA MEJORA EL USO DE SUSTRATOS**

Correspondiente al periodo:

**AGOSTO 2021-MAYO 2022**

Y cuyo(a) director(a) de tesis es:

**DR. HIRAM ALEJANDRO WALL MARTINEZ**

ATENTAMENTE



DARIANNA HERNANDEZ MOTA

Nombre y firma

Fecha de emisión: **08/05/2022**  
c.c.p. Subdirección Académica



## **Índice de figuras**

Figura 1.....	20
Figura 2.....	35
Figura 3.....	37
Figura 4.....	38